

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**MEMENİN İNVAZİV DUKTAL KARSİNOMLARINDA HIF
ve STAT'LARIN, TÜMÖR GELİŞİMİ - PROGNOZU -
HORMON RESEPTÖRLERİ – cERB-B2 ile İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr.Mehtap EROĞLU
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç.Dr. Saime Hale KIRIMLIOĞLU**

MALATYA 2010

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**MEMENİN İNVAZİV DUKTAL KARSİNOMLARINDA HIF
ve STAT'LARIN, TÜMÖR GELİŞİMİ - PROGNOZU -
HORMON RESEPTÖRLERİ – cERB-B2 ile İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr.Mehtap EROĞLU
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç.Dr. Saime Hale KIRIMLIOĞLU**

MALATYA 2010

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**MEMENİN İNVAZİV DUKTAL KARSİNOMLARINDA HIF ve STAT'LARIN,
TÜMÖR GELİŞİMİ - PROGNOZU -HORMON RESEPTÖRLERİ – cERB-B2 ile
İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr.Mehtap EROĞLU
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç.Dr. Saime Hale KIRIMLIOĞLU**

**Bu tez , İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2008/30
proje numarası ile desteklenmiştir.**

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İçindekiler.....	i
Tablolar Dizini.....	ii
Resimler Dizini.....	iii
Kısaltmalar.....	iv
1.Giriş ve Amaç.....	1
2.Genel Bilgiler.....	3
2.1. Meme Anatomisi.....	3
2.2. Meme Histolojisi.....	4
2.3. Meme Kanseri.....	6
2.3.1. İnsidans.....	6
2.3.2. Epidemiyoloji:.....	6
2.3.3. Etiyoloji ve Patogenez.....	9
2.3. 4. Meme Kanser Progresyonunda Hücresel Değişiklikler	10
2.3.5. Meme Tümörlerinin DSÖ Klasifikasyonu:	11
2.4. İnvaziv Duktal Karsinom, NOS (Spesifiye Edilmemis).....	14
2.4.1.İnvaziv Duktal Karsinoma Evrelemesi.....	15
2.4.2.İnvaziv Karsinom Grade'lemesi (Derecelendirmesi).....	22
2.5 STATLAR.....	24
2.6 HIFLER.....	28
3. Materyal ve Metod.....	30
4. Bulgular.....	32
5.Tartışma.....	62
6. Sonuçlar.....	71
7. Özet.....	72
8. Summary.....	73
9. Kaynaklar	75

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. HIF1 α 'nın boyanma şiddetinin lenf nodu metastaz varlığı, Bloom Richardson gradelemesi, lenfosit infiltrasyonu, nekroz, tümör çapı, tümör sınırları, östrojen, progesteron, CerbB2 ile ilişkisi.....	50
Tablo 2. HIF2 α 'nın boyanma şiddetinin lenf nodu metastaz varlığı, Bloom Richardson gradelemesi, lenfosit infiltrasyonu, nekroz, tümör çapı, tümör sınırları, östrojen, progesteron, CerbB2 ile ilişkisi.....	51
Tablo 3. STAT1'in boyanma şiddetinin lenf nodu metastaz varlığı, Bloom Richardson gradelemesi, lenfosit infiltrasyonu, nekroz, tümör çapı, tümör sınırları, östrojen, progesteron, CerbB2 ile ilişkisi.....	52
Tablo 4. STAT2'nin boyanma şiddetinin lenf nodu metastaz varlığı, Bloom Richardson gradelemesi, lenfosit infiltrasyonu, nekroz, tümör çapı, tümör sınırları, östrojen, progesteron, CerbB2 ile ilişkisi.....	53
Tablo 5. STAT 3'ün boyanma şiddetinin lenf nodu metastaz varlığı, Bloom Richardson gradelemesi, lenfosit infiltrasyonu, nekroz, tümör çapı, tümör sınırları, östrojen, progesteron, CerbB2 ile ilişkisi.....	54
Tablo 6. STAT 5a'nın boyanma şiddetinin lenf nodu metastaz varlığı, Bloom Richardson gradelemesi, lenfosit infiltrasyonu, nekroz, tümör çapı, tümör sınırları, östrojen, progesteron, CerbB2 ile ilişkisi.....	55
Tablo 7. STAT 5b'nin boyanma şiddetinin lenf nodu metastaz varlığı, Bloom Richardson gradelemesi, lenfosit infiltrasyonu, nekroz, tümör çapı, tümör sınırları, östrojen, progesteron, CerbB2 ile ilişkisi.....	56

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: HIF1 alfa ile tümör dışı meme dokusunda epitelde, intraduktal ve infiltratif atipik epitelde boyanma ve myoepitel hücrelerinde HIF1 alfa pozitifliği.....	57
Resim 2: HIF1 alfa ile tümör epitelinde boyanma saptanmayan (grade 0) olgu.....	57
Resim 3: HIF1 alfa ile pozitif boyanan tümörlerin çoğunda (a, b) hem nükleer hem de sitoplazmik boyanma ve bazı tümörlerde sadece sitoplazmik boyanma (c). Tümöre karşı gelişen lenfoid yanıtta lenfositlerde nükleer boyanma.....	58
Resim 4: HIF2 alfa ile epitel hücrelerinde nükleer ve sitoplazmik boyanma (a). Tümör içindeki lenfositlerde HIF2 alfa ekspresyonu (b,c,d).....	58
Resim 5: Olgularda STAT1 ile G0 (a), G1 (b), G2 (c), G3 (d) ekspresyonu	59
Resim 6: STAT2 ile tümör dışı dokuda glandüler epitelde boyanma mevcut, myoepitelde boyanma görülmedi (a). G1 (b), G2 (c), G3 (d) STAT2 ekspresyonu	59
Resim 7: Olgularda STAT3 ile G0 (a), G1(b), G2(c), G3(d) ekspresyonu. Stromada damar endoteli ve fibroblastlarda STAT3 pozitifliği.....	60
Resim 8: STAT 5a ile nontümöral meme duktus epitelinde kuvvetli boyanma, Myoepitel hücrelerinde boyanma görülmedi (a). G1 boyanma gösteren tümör alanına komşu damar endotelinde STAT5a ekspresyonu (b). G2 değerlendirilen olgu, tümör içinde lenfositlerde yaygın STAT5a ekspresyonu (c). G3, STAT5a ekspresyonu.....	60
Resim 9: Olgularda STAT5b ile G3, G2 ekspresyonu	61

KISALTMALAR

HIF: Hipoksi Inducible Factor

STAT: Signal Transducers and Activators of Transcription

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

JAK: Jasus Kinase

TDLU: Terminal Duktuler Lobüler Unite

PTEN: Phosphatase and Tensin Homolog Deleted on Chromozome Ten

AT: Ataksi Telenjektazi

RB: Retinoblastom

MALT: Mucosa Assosiated Lymphoid Tissue

DCIS: Duktal Karsinoma İn Situ

CK: Sitokeratin

CEA: Karsino Embriyojenik Antijen

FISH: Floresans İn Situ Hibridizasyon

IFN: İnterferon

HTLV-1: Human T Lymphotropic Viruses-1

GM-CSF: Granülosit Makrofaj Koloni Stimülatör Faktör

SOCS: Supressors of Cytokyne Signaling

PLAS: Protein Inhibitor of Activated STATs

VEGF: Vascular Endhotelial Growth Factor

KOAH: Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı

PBS: Fosfat Tamponlanmış Salin Solüsyonu

ER: Östrojen reseptörü

PR: Progesteron reseptörü

I. GİRİŞ VE AMAÇ

Kadınlarda meme kansinimleri en sık görülen malign tümördür, yıllık dünya çapında 1.000.000'dan fazla kadına meme kansinomu tanısı konmaktadır. Kadınlarda kansinimlerden ölümlerde en sık nedendir.(1) Meme kansinomu tanısında keskin bir artış gözlenmektedir. Bunun da mamografinin geniş kullanım alanı bulunmasına bağılı olduğı düşünölmektedir. (2) Böylece vakaların çoğı daha 2 cm'den küçük ve/veya in situ formda iken yakalanmaktadır.(3) Tanı ve tedavideki ilerleme ile beraber meme kanserinden korunma stratejileri ve kanser gelişiminde artmış riskin belirleyicilerine ilgi artmıştır.

İnsan vücudunda JAK-STAT (Janus kinase-signal transducers and activators of transcription) 50'den fazla sitokin ya da büyüme faktörü ile aktive olan çeşitli hücrese fonksiyonlarda önemli rol oynayan sinyal yoludur. JAK'lar reseptör ilişkili tirozinaz kinaz olup bunlar STAT'ları aktive eder.

İnsanlardaki tümörlerde yüksek düzeyde bulunan hipoksiyle indüklenen faktör-1 α 'nın anaerobik enerji metabolizmasını, anjiogenezisi, hücrelerin devamlılığını ve ilaca karşı dirençte rol oynayan hedef genleri düzenleyerek tümör gelişiminde önemli rol oynadığı belirtilmektedir(4,5). Yine hipoksi indükleyen faktörler tümör büyümesi için gerekli anjiogenez için gereklidir(6)

Çalışmamız retrospektif bir çalışma olup arşiv taraması ile 2002 ve 2008 yılları arasındaki, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalında mastektomi ve aksiller disseksiyonu yapılan ve Tıbbi Patoloji Anabilim Dalında tanı almış 150 meme kansinomu olgusunu kapsamaktadır. Tekrar değerlendirilen olgulardan 24'ü lenf nodu metastazlarının varlığı ve yokluğu dikkate alınarak incelemeye alındı.

Meme kansinimlerinde bilinen en önemli prognostik faktörler tümör grade'i, evresi olup düşük gradeli kansinimlerde tipik olarak östrojen ve progesteron reseptörleri pozitif,

Her2-neu negatif olup, yüksek dereceli karsinomlar Her2-neu pozitif, östrojen ve progesteron negatif olmakla karakterizedir.

Biz çalışmamızda STAT1, STAT2, STAT3, STAT5a, STAT5b, HIF1 α ve HIF2 α 'nın invaziv duktal karsinomlarda immunohistokimyasal ekspresyonu ile tümör prognozunda rol oynayan lenf nodu metastazı varlığı/yokluğu, iltihabi hücre infiltrasyonu derecesi, stromal reaksiyon, nekroz varlığı, östrojen, progesteron, Her2-neu ekspresyonu arasındaki ilişkiyi irdeleyerek, tümör prognozu üzerinde STAT ve HIF'lerin olası etkisini değerlendirmeyi amaçladık.

II. GENEL BİLGİLER

2.1.Meme Anatomisi

Meme göğüs ön duvarında, 2.-3 kosta ile 6.-7.kosta arasında, sternumun yan kenarı ile ön ya da aksiller çizgi arasında bulur. Meme dokusunu pektoral kasın fasiası çevreler ve bunun uzantısı olan fibröz bağlar “Cooper ligamentleri” meme dokusu lobları arasından dermaya doğru ilerler ve memeyi destekler. Boyutları ve ağırlığı oldukça değişkendir. 150-1500 gram ağırlıklarda (ortalama 200-300 gram), ortalama 10-12 cm genişlikte, 5-7 cm kalınlıktadır. Her bir meme; üst dış kadran, alt dış kadran, üst iç kadran, alt iç kadran ve areola olmak üzere bölümlere ayrılarak değerlendirilir. Üst dış kadran daha geniştir ve aksillaya doğru kuyruk biçiminde uzanır.

Arterleri

Meme; internal mammarian (torasik); interkostal, aksiller ve torakoakromial arterin pektoral dallarından beslenir. Bu damarlanmalar değişik varyasyonlar gösterir ve her iki memede simetrik değildir.

Venleri

İnterkostal, aksiller, internal mammarian (torasik) venlerdir. Belirgin anatomik varyasyonlar gösterebilir.

Sinirleri

2.-6. interkostal sinirlerin dallarıdır, üst bölümünün az bir alanındaki deri ise supraklaviküler sinir dallarından innerve olur.

Lenfatikleri

Meme lenfatiklerinin %75-97'si aksiller lenf düğümlerine, %3-25'i internal mammarian lenf düğümlerine, çok az bir kısmı ise kostavertebral ekleme yakın alandaki posterior interkostal lenf düğümlerine akar. Üç anatomik bölgede incelenir.

Level 1: Pektoralis minörün lateral kenarının yanında, alt kenarının altında, aksiller ven boyunca uzanan lenf düğümleridir. Eksternal mammar, aksiller ven ve skapuler lenf düğümü gruplarını içerir.

Level 2: Pektoralis minör kasının arkasında, medial ve lateral sınırları arasında uzanır. Sentral bölge lenf düğümlerini içerir.

Level 3: Pektoralis minör kasının medial sınırının medialinde ve superiorunda sıralanır. Subklaviküler, intraklaviküler, apikal lenf düğümlerini içerir.

Rotter lenf düğümleri: Pektoralis major ve minör arasında bulunur.

İnternal mammar lenf düğümleri: Parasternal bölgede, interkostal aralıkta, internal mammar damarların medialinde uzanır. Lenfatik akımın %25 'ini sağlar.(7)

2.2.Meme Histolojisi

Meme dokusu, 6-10 ana duktus sisteminin dallanması ve bunların herbirinin lobüllere ayrılmasından oluşan tübüloalveoler bez yapısındadır. Arada fibröz bağ dokusu, yağ dokusu, kan ve lenf damarları, periferik sinirler ve üzerinde deri, meme başı bulunur. Meme 10-20 lob içerir. Her bir lob, ana duktus ile meme ucuna açılır.

Duktal sistem:

Meme ucundan sırası ile ana laktiferöz duktus, laktiferöz sinus, laktiferöz segmental duktus, subsegmental duktus, terminal duktus ve onun lobül içi dallarından oluşur. Ana laktiferöz duktuslar, meme başının deri yüzeyine açılır, duktus orifisi ve duktusun küçük bir bölümü çok katlı yassı epitel ile döşelidir, daha sonraki bölümü, laktiferöz sinus iki tabakalı küboidal epitel ile devam eder. Laktiferöz sinusdan sonraki duktusları içte tek sıralı epitel döşer, bu epitel silindirik ya da küboidaldir. Tüm duktal sistemde, döşeyici epitelin bitişiğinde, miyoflament içeren kontraktıl, yassılaştırmış miyoepiteliyal hücreler bulunur, bunlar her zaman belirgin olmayabilir, bu durumlarda immun belirleyiciler ile (vimentin, S-100, aktin) gösterilir, en dışta bazal membran vardır. Ekstralobüler duktusların çevresinde elastik lifler bulunur, buna karşın intralobüler terminal duktus ve asinusların çevresinde bulunmaz. Yaş arttıkça, büyük duktusların çevresindeki elastik lifler de artar.

Meme lobülleri:

Meme lobülü, her bir terminal duktusun küçük bir bölümü ve onun tomurcuklanması ile oluşan asinuslardan (duktüller) oluşur ve bu bölüm terminal duktüler

lobüler ünit (TDLU) adını alır ve patolojik lezyonların çoğunun geliştiği bölgedir. Meme lobüllerinin boyutu ve lobül içindeki asinusların sayısı oldukça değişkendir. Asinuslar gebelik ve laktasyon dışında afonksiyoneldir. Asinuslar içte tek sıralı küboidal, dışta miyoepiteliyal hücreler ile döşelidir ve en dışta bazal membran bulunur.

Endometriumda olduğu gibi, her menstrüel siklusda memede az da olsa değişiklikler görülür. Folliküler fazda, lobüller rölatif olarak sakindir. Ovulasyondan sonra, progesteron düzeyindeki artışa bağlı olarak hücre proliferasyonu ve her bir lobüldeki asinus sayısı artar, sitoplazmada vakuolizasyon gelişir. Lobül stromasında ödem belirginleşir, lenfositler artar, genelde memede premenstrüel dönemde hissedilir büyümeye neden olur. Menstrüasyonda, östrojen ve progesteron düzeyinin düşmesini epitel hücre ölümü (apoptoz) izler, stromal ödem, lenfositik infiltrasyon kaybolur, lobülün boyutu küçülür.

Gebelikte, hem morfolojik hem de fonksiyonel aktivite birliktedir. İlk 20 haftasında proliferatif aktivite, 2. yarısında ise sekretuar ve laktasyonel değişiklikler artar, hücrelerde lipid ve sekretuar materyal belirir, miyoepiteliyal hücreler azalır. Gebeliğin sonunda, meme dokusunun hemen hemen tümü, ince bağ dokusu stroma ile birbirinden ayrılmış lobüllerden oluşur.

Doğumdan hemen sonra, prolaktin hormon etkisi ile süt sekresyonu başlar. Asinusların epiteli içinde ve lümende sekresyon birikir.

Laktasyonun bitiminden sonra, meme lobüllerinde geri dönüş (involusyon) başlar, lobüller atrofiye olur, bu değişik sürede ve memede farklılıklar göstererek sürer. Lobül stromasında fibröz dokuda artış, hyalinizasyon, epitelde düzleşme, intralobüler stromada yağ ve bağ dokusu, lenfosit ve makrofajlarda artış görülür. Bazen tam regresyon olmayabilir, lobüllerde sayısal artış ve büyüklük kalabilir.

Meme dokusunda üçüncü dekattan sonra başlayan, menapozdan sonra daha da artan atrofi olur, lobüldeki asinusların epitel ve miyoepitel hücreleri azalır, lümen daralır, bazal membran kalınlaşır, çevresinde kalın sklerotik, hiyalinize bağ dokusu bulunur, daha sonra lobül içi stroma hiyalinize nodüle dönüşür, memede yağ dokusu artar.

Bazen meme dokusunda birkaç duktusda hafif, orta düzeyde kistik yapı gelişir ve “kistik atrofi” olarak isimlendirilir.

Birçok yaşlı meme dokusunda, miyoepitelial hücrelerde belirginleşme, hipertrofi ve hiperplazi görülür.

Meme stroması:

Memenin interlobüler geniş alanlarında, yağ dokusu ve yoğun kompakt fibrokonnektif doku bulunur. Lobül içi bağ dokusu ise daha gevşek, daha hücrelidir, bu stromanın özelleşmiş ve meme stromasının hormona duyarlı bölümü olduğu düşünülür, ince bir bant biçiminde duktusların çevresinde de devam eder.

Meme başı ve areola:

Çok katlı yassı epitel ile örtülüdür. Epidermisde saydam hücreler bulunur, bu hücreler Paget hücreleri ile karıştırılmamalıdır. Areolada çok sayıda sebace bezler (Montgomery bezleri) vardır ve bunlar laktiferöz duktuslar ile ilişkilidir, gebelikte daha belirgin olmaya başlar, Montgomery tüberkülleri adı verilen kabartılar yapar, meme başının yağlı olmasını sağlar. Meme başında ayrıca duktuslar çevresinde düz kaslar, sinir uçları, Meissner korpüskülleri, bazen meme asinusları bulunur (7).

2.3.Meme Kanseri

2.3.1. İnsidans :

Kadınlarda meme karsinomları en sık görülen malign tümördür, yıllık dünya çapında 1.000.000'dan fazla kadına tanı konmaktadır. Kadınlarda karsinomlardan ölümlerde en sık nedendir (1). Her 8-9 kadından birinde yaşamları boyunca, meme kanseri gelişmekte ve bu kadınların üçte biri saptanan hastalığa bağlı kaybedilmektedir. Meme karsinomu tanısında keskin bir artış gözlenmektedir. Bunun da mamografinin geniş kullanım alanı bulunmasına bağlı olduğu düşünülmektedir (2). Böylece vakaların çoğu daha 2 cm'den küçük ve/veya in situ formda iken yakalanmaktadır (3).

2.3.2. Epidemiyoloji:

Meme kanseri çocukluk dönemi hariç, herhangi bir yaş grubunda görülse de, bazı familial olgular dışında 25 yaşın altında nadiren ortaya çıkar. İnsidans yaşla birlikte artış gösterir ve dördüncü dekatta 1/231 iken yedinci dekatta 1/29 olur (7).

Risk faktörleri:

Genetik yatkınlık:

Meme kanserleri üzerine yapılan çalışmalar sonucu iki gende meydana gelebilecek mutasyonların ailesel meme kanserlerinin 2/3'ü veya bütün vakaların kabaca %5'inden sorumlu olduğu bulunmuştur (8). Bunlar kromozom 17q üzerinde lokalize

BRCA1 ve kromozom 13q-12-13 üzerinde lokalize BRCA2'dir (9,10,11). BRCA1 geninde oluşan mutasyonlar over ve tuba uterina karsinomlarına predispozisyon oluşturabilir (11). BRCA1 mutasyonu sonucu meme kanseri gelişme riski çeşitli çalışmalarda %56-90 arasında değişirken, BRCA2 mutasyonu için risk %37-84 olarak bildirilmektedir (12,13,14). BRCA1 mutasyonu gösteren meme kanserli vakaların analizinde yüksek oranda tümörler medüller özellik göstermektedir, örneğin; tümörler yüksek gradeli olma eğilimindedir, mitotik indeksi yüksektir, itici sınırlıdır, nekroz eşlik eder ve östrojen reseptörleri negatiftir (15,16,17). Meme kanserlerinin büyük kısmı kazanılan mutasyonlar sonucu ortaya çıkar. Birden çok sayıda meme kanserine yakalanan bireyler içeren aileler, meme kanserine erken yaşta yakalanan hastalar, bilateral meme kanserli kişiler, over ve meme kanseri birlikteliği gösteren hastalar, meme, over, endometrium ve kolon kanserlerinin ya da değişik sarkomların görüldüğü aileler genetik geçiş olasılığını yansıtan klinik özelliklerdir.

BRCA1 ve BRCA2'den daha az sıklıkla tesbit edilen pek çok majör gen de meme karsinomu yatkınlığı ile sıkı ilişkilidir. Bunlar tipik olarak Li-Fraumeni sendromundaki TP53, Cowden sendromundaki PTEN, Peutz-Jeghers sendromundaki STK11, ataksia telenjektazi geni gibi karsinom sendromları içinde yer alırlar (18,19,20,21).

Fibrokistik hastalık ve hiperplazi:

Fibrokistik hastalıkta gözlenen epitel proliferasyonu geniş bir aralık göstermektedir. College of American Pathologists (22) fibrokistik hastalığı olan vakaları gösterdikleri epitelyal proliferasyona göre dört gruba ayırmış olup gruplardaki kanser gelişme riski belirtilmiştir;

Grup 1: Hafif veya hiç hiperplazi göstermeyenlerde invaziv karsinom riski artmamaktadır.

- Adenozis, duktal ektazi, fibroadenom, fibrosis, mastitis, atipisiz hiperplazi, kistler, basit apokrin metaplazi, skuamöz metaplazi

Grup 2: Orta derecede hiperplazi gösterenlerde risk 1,5-2 kat artmaktadır.

- Kompleks fibroadenom, atipik orta-şiddetli hiperplazi, sklerozan adenosis, soliter papillom

Grup 3: Atipik duktal veya lobüler hiperplazi gösterenlerde risk 4-5 kat artmaktadır.

Grup 4: Duktal veya lobüler karsinoma insitu olanlarda risk 8-10 kat artmaktadır

Karşı meme:

İnvaziv meme kanseri olan hastalarda diğer memede karsinom görülme riski genel popülasyona oranla 5 kat daha fazladır, özellikle ailesel öyküsü olanlarda risk daha da yüksektir (23,24,25). Lobüler karsinomlu vakalarda bu risk %25-%50'ye yükselmektedir. Adjuvant kemoterapi kullanılması diğer memede karsinom gelişme riskini belirgin olarak azaltmaktadır (26).

Radyasyona maruz kalma:

Radyasyon DNA hasarına neden olarak karsinogenezisin erken evrelerinde etkili olur. Radyasyona maruz kalma sonucu ortaya çıkan meme kanserlerinde 10-15 yıl gibi uzun bir latent dönem gerekir. Yaşın genç olması ve daha yüksek radyasyon riski arttırır.

Coğrafyanın Etkileri:

Kuzey Amerika, Batı Avrupa ve Avusturalya'da erken tanı ve gelişmiş tedaviler sonucu meme karsinomu mortalitesi azalmıştır (27,28). Ancak Japonya, Kosta Rika ve Singapurda mortalite artış göstermeye devam etmektedir (29).

Menstrüal ve reproduktif dönem öyküsü :

Erken menarş, çocuk sahibi olmama, ilk doğumun 30 yaşından sonra olması ve geç menapoz riski arttırmaktadır (30,31).

Obesite:

Anovulatuvar siklusu ve siklusun geç döneminde düşük progesteron seviyelerine sahip 40 yaş altı şişman kadınlarda düşük risk vardır. Postmenapozal şişman kadınlarda ise risk artmıştır bundan yağ depolarındaki östrojen sentezi sorumlu tutulmaktadır. (7)

Eksojen östrojen:

Yakın zamanda yapılan çalışmalarda hormon replasman tedavisinin meme karsinomu risk artışı ile ilişkili olduğu, özellikle de lobüler tip karsinomla, gösterilmiştir (32,33). 2002 Aralık ayında National Toxicology Program tarafından östrojen hormonu bilinen insan karsinojenlerinden biri olarak bildirmiştir.

Diet alışkanlığı:

Et kaynaklı yağ ve kafeinin şiddetli atipi ve insitu kanser riskini arttırdığı bildirilmektedir. (34,35). Dietin lifden zengin olması ile de memede epitelial proliferasyon arasında ters ilişki olduğu savunulmaktadır. Bunun mekanizması tam bilinmemekle beraber intestinal östrojen metabolizması ya da fitoöstrojenlerle ilişkili olabileceği düşünülmektedir (36).

2.3.3. Etiyoloji ve Patogenez

Genetik Değişiklikler:

Normal epitelden, hiperplazi ve kansere geçişlerle ilişkili genetik değişiklikler inisiasyon, transformasyon ve progresyon olarak adlandırılan bir seri olayı içerir. Proliferatif lezyonların sadece küçük bir kısmı inisiasyon aşamasını geçerek invazyon yönünde ilerler.

Diğer kanserlerde olduğu gibi meme kanserlerinde de mutasyonlar onkogen ekspresyonunda artmakta ve tümör süpresör genlerin ise fonksiyonlarında kayıplara yol açmaktadır. Bunlar arasında en karakteristik olanlarından biri; cerbB2 geninin artmış ekspresyonudur. Bu gen epidermal büyüme faktör reseptör ailesindedir. Meme kanser patogenezinde özellikle erken evrede ve progresyonunda önemli roller üstlendiği saptanmıştır. Aynı genin overekspresyonun lenf nodu pozitif meme kanserlerinde kötü prognozu simgelediği belirtilmektedir. Bunun yanısıra, lokal rekürrensi belirlediğine ve tedaviyi yönlendirebileceğine ilişkin çalışmalar vardır. Aynı şekilde bazı meme kanserlerinde c-ras ve c-myc genlerinin amplifikasyonu gösterilmiştir. (7)

BRCA1, BRCA2, p53 mutasyonları genetik yatkınlıkta önemlidir. Familial sendromlar bu tür neoplazmların oluşumundan sorumlu tutulmaktadır. Cowden sendromundaki 10q'deki bir lokus ve AT geni otozomal geçişli familial vakaların büyük bir kısmından sorumludur. Söz konusu genler tümör süpresör genler ya da DNA tamir genleri gibi iş görürler.

İnsan meme kanserlerinde en çok değişikliğe uğramış p53'dür. Aslında bu gen siklin bağımlı kinazların inhibitörlerini aktive ederek hücre siklus progresyonunu inhibe eder. Buna karşın mutant şekilleri meme kanserlerinin genezinde, özellikle geç evrede önemli roller üstlenmiştir. (7)

Genetik değişiklikler tedavi seçenekleri ve prognozda da önemli rol oynar. Primer ve rekürren tümörlerde yapılan çalışmalarda heterozigosite kaybı (LOH) primer tümörlerde saptanırken rekürren olgularda artış olduğu görülmüştür. Erken rekürrenste TP53 ve D5S107 gibi spesifik odaklarda LOH ilişkili bulunmuştur. Yine lenf nodu metastazı ile ilişkisi saptanmıştır. (37)

BRCA ilişkili meme kanserlerinin BRCA ilişkisiz meme kanserlerinden daha yüksek histolojik grade, östrojen ve progesteron reseptör negatifliği, cerbB2 negatifliği ve yüksek proliferasyon indeksi gibi olumsuz özelliklere sahip oldukları saptanmıştır. (38)

Hormonal etkiler:

Meme kanserlerinin gelişiminde hormonlar önemli bir role sahiptir. Endojen östrojen fazlalığı meme kanser gelişiminde üzerinde durulan konulardan biridir. Doğurganlık döneminin uzun sürmesi, hiç doğum yapmama, ilk çocuğun geç yaşlarda doğması, menstrüel siklus sırasında östrojen piklerine maruz kalmayı artıran özelliklerdir. Ayrıca östrojen salgılayan over tümörlerinin, postmenopozal kadınların meme kanserleriyle birliktelik gösterdiği saptanmıştır. Sonuç olarak, meme kanseri oluşumu ile ilgili bilinen hormonal risk faktörlerinin, memenin östrojen ve muhtemelen progesteronlara kümülatif maruz kalması ile ilgili olduğu sanılmaktadır. Normal meme epiteli östrojen ve progesteron reseptörlerine sahiptir, ayrıca meme kanserlerinin bir bölümünde de aynı reseptörler bulunmaktadır. Büyüme promotorları (transforme edici büyüme faktörü-a/epidermal büyüme faktörü, trombositin derive büyüme faktörü ve fibroblast büyüme faktörü) ve büyüme faktörü inhibitörleri (transforme edici büyüme faktörü-b) insan meme kanser hücreleri tarafından salgılanır ve de yapılan pek çok çalışma bunların tümör progresyonunun otokrin mekanizmasında görev aldığını düşündürmektedir. Bu büyüme faktörlerinin oluşumu östrojene bağımlıdır ve de dolaşan hormonlar, kanser hücreleri tarafından oluşturulan otokrin büyüme faktörleri arasındaki interaksiyonların meme kanser progresyonunda görev aldığını düşündürmektedir. (7)

2.3. 4. Meme Kanseri Progresyonunda Hücresel Değişiklikler

Meme kanseri progresyonunda ortaya çıkan spesifik hücresel değişikliklere ilişkin oldukça fazla bilgi mevcuttur ve hatta bu bilgilerden bir kısmı kanser progresyonunun güncel yaklaşımlarına temel teşkil eder niteliktedir. İlk belirlenen değişikliklerden birisi, meme dokusunda epitelial hiperplazi ya da sklerozan adenozis ile sonuçlanan hücre sayısının normal regülasyonunun kaybıdır. Bunu histolojik olarak atipik hiperplazi ile sonuçlanan hücrelerin klonal popülasyonunda ortaya çıkan genetik instabilite izler. Karsinomun progresyonundan sonra, çok sayıda sellüler değişiklikler ortaya çıkabilir ve bu sellüler değişiklikler içerisinde onkogen ekspresyonunda artma (örneğin c-erbB2 (Her2/neu), c-ras, c-myc), tümör süpresör genlerinin fonksiyonları ya da ekspresyonunda kayıp (örneğin p53, RB), hücre yapısındaki değişiklikler (örneğin vimentin ekspresyonunda artma, fodrin ekspresyonunda azalma), hücre adezyon kaybı (örneğin lobüler karsinomlarda izlenen E-kaderin kaybı, az diferansiye karsinomlarda görülen integrinlerdeki kayıp), hücre siklus proteinlerinin ekspresyonundaki artma (örneğin siklinler, Ki-67, proliferasyon sağlayan hücre nükleer antijeni), anjiyogenetik faktörlerin

ekspresyonunda artma (örneğin vasküler endotelial büyüme faktörü, fibroblast büyüme faktörü) ve proteaz ekspresyonunda artma (örneğin katepsin D, stromelisinler) vardır. Tüm meme kanserlerinde olmasa da bazılarında ortaya çıkan bu değişikliklerin tümü, malign fenotipin multiple değişikliklerinin bir birikimine bağlı olduğunu düşündürmektedir (7).

2.3.5. Meme Tümörlerinin DSÖ Klasifikasyonu:

Epitelyal Tümörler:

Invaziv duktal karsinom, NOS-Spesifiye edilmemiş

Mikst tip karsinom

Pleomorfik karsinom

Osteoklastik dev hücreli karsinom

Koryokarsinomatöz özellikler içeren karsinom

Melanotik özellikler içeren karsinom

Invaziv lobüler karsinom

Tübüler karsinom

Invaziv kribriform karsinom

Medüller karsinom

Müsinöz karsinom ve abondan müsin içeren diğer tümörler:

Müsinöz karsinom

Kistadenokarsinom ve kolumnar hücreli müsinöz karsinom

Taşlı yüzük hücreli karsinom

Nöroendokrin tümörler

Solid nöroendokrin karsinom

Atipik karsinoid tümör

Küçük hücreli karsinom

Büyük hücreli nöroendokrin karsinom

Invaziv papiller karsinom

Invaziv mikropapiller karsinom

Apokrin karsinom

Metaplastik karsinomlar

Pür epitelyal metaplastik karsinomlar

Skvamöz hücreli karsinom

Spindle hücre metaplazili adenokarsinom

Adenoskuamöz karsinom

Mukoepidermoid karsinom
Mikst epitelyal / mezenkimal metaplastik karsinomlar
Lipidden zengin karsinom
Sekretuar karsinom
Onkositik karsinom
Adenoid kistik karsinom
Asinik hücreli karsinom
Glikojenden zengin şeffaf hücreli karsinom
Sebase karsinom
İnflamatuar karsinom
Lobüler neoplazi
Lobüler karsinoma in situ
İntraduktal proliferatif lezyonlar
Usual duktal hiperplazi
Flat epitelyal atipi
Atipik duktal hiperplazi
Duktal karsinoma in situ
Mikroinvaziv karsinom
Intraduktal papiller neoplaziler
Santral papillom
Periferel papillom
Atipik papillom
İntraduktal papiller karsinom
İntrakistik papiller karsinom
Benign epitelyal proliferasyonlar
Adenozis içeren varyantlar
Sklerozing adenozis
Apokrin adenozis
Blunt duktus adenozis
Mikroglandüler adenozis
Adenomiyoepitelyal adenozis
Radial skar / kompleks sklerozan lezyon
Adenomalar
Tübüler adenoma

Laktasyon adenomu

Apokrin adenoma

Pleomorfik adenoma

Duktal adenoma

Miyoepitelyal Lezyonlar:

Miyoepitelyozis

Adenomiyeoitelyal adenozis

Adenomiyeoitelyoma

Malign miyeoitelyoma

Mezenkimal Tümörler:

Hemanjioma

Anjiomatozis

Hemanjioperisitoma

Psdoanjiomatz stromal hiperplazi

Myofibroblastom

Fibromatozis (Agresif)

İnflamatuar myofibroblastik tümör

Lipom

Anjiolipom

Granular hücreli tümör

Nörofibrom

Schwannom

Anjiosarkom

Liposarkom

Rabdomyosarkom

Osteosarkom

Leiomyom

Leiomyosarkom

Fibroepitelyal Tümörler:

Fibroadenom

Phyllodes tümör

Benign

Borderline

Malign

Periduktal stromal sarkom, low grade

Meme hamartomu

Meme Bası Tümörleri:

Nipple adenom

Syringomatöz adenom

Meme basının Paget hastalığı

Malign Lenfoma:

Diffüz büyük B hücreli lenfoma

Burkitt lenfoma

MALT tipi extranodal marjinal zon B hücreli lenfoma

Foliküler lenfoma

Metastatik Tümörler:

Erkek Meme Tümörleri:

Jinekomasti

Karsinom

İnvaziv

İn situ

2.4. İnvaziv Duktal Karsinom, NOS (Spesifiye Edilmemis)

İnvaziv meme karsinomlarının en geniş grubunu oluşturur. Sinonimi infiltratif duktal karsinomdur. Lobüler veya tübüler karsinoma gibi spesifik bir klasifikasyona girecek yeterli karakteristik özellikleri göstermeyen heterojen bir tümör grubudur.

Makroskobik olarak solid bir tümör oluşturur. 10 mm'nin altından 100 mm'nin üzerine kadar değişken boyutlarda olabilir. Düzensiz veya yıldız vari sınırları vardır, nodüler konfigürasyon gösterebilir. Genellikle, orta derecede veya kötü sınırlıdır, etraf dokudan keskin sınırla ayrılmaz. Lezyonun kompozisyonuna göre kesit yüzü görünümü değişir. Kistik değişiklik olağan değildir, nekroz veya kanama varsa görülebilir. Fibrotik skiröz stromadan zengin tümörlerin kesit yüzü sert ve gri beyaz renklidir. Tebeşirimsi beyaz alanlar nekrozu, kalsifikasyonu veya elastoza temsil eder. Büyük oranda neoplastik ve inflamatuvar hücrelerden oluşan, daha az fibröz stromaya sahip karsinomalar, daha yumuşak ve ten rengi görülürler. Böyle hücreden zengin neoplazmlar kesit sırasında protrüde olurlar.

İnvaziv duktal karsinomunun histolojik görünümü heterojendir, olgudan olguya değişkenlik gösterir ve sıklıkla spesifik tümör tiplerinin gösterdiği yapısal düzenliliğe sahip değildir. Yapısal olarak tümör hücreleri, kordonlar, kümeler ve trabeküller halinde düzenlenmiş olabileceği gibi, dar bir stroma içeren solid veya sınırsız infiltratif patern de gösterebilirler. Olguların bir grubunda santral lümen içeren tübüler yapılar oluşturacak şekilde glandüler farklılaşma belirgin olabilir. Ara sıra tek tek dizilim halinde infiltrasyon veya targetoid özellikler görülebilir fakat invaziv lobüler karsinomunun tipik sitomorfolojik karakterleri yoktur. Karsinom hücreleri de değişken görünüm sergilerler. Sitoplazma sıklıkla geniş ve eozinofiliktir. Nükleus düzenli, uniform olabileceği gibi birden fazla belirgin nükleollü ve oldukça pleomorfik de olabilir. Mitotik aktivite de oldukça değişkendir. Olguların % 80 kadarında duktal karsinoma in situ (DCIS) odakları bulunabilir ve genellikle yüksek dereceli komedo tiptir. Stromal komponent de oldukça değişkendir, hücreden oldukça zengin fibroblastik proliferasyon, sınırlı bir alanda izlenen konnektif doku elemanları veya belirgin hyalinizasyon gösterebilir. Periduktal ve perivenöz dağılım gösteren elastozis odakları bulunabilir. Nekroz, genellikle fokal, nadir olgularda ise yaygındır. Olguların küçük bir kısmında belirgin lenfoplazmositoid infiltrasyon saptanabilir.

Tümörün % 10-49'unu duktal NOS patern oluşturuyor ve kalan kısım spesifik bir tip olarak tanımlanabiliyorsa, tümör mikst olarak tanımlanır; mikst duktal ve spesifik tip veya mikst duktal ve lobüler karsinom gibi.

Pleomorfik karsinom, adenokarsinom veya spindle ve skuamöz diferansiyasyon gösteren adenokarsinom zemininde, tümör hücrelerinin %50'den fazlasının pleomorfik ve bazaar tümör dev hücrelerle karakterize olduğu yüksek dereceli duktal NOS karsinomunun ender bir varyantıdır.

2.4.1.İnvaziv Karsinom Grade'lemesi (Derecelendirmesi)

Karsinomaların gradelenmesi diferansiyasyonlarının bir göstergesidir. Başka bir şey belirtilmediyse derecelendirme tümörün invaziv kısmına sınırlıdır.

Nükleer grade, tümör nükleuslarının normal meme epitel hücrelerinin nükleusları ile karşılaştırılmasına dayanan sitolojik değerlendirmedir. Nükleer grade tümörün büyüme paternini değerlendirmesini içermediğinden bu prosedür yalnızca invaziv duktal karsinomaya değil meme karsinomalarının diğer subtiplerine de uygulanabilir. Black ve arkadaşlarının tanımladığı nükleer gradeleme sisteminde üç kategori vardır: iyi diferansiye, intermediyer ve kötü diferansiye. Bu sistemde nükleer pleomorfizm ve mitoz sayısı esas alınır.

Bugünkü gradeleme sisteminde ise bunlar grade 1, 2 ve 3 olarak ifade edilir. Histolojik gradeleme, sitolojik diferansiasyon özellikleri yanısıra, invaziv duktal karsinomaların mikroskobik büyüme paternini tarif eder. En çok kullanılan histolojik gradeleme sistemi Bloom Richardsondur. Kullanılan parametreler: Tübül/gland formasyonu, nükleer pleomorfizm ve hiperkromazi ve mitoz sayısıdır. Birçok çalışma, invaziv meme karsinomunda, histolojik grade ile yaşam süresi arasında anlamlı ilişkiyi ortaya koymuştur.

Tümörün üç özelliği değerlendirilmektedir; glandüler differansiasyon göstergesi olarak tübül formasyonu, nükleer pleomorfizm ve mitoz sayısı. Her faktörün ayrı ayrı değerlendirilmesini sağlamak için, 1-3'lü bir sayısal skorlama sistemi kullanılmaktadır.

Tübülleri ve glandüler asinileri değerlendirirken, yalnızca açık santral lümen gösteren yapılar sayılır. Nükleer pleomorfizm, nükleer boyut düzenliliği ve komşu meme dokusundaki normal epitel hücrelerinin şekilleri referans alınarak değerlendirilir. Nükleer kontür düzensizliği ile nükleol sayı ve boyutu pleomorfizm skorunu değerlendirmede yardımcı ek bulgulardır.

Mitotik figür değerlendirilmesi dikkat gerektirir, araştırmacı yalnızca belirgin mitotik figürleri saymalıdır; proliferasyondan çok apoptozu temsil ettiklerinden hiperkromatik ve piknotik nükleuslar göz ardı edilmelidir. Mitotik sayım standardizasyon gerektirir, 10 büyük büyütme alanındaki total mitoz sayısı hesaplanır. (39)

3-9 arası skorlar elde etmek üzere üç değer toplanır ve bu şekilde grade hesaplanır;

Grade 1- iyi diferansiye: 3-5 puan

Grade 2-orta derecede diferansiye: 6-7 puan

Grade 3-kötü diferansiye: 8-9 puan olarak değerlendirilir.

Prognoz:

Meme kanseri prognozu pek çok klinik ve patolojik faktör tarafından etkilenmektedir (40,41,42,43,44,45,46,47).

1. Hasta yaşı: İlk tanı 50 yaş altında konulan bayanlar en iyi prognoza sahiptir. Ayrıca 50 yaş üzerinde yaş arttıkça prognoz kötüleşmektedir (48). 35 yaş altı bayanlar değerlendirildiğinde, bazı çalışmalar yaşlı hastalardaki prognoza benzer özellikler gösterirken (49) diğer gruplarda ise uzak metastaz ve rekürrens riskinin belirgin yüksek olduğunu belirtmişlerdir (50), bu grup hastalarda daha yüksek gradeli tümör görülme eğilimi vardır (51,52).

2 .BRCA1 durumu: BRCA1 mutasyonu taşıyan meme karsinomlu hastalar eğer adjuvan terapi almazsa daha kötü prognoza sahiptir (53,54). BRCA2 mutasyonu taşıyıcıları için karşılaştırılabilecek yeterli veri yoktur.

3. Gebelik ve oral kontraseptifler: Gebelik ve laktasyon sırasında ortaya çıkan meme karsinomları, düşük hormon reseptörü ekspresyonu ve yüksek Cerb-B2 ekspresyonu ile birlikte; bu nedenle agresif bir tümör olduğuna dair yaygın bir kanı vardır (55) Çalışmalarda gebelikte meme karsinomların daha kötü prognoza sahip olduğu öne sürülmüş; pek çok seride 5 yıllık yaşam oranının %15 ile 35 arasında olduğu belirtilmiştir (56). Buna rağmen aşama aşama değerlendirildiğinde bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ortaya konmuştur (57,58).

Oral kontraseptif kullanımının meme karsinomu gelişimi ve prognoz üzerine herhangi bir etkisi olduğuna dair kanıt bulunamamıştır(59).

4. Erken tanı: Asemptomatik meme karsinomunu inceleyen bir çalışmada sırasıyla 5, 8, 10 yıllık sağkalım oranları %88, 83, 79 olarak bulunmuştur (60). Bu oranlar klinik olarak tanı konabilen hastaların sonuçlarıyla karşılaştırıldığında daha iyidir ve bu da pek çok vakada tümörlerin küçük olması, genellikle aksiller metastaz yapmaması ile ilişkilidir .

5. İnvazivitenin varlığı veya yokluğu: Meme karsinomunda en önemli prognostik faktördür. Pratikte insitu karsinomlar mastektomi ile %100 tedavi edilebilir. Duktal tip tümörlerin hem insitu hem de invaziv komponenti vardır, invaziv komponent oranı ile nodal metastaz oluşumu arasında korelasyon vardır. İnsitu komponentin miktarı, multisentrisite ve indirekt olarak okült invazyon olasılığı ile metastaz arasında ilişki vardır. Komedo-karsinomun insitu duktal tipinde invazyon gözlenmese bile metastaz olabilir. (61,62).

6. Tümör boyutu: Primer tümörün boyutu ile nodal metastaz insidansı ve yaşam oranı arasında iyi bir korelasyon vardır (63,64). Lenf nodu negatif meme karsinomlarında rölaps oranı ve yaygınlığında bu ucuz, çabuk ve kolay parametre en önemli belirteçlerdendir (65). İnsitu ve invaziv komponenti olan tümörlerde, invaziv komponentin büyüklüğü total tümör boyutundan daha önemli bir belirteçtir (66). Tümör büyüklüğünün makroskopik yerine mikroskopik olarak değerlendirilmesinin daha büyük bir prognostik değeri vardır (67). Boyut minimal meme karsinomlarının tanımlanmasındaki iki kriterden biridir, bu büyüklükten bağımsız olarak bütün insitu karsinomlar ve ≤ 1 cm çaplı invaziv karsinomları kapsamaktadır. Saigo ve Rosen'ın negatif lenf nodlu, ≤ 1 cm çaplı invaziv karsinomlu ve modifiye radikal mastektomili 111 hastanın en az 10 yıllık takip oranlarını

belirttikleri çalışmalarında: hastaların %75'i hiçbir hastalık belirtisi vermeden yaşamış, %4'ü rekürren karsinomu olup yaşamış, %6'sı hastalıktan ve %15'i de diğer sebeplerden kaybedilmiştir (68).

7. Yerleşim yeri: Yapılan pek çok çalışmada primer tümör kadran lokalizasyonu ile prognoz arasında bir bağlantı bulunmamıştır. Buna rağmen, yakın zamanda yapılan geniş bir çalışmada medial yerleşimli tümörlerin lateral yerleşimlilere göre sistemik relaps ve tümörden ölümlerde riskinin %50 daha fazla olduğu bildirilmiştir (69).

8. Hücresel mimari tipi: İnvaziv duktal ve invaziv lobüler karsinom arasında belirgin bir prognostik farklılık yoktur. İnvaziv duktal karsinom morfolojik varyantlarının daha iyi prognoza sahip olanları; tubuler karsinom, kribriform karsinom, medüller karsinom, pür müsinöz karsinom, papiller karsinom, adenoid kistik karsinoma ve juvenil (sekretuar) karsinomadır (70,71,72). Lobüler (bazen duktal) karsinomun bir varyantı olan taşlıyüzük hücreli karsinoma ileri derece kötü prognozludur. İnflamatuar karsinom da kötü prognoza sahiptir. Duktal karsinomdan daha agresif olduğu söylenen ancak yaşam süresi açısından küçük farklılık gösteren tümörler; skuamöz hücreli karsinom, metaplastik karsinom ve nöroendokrin özelliği olan karsinomlardır (karsinoid tümör) (73).

9. Mikroskopik grade: Meme karsinomunun mikroskopik gradelemesinde en geniş kullanıma sahip iki sistem; Bloom ve Richardson (74) ve Black (75)'dir. Bunlar ilk planda hücresel mimari ve ikinci olarak nükleer atipi derecesine dayanmaktaydı. Bunlar genellikle rutin olarak boyanan parçaların görsel mikroskopik olarak değerlendirilmesine dayanmaktaydı, buna rağmen bu değişikliklerin bilgisayar destekli olarak değerlendirilmesine yönelik çeşitli girişimlerde olmuştur (76,77,78,79). Hem hücre mimarisi hem de sitolojinin prognozla ilişkili bulunmasından sonra bunların birlikte kullanılmasına yönelik bir yaklaşım kabul görmüştür (64,80,81). Elston bu yaklaşımın en önde gelen savunucularındandır, Bloom ve Richardson sisteminin Nottingham modifikasyonu ile mitotik aktivite değerlendirilmesinin kombinasyonunu kullanmaktadır (82,83). Burada gradeleme tubül formasyonu, nükleer pleomorfizm ve mitotik sayının her birinin 1, 2, 3 gibi skorlarla değerlendirildiği bir sistemle yapılmaktadır. Bu sonuçlar totalde 3-9 skorları arasında değişiklik göstermektedir; 3-5 puan: Grade I, 6-7 puan: Grade 2 ve 8-9 puan: Grade 3 şeklinde değerlendirilmektedir.

Bu ve ilişkili gradeleme sistemlerinin faydasının inandırıcılığı ve tekrarlanabilir güvenilirliği sayesinde bu sistemin rutin patoloji raporlarına eklenmesine yönelik bir yaklaşım vardır (84). Bu sistem genel olarak invaziv duktal karsinomanın NOS

değerlendirilmesinde kullanılırken, duktal karsinomun özel tipleri ve lobüler karsinomda da uygulanabilir (85).

10. Tümör sınırları: Sınırları itici tümörler sınırları infiltrate edici tümörlere göre daha iyi prognoza sahiptir. Bu uygulama sadece medüller karsinom için değil, diğer iyi sınırlı neoplazmlar içinde kullanılabilir (86,87,88).

11. Tümör nekrozu: Tümör nekrozu artmış lenf nodu nekrozu insidansı ve azalmış yaşam süresi ile ilişkilidir (86,89,90,91), özellikle çok yaygınsa. Bu nitelik özellikle yüksek histolojik gradeli tümörlerle ilişkilidir(92).

12. Stromal reaksiyon: Sürpriz olarak, periferde inflamatuvar reaksiyon olmayan tümörler daha az derecede nodal metastaza ve daha iyi prognoza sahiptir (93). Bu yargılar medüller karsinom spesifik vakalarına uygulanamaz.

13. Mikrodamar yoğunluğu: Yapılan çalışmalarda tümörü çevreleyen stromada belirgin vasküler yapıları olan invaziv meme karsinomları diğerlerine göre daha agresif seyretmektedir (94,95,96,97). Buna göre damar yoğunluğunu ve bunun diğer parametrelerle korelasyonunu değerlendirmeye yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Bazı araştırmacılar bu belirgin korelasyonu göstermede başarılı olamamıştır, bunlar yüzeyi ve bu tümörleri çevreleyen karmaşık vasküler yapının değerlendirilmesinde karşılaşılan güçlüklerden bahsetmektedir (98,99,100). Ek olarak mikrodamar yoğunluğu intratümöral endotel hücresi proliferasyonundan bağımsız bir olgudur (101), ve mikrodamar yoğunluğundaki artış intraduktal karsinomda, özellikle de komedo tipinde görülebilmektedir (102).

14. Elastozis: Elastozis bulunmayan meme karsinomları büyük oranda elastozis bulunduranlarla karşılaştırıldığında endokrin terapiye daha az yanıt verdiği gözlenmiştir (103). Yaşam süresi açısından bakıldığında ise elastozis bulunduran ve bulundurmamayanlar arasında bir fark bulunmamıştır (104,105).

15. Keratin boyalı örnek: Bir çalışmada, CK17 ve CK5 ekspresyon eden karsinomların daha kötü klinik sonuçlara neden olduğu belirtilmiştir (106).

16. CEA boyalı örnek: Bu immünohistokimyasal belirtecin prognozla bağlantısı bulunamamıştır (107).

17. Vimentin boyalı örnek: Vimentin ekspresyonunun lenf nodu-negatif duktal karsinomlarda kötü prognozla ilişkili olduğu öne sürülmektedir (108).

18. Katepsin D: Karşı yargılara rağmen (109), ne tümördeki Katepsin D immünoaktivite ne de enzimin serum düzeylerinin bağımsız prognostik değeri olduğu gösterilebilmiştir (110,111,112,113,114,115).

19. HER2/neu: Daha önce de belirtildiği gibi, bu onkogenin immünohistokimyasal veya FISH yöntemi ile belirlenen overekspresyonu, Herceptine yanıtın mükemmel belirteciyken, kemoterapiye yanıtın zayıf bir belirteçidir (116). Özellikle lenf nodu metastazı bulunan karsinomlarda kötü prognozu göstermesine, tümör grade ile yakın korelasyon göstermesine rağmen (117), multivaryant analizde bağımsız prognostik değerinin olmadığı düşünülmektedir (118,119).

20. p53 ve nm23: p53 proteinin akümüasyonu (muhtemelen gen mutasyonu sonucu) ve nm23 proteinin düşük ekspresyonun azalmış hasta yaşam süresi ile korelasyon gösterdiği belirtilmiştir (120,121,122,123). Buna rağmen, lenf nodu negatif 440 hastayı kapsayan bir çalışmada, p53'ün immünohistokimyasal olarak gösterilmesinin güvenilir bir prognostik indikatör olmadığı ve herhangi bir major epidemiyolojik faktörle ilişkili olmadığı belirtilmiştir (124). Daha sonra yapılan çalışmalarda bu sonucu desteklemektedir(125). p53 heterozigotluğunun kaybolmasının yüksek histolojik grade ve nükleer grade ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir (126).

21. Bcl-2: Meme karsinomunda Bcl-2 protein ekspresyonu ile uzun yaşam süresi arasındaki bağlantı gösterilmiştir (127). Bcl-2 aynı zamanda östrojen reseptör durumu ile bağlantılıdır (128,129).

22. Deri invazyonu: Yüzeyindeki deri invazyonu olan meme karsinomu azalmış yaşam süresi ile ilişkilidir (130). İnflamatuar karsinomun belirleyicisi olarak deri lenf damarları invazyonu özellikle kötü prognoz işaretidir.

23. Meme başı invazyonu: Karsinoma meme başı tutulmasının eşlik etmesi yüksek aksiller lenf nodu tutulumu ile birlikte (131).

24. Lenfatik tümör embolisi: Memedeki lenfatik damarlarda tümör embolisinin olması yüksek tümör rekürrensi ile birlikte (132,133,134).

25. Kan damar embolisi: Bulgular tümör boyutu, histolojik grade, tümör tipi, lenf nodu durumu, uzak metastaz gelişimi ve kötü prognoz arasında yüksek korelasyon göstermektedir (135,136,137,138).

26. Paget hastalığı: Paget hastalığının varlığı ya da yokluğunun invaziv duktal karsinomda prognoza etkisi olmadığı bildirilmektedir.

27. Östrojen reseptörleri: Pek çok yazar östrojen reseptör pozitif tümörleri olan hastaların, biokimyasal ya da immünohistokimyasal belirlenmiş olsun, diğerlerine göre daha uzun hastaliksız yaşam süresine sahip olduklarını belirtmişlerdir. Buna rağmen, uzun dönem prognozda minimal değişikliğe sebep olmakta ve muhtemelen istatistiksel olarak anlamlı olmamaktadır (139,140,141)

28. DNA ploidy: Flow sitometri ile DNA ploidy değerlendiren pek çok çalışmaya rağmen, tümör boyutu, mikroskopik gradeleme, lenf nodu durumu ve hormon-reseptör durumu hakkında prognostik ve terapötik bağımsız bilgiler veren parametre değildir (142,143,144,145,146,147,148).

29. Hücre proliferasyonu: Bu parametre, ışık mikroskopik olarak mitotik sayım (149,150,151,152), MIB-1 (Ki-67) ile veya analog immünohistokimya (153,154,155,156,157) veya flow sitometri ile S-faz fraksiyonun belirlenmesi ile ölçülmüş olsun çok önemli bir prognostik belirleyicidir (144,158,159,160). Elston tarafından oluşturulan kombine gradeleme tablosuna katılmıştır. Aslında o sistemin en önemli komponentidir.

30. Siklin D1: Bu markerın immünohistokimyasal olarak ölçülen overekspresyonu bağımsız prognostik özelliği göstermemektedir (161).

31. Telomeraz aktivitesi: Bu enzimin düzeyi ile meme karsinomunun proliferatif indeksi bağlantılıdır, ancak bu ölçüm yaşam süresi için bağımsız belirleyici değildir (162).

32. Aksiller lenf nodu metastazı: Bu en önemli prognostik faktörlerden biridir (163,164). Sadece lenf nodu pozitif veya negatif olması yaşam süresi için tek kriter değildir. Yaşam süresi aynı zamanda aksiller lenf nodu tutulum düzeyi (düşük, orta, yüksek) (165), tam sayı (dörtten az veya dört ve üzeri) (166,167,168), metastatik tümörün miktarı (169,170), ektranodal yayılımın varlığı veya yokluğu (171,172,173,174), götürücü damarlarda tümör hücrelerinin varlığı veya yokluğu ile ilişkilidir (175,176). Mikrometastazların ve izole tümör hücrelerin (sentinel lenf nodlarına yayılan) prognostik belirleyiciliği vardır (177). Prognostik değerlendirme için en iyi gruplandırma; negatif nodlar, bir- pozitif nod ve dört veya üzeri pozitif nod şeklinindedir.

33. Lenf nodu reaksiyon paterni: Rejyonel nodun mikroskopik ortaya çıkılmış olması (lenf nodu cevabı ve/veya sinus histiyoizis) vücudun tümöre cevabını gösterir ve prognozla ilişkilidir (178). Bu konu hala tartışmalıdır; arada bir korelasyon varsa da istatistiksel olarak anlamlı gözükmemektedir (179,180).

34. Internal mammarian lenf nodu metastazı: Bu lenf nodu grubunun tutulumu olan hastalarda yaşam süresi özellikle 1-3 aksiller lenf nodu tutulumu saptanan hastalarda, tutulum olmayan hastalara göre daha azdır (181).

35. Lokal rekürrens: Bu kötü prognoz göstergesidir. İpsilateral göğüs duvarı rekürrensi ve uzak metastaz olmayan 60 hastayı kapsayan bir seride, bütün hastalar metastatik meme karsinomu nedeniyle kaybedilmiştir (182).

36. Terapi tipi: Mevcut bilgiler göstermektedir ki meme karsinomunda klinik gidişi tümörün doğası uygulanan tedaviden daha çok etkilemektedir. Farklı tedavi metodları uygulanan pek çok merkezden alınan sonuçlar yaşam süresi açısından benzerlikler göstermektedir (183). Terapötik sonuçları değerlendirmeyi komplike hale getiren faktör, dikkatli randomize çalışmaların kullanılmasını olanaksız hale getiren, hastalığın kişiye göre varyans gösteren tabiatıdır. Bu çalışmaların çoğu aşağıda belirtilen grupların hiçbirisinde yaşam süresi açısından belirgin farklılık olmadığını savunmaktadır (184,185,186):

a) Klinik olarak negatif lenf nodu olan hastalar için:

Radikal mastektomi ile total mastektomi ve postoperatif rejyonel radyasyon uygulamasının karşılaştırılması

Total mastektomi ile segmentektomi ve postoperatif rejyonel radyasyon uygulamasının karşılaştırılması

b) Klinik olarak pozitif lenf nodu olan hastalar için:

Radikal mastektomiye ile total mastektomi ve postoperatif rejyonel radyasyon uygulamasının karşılaştırılması

En son tamamlanan 6 çalışmanın sonuçlarında meme koruyucu cerrahi ve radyasyon tedavisi kombinasyonunun yaşam süresi sonuçları mastektomi ile karşılaştırıldığında açık olarak eşit gözükmektedir. (187).

Bloom ve arkadaşları 250 tedavi görmeyen meme karsinomu olan hastanın takip sonuçları tedavinin etkinliğini değerlendirmek için iyi bir temel veri oluşturmuştur, tanı sonrası bu hastaların 5-yıllık sağkalım oranları %18'dir (188).

37. Gen ekspresyon profili: Mikroarray yöntemi ile binlerce genin ekspresyonunun değerlendirilmesinin prognostik grupları değerlendirmede daha kesin sonuçlar vereceğine dair büyük umutlar vardır (189,190,191).

2.4.2.İnvaziv Duktal Karsinoma Evrelemesi

TNM Klinik Klasifikasyonu

Primer Tümör (T)

TX Primer tümör değerlendirilemiyor

T0 Primer tümör bulgusu yok

Tis Karsinoma in situ: İntraduktal karsinoma veya lobüler karsinoma in situ veya meme başının Paget hastalığı

T1 Tümörün en geniş çapı 2 cm veya altı

- T1mic Mikroinvazyonun en geniş çapı 0.1cm veya altı
T1a Tümörün en geniş çapı 0.1cm'den fazla fakat 0.5cm'den az
T1b Tümörün en geniş çapı 0.5cm'den fazla fakat 1cm'den az
T1c Tümörün en geniş 1cm'den fazla fakat 2cm'den az
T2 Tümörün en geniş çapı 2cm'den fazla fakat 5cm'den az
T3 Tümörün en geniş çapı 5cm'den fazla
T4 Tümör herhangi bir boyutta fakat göğüs duvarına veya cilde yayılım
T4a Göğüs duvarına yayılım
T4b Meme cildinde ödem veya ülserasyon, veya aynı memede satellit cilt nodülü
T4c T4a ve T4b birlikte
T4d İnflamatuvar karsinoma

Bölgesel Lenf Nodları (N)

- NX Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor
N0 Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1 İpsilateral aksiler mobil lenf nodu metastazı
N2 İpsilateral aksiler fiske lenf nodu metastazı
N3 İpsilateral internal mammary lenf nodu metastazı

Patolojik Klasifikasyon (pN)

- p NX Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor
p NO Bölgesel lenf nodu metastazı yok
p N1a Yalnızca mikrometastaz (0.2 cm'den büyük değil)
p N1b 0.2cm'den daha büyük lenf nodu metastazı
p N1bi Bir ile üç arası lenf nodu metastazı, en geniş çapları 0.2 cm'den fazla,
2cm'den az
p N1bii Dört veya fazla lenf nodu metastazı, en geniş çapları 0.2 cm'den fazla,
2cm'den az
p N1biii Lenf nodu metastazında kapsül invazyonu, en geniş çap 2 cm'den az
p N1biv En geniş çapı 2 cm veya daha büyük lenf nodu metastazı
p N2 İpsilateral aksiler fiske lenf nodu metastazı
p N3 İpsilateral internal mammary lenf nodu metastazı

Uzak Metastaz (M)

- MX Uzak metastaz varlığı değerlendirilemedi
M0 Uzak metastaz yok
M1 Uzak metastaz (Supraklaviküler lenf nodu metastazı dahil)

Histopatolojik Tipler

Karsinoma, NOS (not otherwise specified)

Duktal

İntraduktal (in situ)

İnvaziv, predominant olarak intraduktal komponent

İnvaziv, NOS

Değişik spesifik tipler

Lobüler

İn situ

İnvaziv, predominant olarak in situ komponent

İnvaziv

Paget hastalığı

NOS

İntraduktal komponent içeren

İnvaziv duktal karsinoma içeren

İndiferansiye karsinoma

Histopatolojik Grade (G)

GX Grade değerlendirilemiyor

G1 İyi diferansiye

G2 Orta derecede diferansiye

G3 Kötü diferansiye

G4 İndiferansiye (192)

2.5. STAT

STAT (Signal Transducers and Activators of Transcription) 'lar pek çok sitokin ve büyüme faktöründen sinyalleri nükleusa aktaran sitoplazmik transkripsiyon faktörleri olup bu sinyal ileti sistemi, normal hücre fonksiyonlarının devamı için gerekli iletişim ve etkileşmeden sorumludur. Gerek hücre içinde organellerin ve hücre sel yapıların birbiri ile iletişim halinde olması ve birbirlerinin fonksiyonlarını etkilemesi, gerekse hücrenin diğer hücrelerle haberleşebilmesi için düzgün çalışan bir sinyal ileti sistemi gereklidir. Hücreler arası sinyal ileti sistemi nispeten anlaşılması daha kolaydır. Oysa hücre içinde, sitoplazmik zardan başlayan ve DNA'da son bulan bir iletişim sistemi, birbiri ile iç içe, etkileşim halinde bir ağıdır.

STAT proteinleri 1990'lı yılların başında interferon (IFN) aracılı olarak gen transkripsiyonunun düzenlenmesi ile birlikte tanımlandı. Günümüzde, çeşitli sitokinlerin farklı STAT proteinlerini aktive ettikleri bilinmektedir. STAT ailesinin bugün tanımlanmış yedi üyesi (STAT 1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b, STAT6) mevcuttur. Sitokin, hücre yüzeyindeki reseptörüne bağlanır (alfa alt birim). Daha sonra aa ya da ab oligomerizasyonu gerçekleşir. Bu oligomerizasyon, reseptör ile ilişkili olan JAK proteinlerini çapraz fosforilasyon ile aktive eder. Aktive JAK proteinleri-reseptörü de fosforile ederler. Bu bölgeler sitoplazmadaki inaktif STAT proteinlerinin reseptör ile etkileşmesine olanak sağlar. STAT proteinlerin daha sonra homodimer ya da heterodimer oluşturmak üzere reseptörden ayrılarak hücre çekirdeğine gelirler ve DNA üzerinde özgül cevap elemanı dizileri ile etkileşerek hedef genlerin transkripsiyonunu uyarırlar.

STAT proteinlerinin yapısında yer alan bölgelerin işlevleri şunlardır:

1. Oligomerizasyon bölgesi: Diğer proteinler ile etkileşir, STAT tetrameri oluşumunu sağlar.
2. DNA bağlanma bölgesi: DNA'ya özgün bağlanmadan sorumludur; ligand uyarısına özgül sinyal oluşumunu sağlar.
3. SH2 bölgesi: STAT-reseptör, STAT-JAK ve STAT-STAT etkileşimlerinden sorumlu bölgedir.
4. C-terminal ucu: Transkripsiyonel aktivitenin özgünlüğü ve kontrolünden sorumludur.
5. Tirozin aminoasiti: N-ucudan yaklaşık 700 aminoasit uzaklıktadır. Tirozin fosforilasyon, bütün STAT proteinlerinin DNA'ya bağlanma aktiviteleri düzenler. STAT3 ve STAT 5 aktivitelerinin kontrolsüz işleyişi malign transformasyonda rol oynamaktadır. STAT proteinleri iki mekanizma aracılığıyla karsinogenezde etkili olur. Bunlardan bir STAT'ın sürekli aktivasyonudur. Diğer değişim ise proteinin c-ucunun mutasyona uğramasıdır. Devamı olarak aktif olan STAT proteini antiapoptotik yolları uyararak malign süreçte etkili olabilir

STAT ailesinin ilk iki üyesi STAT1 ve STAT2 öncelikle DNA-protein kompleks yapısı içinde (ISGF-3) bulunmuştur. Bu kompleks yapı IFN ile muamele edilmiş HeLa hücrelerinde izole edilmiştir. STAT1'in a ve b olmak üzere iki ayrı izoform aynı primer transkript üzerinden spliced mRNA tarafından kodlanır. İnsanda STAT1a proteini 750 aminoasitten oluşmuştur ama STAT1b proteini ise STAT1a proteinin karboksi terminalindeki 39 aminoasitten yoksundur. STAT2 molekülü 851 aminoasit büyüklüğündedir ve STAT1 ile önemli derecede aminoasit dizi homolojisi gösterir. Benzer

homolojileri kendi ailelerinde STAT3'den STAT6'ya kadar olan diğer üyelerle de gösterirler. STAT ailesine özel bir yapı olan DNA'ya bağlanma bölgesi ve karboksi terminali aktivasyon bölgeleri arasında STAT proteinlerinin SH2 VE SH3 bölgeleri bulunur. SH2 bölgesi STAT proteinlerinin sitokin reseptörleri üzerindeki fosfatlanmış tirozin bölgelerinde toplanmasını sağlar ve ayrıca SH2 domaini STAT dimerizasyonunu aktifler. Bu dimerizasyon, ilgili DNA dizi bölgesine STAT molekülünün bağlanması için gereklidir. STAT proteinlerindeki SH3 bölgesi daha az korunmuş bir bölgedir ve görevinin ne olduğu tam olarak bilinmemektedir; ama üzerlerindeki prolin zengin bölgelerle protein-protein tanıma özelliği gösterdiği düşünülmektedir. STAT proteinlerinin karboksi terminal bölgesinde özel bir tirozin bölgesi vardır (Y701 STAT1 de, Y690 STAT2 de, Y705 STAT3 de bulunur) ve bu bölge sitokinlere cevapta JAK (Janus family) tirozin kinazlar tarafından tanınır ve fosfatlanır. Sitokinlere cevapta STAT aktivasyonu bu fosfatlanma işlemi ile JAK'lar aracılığı ile yapılmış olur. Memelilerde JAK ailesinin 4 üyesi tanımlanmıştır; JAK1, JAK2, JAK3 ve TYK2. Bu kinazların pek çok hematopoetik malignitede ve bazı karsinomlarda aktive oldukları gösterilmiştir ve kanser tedavisinde hedef olarak sunulmaktadır.

Mutant hücre dizilerinde (U3 ve U6) yapılan çalışmalar sonunda STAT1 proteininin IFN a/b ve IFN-g sinyal iletisi için önemli olduğu ortaya çıkmıştır; buna rağmen STAT2 proteini sadece IFN a/b sinyal iletisine özel bir yapıdır. STAT1 den yoksun farelerde hiçbir gelişme anormalliği izlenmemiş ancak IFN'lara cevapta görülmemiştir. Bu da göstermektedir ki STAT1 IFN sinyal ileti sisteminde önemli bir moleküldür.

STAT ailesi esas olarak STAT-1,3,4 ve 5 izomerlerinden oluşan toplam 10 farklı proteini içermektedir. Yapısı çok iyi aydınlatılmış olup, DNA binding domain, çok iyi korunmuş NH2 domain, transaktivasyondan sorumlu COOH terminal domain ve SH2-SH3 domainlerden oluşmaktadır. Fosforile olunca dimerler oluşturup aktif forma geçer ve fonksiyon görmek üzere nükleusa geçerler. JAK proteinleri, bir grup hücre içi sinyal proteinlerini aktive eder. Bunlar içinde en iyi tanımlanmış olanları STAT grubudur. JAK aktivasyonunu takiben STAT fosforilasyonu gerçekleşir ve homoheterodimer formunu alan STAT'lar nükleusa göç edip, DNA'ya bağlanır ve gen aktivasyonunu başlatır. STAT aktivasyonu, serin/treonin rezidülerinin fosforilasyonu ile kontrol edilmektedir ve bu kontrol STAT kinazlardan bağımsızdır. STAT'lar, hücre içinde bazen birbirine zıt olaylara aracılık ederler. Hem hücre proliferasyonunu hem de apoptozisi uyarabilirler. Örneğin STAT1, IFN'un antiproliferatif etkisine aracılık ederken, STAT5, IL-3 ve GM-CSF'in proliferatif etkisine aracılık etmektedir. STAT3 aktivasyonu ise, IL-6 ve IL-10'a bağlı

büyüme inhibisyonu, IL-3 ve GM-CSF tarafından uyarılan proliferasyona aracılık etmektedir. STAT1, IFN'a yanıt olarak Fas/FasL ekspresyonunu artırmakta ve apoptozisi indüklemektedir. JAK/ STAT sinyal yolunda, kontrol mekanizması olarak, aktivasyon hızlı ve geçicidir. Proteozom aracılı yıkım ve tirozin defosforilasyonu, inaktivasyonda önemli mekanizmalardır. SOCS ve PIAS inhibisyonunun en önemli mediatörleridir. (193) SOCS'lar sitokinlerle indüklenen faktörler olup, sitokin sinyal sisteminde negatif feedback oluşturur. SOCS1- SOCS7 ve CIS olarak tanımlanan sekiz formu mevcuttur. SOCS1 ve SOCS3 JAK'ların kinaz aktivitesini inhibe eder. CIS reseptörle bağlanmada yarışarak STAT'ları engeller. Bu nedenle SOCS'lar STAT sinyal sisteminde önemli rol oynar. PIAS regülatuar protein ailesinin 4 üyesi mevcuttur. PIAS1, PIAS3, PIASx ve PIAS y. STAT1'in tirozin fosforilasyonu için STAT1-PIAS1 birleşmesi gereklidir, STAT1 ilişkili gen aktivasyonunda PIAS1 spesifik inhibitör olarak gösterilmiştir.

STAT aktivitesi ayrıca Ras ve Notch sinyal yolları ile de regüle edilmektedir.

Sinyal iletimi yollarını ve sinyal proteinlerini hedef alan onkojenik mutasyonlara sık olarak rastlanmaktadır. Sinyal iletiminde meydana gelen değişimler hücrenin çoğalma ve/veya (194) yaşama işlevlerinin kontrolünü ortadan kaldırır. Böylelikle, onkojenik sinyal iletimi tümör gelişimi ile invazyon/metastaz sürecinde etkin rol oynamaktadır.(195)

STAT1 hücre proliferasyonunu regüle eder. STAT1p21'in transkripsiyonel aktivasyonunu sağladığı öne sürülmektedir. Proliferasyondaki yolu yanı sıra STAT1 programlı hücre ölümünde önemli rol oynar. Pekçok hücre tipinde STAT1'in apoptosiste rol aldığı gösterilmiştir. Caspasların ekspresyonunu desteklemektedir. STAT1'in radyorezistan tümörlerde artmış ekspresyonu gösterilmiştir. Yine STAT1 artmış ekspresyonunun cisplatin rezistansında rol oynadığı öne sürülmektedir. STAT1 tümör anjiogenezinde inhibitör rol oynar ve böylece tümör büyüme ve metastazında negatif etki gösterir.

STAT3 tümörlerde STAT1 gibi proliferasyonu inhibe eder, apoptozisi indükler, anjiogenez baskılar ve ayrıca tümörlere karşı immün yanıtı stimüle eder.

STAT4, esas olarak IL-12 ile aktive edilir ve timus diferansiyasyonunda rol oynar. STAT4 ekspresyonu myeloid hücreler, timus ve testiste sınırlı bulunmuştur.

STAT5 immün ve hematopoetik sistemde çeşitli sitokinlerce aktive edilir. Karaciğerde esas olarak büyüme hormonu ile aktive olur. STAT5a aktive olup sitoplazmadan nükleusa transloke olduğunda, büyüme, diferansiyasyon ve gelişmede niçin gerekli transkripsiyon olur. Bu nedenle STAT5a'ya 'memeinin büyüme faktörü' adı verilir.

Atipik ve malign meme duktal epitel hücrelerinde STAT5a ekspresyonunda azalma gösterilmiştir (196).

2.6. HIF

Pek çok ökaryotik organizmanın aerobik metabolizmaları için oksijen büyük ölçüde gereklidir. Oksijen mitokondriyal oksidatif fosforilasyondan sonra kalan ve atık yan ürünler olan zararlı elektron ve hidrojen iyonlarını yok etme işlevini görür. Bununla birlikte oksijen dağılımı; kalp-damar, akciğer ve kan hastalıklarında bozulursa bu enerji metabolizması da ciddi bir şekilde zarar görür. Bu nedenle organizmalar hücrelerin oksijeninin tükendiği koşullarda işlevlerini sürdürmeleri için çeşitli mekanizmalar geliştirmiştir. Bunlar; atmosferden dokulara oksijen geçişini artıran yeni damar oluşumu ve alyuvarların üretiminde artış anlamına gelen refleks hiperventilasyonu içerir. Hücre düzeyinde uyum ise glukoz alımı ve hücrenin varlığını sürdürmesi veya ölümü ile ilgili stres proteinlerin ifadenmesini artıran oksidatif fosforilasyondan anaerobik gliolizise kadar enerji metabolizma değişikliklerini kapsar. Hipoksik uyum için gerekli olan pek çok proteinin düzenlenmesi, transkripsiyon faktörü HIF1 α 'nın düzenlediği genlerde HRE ile birleştirilmesi yoluyla transkripsiyonel indüksiyonu içeren gen seviyesindeki düzenlenmelerdir. HIF1 α birçok kanser türünde tümör oluşumunda güçlü bir faktördür (4, 5, 197).

İnsanlardaki tümörlerde yüksek düzeyde bulunan HIF1 α 'nın anaerobik enerji metabolizmasını, anjiogenezisi, hücrelerin devamlılığını ve ilaca karşı dirençte rol oynayan hedef genleri düzenleyerek tümör gelişiminde önemli rol oynadığı belirtilmektedir (4, 5).Yine hipoksi indükleyen faktörler tümör büyümesi için gerekli anjiogenez için gereklidir (6).

HIF 1a anjiogeneziste kritik bir rol oynar ve iki heterodimer subüniti vardır. HIF1 α ve HIF1 β . HIF1 α oksijenle düzenlenen subünittir ve HIF1 aktivitesini belirler. Hipoksik durumlarda HIF1'in transkripsiyon aktivitesi hızla artarak HIF1 α aşırı ekspresyonuna neden olur. Gen ekspresyonu ile düzenlenen HIF'ün major rolü anjiogenezisi, tümör progresyonu ve agresif davranıştır. Vasküler Endotelial Growth Faktör (VEGF); tümör anjiogenezisi ve metastazda önemli rol oynar (198).

VEGF temel olarak makrofajlar, damar düz kas hücreleri ve tümör hücrelerinde yapılır ve endotelial hücrelerin göçüne ve proliferasyonuna neden olur. VEGF ekspresyonunun hipoksi esnasında HIF1 α ile kontrol edildiği kabul edilmektedir (198).

HIF2; HIF2 α ve HIF2 β subunitinde oluşur. Heterodimerik transkripsiyon faktörleri olan HIF1 ve HIF2 hücrel oksijenin düzenlenmesi için vazgeçilmez öğelerdir. Hipoksiye yanıt olarak HIF1 α ve HIF2 α HIF1 β 'ya bağlanırlar ve neovaskularizasyon sağlayan genlerden dahil olmak üzere hipoksik stresi azaltan genlerin salınımına sebep olurlar (6).

HIF1 ve HIF2 VEGF transkripsiyonunu stimüle ederler. Oksijen dengesindeki dalgalanma ve anormal HIF aktivitesi kalp, KOAH , preeklampsi ve bir çok kanser türünde patogeneizde rol oynar (6).

Tümörlerin çoğunda genellikle hipoksi gelişir. Çünkü tümör hücrelerinin yayılma oranı damar oluşum oranını geçer, böylece anormal damar oluşumu nedeniyle kan sağlanması tehlikeye düşer (4). Tümör hipoksi tümörün çapı yalnızca birkaç mm'ye ulaştığında yani tümör gelişiminin başlarında olduğu varsayılır. HIF1 α bir hipoksik uyarısı tarafından içeri aldığından HIF1 α proteinin hipoksik bölgeler içeren ciddi tümörlerde büyük ölçüde bulunması şaşırtıcı değildir. Üstelik HIF1 α 'nın ifadenmesi oksijen miktarından bağımsız olarak onkogenler ve tümör supresör genlerindeki genetik değişimlerde artabilir. Örneğin RAS, SRC, Her 2 veya m TOR onkogenlerindeki işlev kazandırma mutasyonları ve VH, PTEN veya p53 tümör süpressör genlerindeki fonksiyon kaybı mutasyonları insanlardaki kanserlerde HIF 1a gen ifadenmesinde artışa neden olabilmektedir (199,200).

MATERYAL VE METOD:

Bu çalışmada retrospektif olarak arşiv taraması ile 2002 ve 2008 tarihleri arasında, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalında mastektomi ve aksiller diseksiyon yapılan ve Tıbbi Patoloji Anabilim Dalında tanı almış 150 meme karsinomu olgusu incelendi.

*Taranan olgulardan 24 tanesi lenf nodu metastazların varlığı ve yokluğu dikkate alınarak incelemeye alındı.

*Olgulara ait camların tamamı taranarak çalışma için kullanılacak tümöral ve nontümöral alanları içeren bloklar seçildi.

*Seçilen bloklardan polizine kaplı lamalar üzerine, her bloktan 5 mikron kalınlığında olmak üzere 8'er kesit alındı.

*STAT1, STAT2, STAT3, STAT5, STAT5a, STAT5b, HIF1 α , HIF2 α ile boyanacak olan preparatlar, 60 C \square derecede 1 saat bekletildi

*Ksilol ve derecesi giderek azalan alkollerden geçirilerek distile suda yıkandı.

*STAT1, STAT2, STAT3, STAT5, STAT5a, STAT5b, HIF1 α , HIF2 α uygulanacak olan tüm lamalar antijen geri kazanım için ph 6'da 10 mM sitrat tampon içerisine konularak mikrodalga fırında sırasıyla 30, 25, 30, 25, 30, 20, 25, 30 dakika boyunca 700 watt ısıya tabi tutuldu.

*Daha sonra preparatlar oda ısısında soğumaya bırakıldı.

*Sonrasında lamalar fosfat tamponlanmış salin solüsyon (PBS) ile yıkandı.

*Preparatlara H₂O₂ damlatılıp 8 dakika beklendi ve boyama başlandı.

*Kesitler PBS ile yıkandı.

*Tüm preparatlara süper block damlatıldı.

*Primer antikor (dilüe edilmiş) uygulandı.

*Kesitler tekrar PBS ile yıkandı.

*Biotinlenmiş sekonder antikor uygulandı.

*Lamlar PBS ile yıkandı.

*Ultratek HRP sekonder antikor uygulandı.

*Kesitler PBS ile yıkandı.

*10 dakika AEC kromojen uygulandı.

* Kesitler PBS ile yıkandı.

* Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra 2-3 dakika Mayer'in hemotoksileni ile zıt boyama yapılarak çeşme suyunda yıkandı.

*Distile su ile tekrar yıkanan preparatlar kapama maddesi (Large volume vision mount) damlatıldıktan sonra lamel ile kapatıldı.

*Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra 2-3 dakika Mayer'in hemotoksileni ile zıt boyama yapılarak çeşme suyunda yıkandı.

*Distile su ile tekrar yıkanan preparatlar kapama maddesi (Large volume vision mount) damlatıldıktan sonra lamel ile kapatıldı.

Antikorların ekspresyonları değerlendirilirken HIF ve STAT'lar için nükleer pozitiflik boyanma grade'i verilirken esas alındı. Sitoplazmik boyanma not edildi. Tümör hücrelerinde tümör dışı dokularda epitelial boyanma, mezenkim ve lenfositlerde boyanmalar incelendi.

Boyanma gradelenirken ışık mikroskobunda 10 farklı alanda da pozitif boyanan hücrelerin yüzdesi 2 patolog tarafından bağımsız olarak değerlendirildi, birlikte değerlendirme tekrarlanarak boyanma grade'i olarak belirlendi. Gradelemede pozitif boyanan hücrelerin yüzdesi aşağıdaki gibi sınıflandırıldı:

Grade0 (negatif vakalar)%10 pozitif hücrenin altında

Grade 1+ %10-50 pozitif hücre

Grade 2+ Immunreaktivite pozitif kanser hücrelerinin %51-75 inde

Grade 3+ %75 in üstünde pozitif hücre

Farklı gruplar arasındaki parametrelerin karşılaştırılması için Spearmans'in rank korelasyon testi kullanıldı ve $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 24 olgunun yaşları 29-80 arasında değişmekteydi (ortalama yaş 58.42). Olguların 23'ü kadın 1 tanesi erkekti. E/K oranı 1/23 olarak saptandı. En büyük tümör çapı 9 cm, en küçük tümör çapı 1,5 cm ölçüldü (ortalama çap 3.47cm).

Bloom Richardson gradelemesine göre değerlendirildiğinde 7 tanesi grade I, 8 tanesi grade II, 9 tanesi grade III idi.

Lenf nodu metastazı olmayan 12 olgunun 3 tanesi grade I, 4 tanesi grade II, 5 tanesi grade III, lenf nodu metastazı olan 12 olgunun 4 tanesi grade I, 4 tanesi grade II, 4 tanesi grade III 'dü.

HIF1 α olgularda nükleer boyanma esas alınarak değerlendirildi. Olgularda diffüz sitoplazmik boyanma mevcuttu. HIF1 α ile tümör dışı meme dokusunda epitelde, intraduktal ve infiltratif atipik epitelde boyanma mevcut olmakla beraber miyoepitel hücrelerinde HIF1 α pozitifliği saptanmadı. Tümör dışı alanda lenfositlerde boyanma görülmedi. Tümöre karşı gelişen lenfoid yanıtta lenfositlerde nükleer boyanma mevcuttu (Resim 1,2,3).

HIF1 α ekspresyonu ve değerlendirilen histopatolojik ve prognostik parametreler Tablo 1'de gösterilmiştir.

HIF1 α ekspresyonu Bloom Richardson gradelemesine göre değerlendirildiğinde;

*Grade I olan olguların 5/7 sinde (%71.4) G0, 1/7 sinde (%14.3) G1, 1/7 sinde (%14.3) G3, *Grade II olan olguların 7/8 inde (%87.5) G0, 1/8 inde (%12.5) G1,

*Grade III olan olguların 8/9 unda (%88.9) G0, 1/9 unda (%11.1) G2 olarak HIF1 α ekspresyonu mevcuttu.

*HIF1 α ekspresyonu lenf nodu negatif olguların 12/12 sinde (%100) G0 olarak tesbit edildi.

* Lenf nodu pozitif olguların 8/12 sinde (%66.7) G0, 2/12 sinde (%16.7) G1, 1/12 sinde (%8.3) G2, 1/12 sinde (%8.3) G3 olarak değerlendirildi.

Tümör stromasında desmoplastik yanıt yönünden HIF1 α ekspresyonu değerlendirildiğinde;

*Yoğun desmoplazi izlenen 10 olgunun 9 tanesinde (%90) G0, 1 tanesinde (%10) G3,

*Orta düzeyde desmoplazi izlenen 7 olgunun 5 tanesinde (%71.4) G0, 1 tanesinde (%14.3) G1, 1 tanesinde (%14.3) G2 ,

*Hafif düzeyde desmoplazi izlenen 6 olgunun 5 tanesinde (%83.3) G0, 1 tanesinde (%16.7) G1,

*Desmoplazi izlenmeyen 1 olgu (%100) G0 HIF1 α ekspresyonu saptandı.

Nekroz varlığı HIF1 α ekspresyonu yönünden değerlendirildiğinde;

*Nekrozu olan 17 olgunun 14 tanesinde (%82.4) G0, 2 tanesinde (%11.8) G1, 1 tanesinde (%5.9) G2 ,

*Nekrozu olmayan 7 olgunun 6 tanesinde (%85.7) G0, 1 tanesinde (%14.3) G3 HIF1 α ekspresyonu tesbit edildi.

Lenfosit infiltrasyonu derecesi ile HIF1 α ekspresyonu karşılaştırıldığında;

*Yoğun lenfosit infiltrasyonu izlenen 7 olgunun 6 tanesinde (%85.7) G0, 1 tanesinde (%14.3) G2,

*Orta düzeyde lenfosit infiltrasyonu izlenen 5 olgunun 4 tanesinde (%80) G0, 1 tanesinde (%20) G3,

*Hafif düzeyde lenfosit infiltrasyonu izlenen 9 olgunun 8 tanesinde (%88.9) G0, 1 tanesinde (%11.1) G1,

*Lenfosit infiltrasyonu izlenmeyen 3 olgunun 2 tanesinde (%66.7) G0, 1 tanesinde (%33.3) G1 olarak değerlendirildi.

Tümör çapı ile HIF1 α ekspresyonu değerlendirildiğinde;

*Çap değeri 1 (2cm'ye kadar) olan 9 olgunun 8 tanesinde (%88.9) G0, 1 tanesinde (%11.1) G3 olarak eksprese edildi.

*Çap değeri 2 (2-5cm) olan 11 olgunun 9 tanesinde (%81.8) G0, 1 tanesinde (%9.1) G1, 1 tanesinde (%9.1) G2 olarak eksprese edildi.

*Çap değeri 3 (5cm üzeri) olan 4 olgunun 3 tanesinde (%75) G0, 1 tanesinde (%25) G1 olarak eksprese edildi.

Tümör sınırlarının karakteri HIF1 α ekspresyonu yönünden değerlendirildiğinde;

*Tümör sınırları ekspansif (0) olan 3 olgunun 3 tanesinde (%100) G0 olarak değerlendirildi.

*Tümör sınırları infiltratif (1) olan 21 olgunun 17 tanesinde (%81) G0, 2 tanesinde (%9.5) G1, 1 tanesinde (%4.8) G2, 1 tanesinde (%4.8) G3 olarak değerlendirildi.

Östrojen boyanma derecesi ile HIF1 α ekspresyonu karşılaştırıldığında;

*Östrojen reseptörü ile boyanmayan (0) 7 olgunun 7 tanesinde (%100) G0 olarak eksprese edildi.

*Östrojen reseptörü ile boyanan (1) 17 olgunun 13 tanesinde (%76.5) G0, 2 tanesinde (%11.8) G1, 1 tanesinde (%5.9) G2, 1 tanesinde (%5.9) G3 olarak eksprese edildi.

Progesteron boyanma derecesi ile HIF1 α ekspresyonu karşılaştırıldığında;

*Progesteron reseptörü ile boyanmayan (0) 3 olgunun 3 tanesinde (%100) G0 olarak eksprese edildi.

* Progesteron reseptörü ile boyanan (1) 21 olgunun 17 tanesinde (%81) G0, 2 tanesinde (%9.5) G1, 1 tanesinde (%4.8) G2, 1 tanesinde (%4.8) G3 olarak eksprese edildi.

Cerb-B2 boyanma derecesi ile HIF1 α ekspresyonu karşılaştırıldığında;

*Cerb-B2 ile boyanmayan 15 olgunun 13 tanesinde (%86.7) G0, 1 tanesinde (%6.7) G1, 1 tanesinde (%6.7) G3 olarak eksprese edildi.

*Cerb-B2 ile hafif boyanan 2 olgunun 1 tanesinde (%50) G0, 1 tanesinde (%50) G1 olarak eksprese edildi.

*Cerb-B2 ile orta boyanan 3 olgunun 3 tanesinde (%100) G0 olarak eksprese edildi.

*Cerb-B2 ile yüksek boyanan 4 olgunun 3 tanesinde (%75) G0, 1 tanesinde (%25) G2 olarak eksprese edildi.

HIF2 α ile epitel hücrelerinde nükleer ve sitoplazmik boyanma gözlemlendi, nükleer boyanma derecelendirildi. Tümör içindeki lenfositlerde HIF2 α ekspresyonu görüldü, lenfositlerdeki HIF2 α yoğunlukları da derecelendirildi (Resim 4). Ayrıca myoepitel hücreler ve damar duvarlarında düz kas hücrelerinde boyanma gözlemlendi. HIF2 α ekspresyonu ve değerlendirilen parametrelere ait bulgular Tablo 2’de gösterilmiştir.

HIF2 α tümörlü olguların 10/24’de eksprese edilmezken G0, 4/24’de G1, 10/24’de G2 boyanma saptandı.

HIF2 α ekspresyonu Bloom Richardson gradelemesine göre

*Grade I olan olguların 3/7 sinde (%42.9) G0, 3/7 sinde (%42.9) G1, 1/7 sinde (%14.3) G2 olarak eksprese edildi.

*Grade II olan olguların 3/8 inde (%37.5) G0, 5/8 inde (%62.5) G2 olarak eksprese edildi.

*Grade III olan olguların 4/9 unda (%44.4) G0, 1/9 unda (%11.1) G1, 4/9 unda (%44.4) G2 olarak eksprese edildi

* HIF2 α ekspresyonu lenf nodu negatif olguların 3/12 sinde (%25) G0, 3/12 sinde (%25) G1, 6/12 sinde (%50) G2 olarak tesbit edildi.

* Lenf nodu pozitif olguların 7/12 sinde (%58.3) G0, 1/12 sinde (%8.3) G1, 4/12 sinde (%33.3) G2 olarak değerlendirildi.

Tümör stromasında desmoplastik yanıt yönünden HIF2 α ekspresyonu değerlendirildiğinde;

*Yoğun desmoplazi izlenen 10 olgunun 3 tanesinde (%30) G0, 1 tanesinde (%10) G1, 6 tanesinde (%60) G3 olarak eksprese edildi.

*Orta düzeyde desmoplazi izlenen 7 olgunun 4 tanesinde (%57.1) G0, 1 tanesinde (%14.3) G1, 2 tanesinde (%28.6) G2 olarak eksprese edildi.

*Hafif düzeyde desmoplazi izlenen 6 olgunun 2 tanesinde (%33.3) G0, 2 tanesinde (%33.3) G1, 2 tanesinde (%33.3) G2 olarak eksprese edildi.

*Desmoplazi izlenmeyen 1 olgu (%100) G0 olarak eksprese edildi.

Nekroz varlığı HIF2 α ekspresyonu yönünden değerlendirildiğinde;

*Nekrozu olan 17 olgunun 8 tanesinde (%47.1) G0, 2 tanesinde (%11.8) G1, 7 tanesinde (%41.2) G2 olarak eksprese edildi.

*Nekrozu olmayan 7 olgunun 2 tanesinde (%28.6) G0, 2 tanesinde (%28.6) G1, 4 tanesinde (%42.9) G2 olarak eksprese edildi.

Lenfosit infiltrasyonu derecesi ile HIF2 α ekspresyonu karşılaştırıldığında;

*Yoğun lenfosit infiltrasyonu izlenen 7 olgunun 4 tanesinde (%57.1) G0, 3 tanesinde (%42.9) G2 olarak eksprese edildi.

*Orta düzeyde lenfosit infiltrasyonu izlenen 5 olgunun 3 tanesinde (%60) G0, 1 tanesinde (%20) G1, 1 tanesinde (%20) G2 olarak eksprese edildi.

*Hafif düzeyde lenfosit infiltrasyonu izlenen 9 olgunun 2 tanesinde (%22.5) G0, 2 tanesinde (%22.5) G1, 5 tanesinde (%55.6) G2 olarak eksprese edildi.

*Lenfosit infiltrasyonu izlenmeyen 3 olgunun 1 tanesinde (%33.3) G0, 1 tanesinde (%33.3) G1, 1 tanesinde (%33.3) G2 olarak eksprese edildi.

Tümör çapı ile HIF2 α ekspresyonu değerlendirildiğinde;

*Çap değeri 1 (2cm'ye kadar) olan 9 olgunun 5 tanesinde (%55.6) G0, 1 tanesinde (%11.1) G1, 3 tanesinde (%33.3) G2 olarak eksprese edildi.

*Çap değeri 2 (2-5cm) olan 1 olgunun 4 tanesinde (%36.4) G0, 3 tanesinde (%27.3) G1, 4 tanesinde (%36.4) G2 olarak eksprese edildi.

*Çap değeri 3 (5cm üzeri) olan 4 olgunun 1 tanesinde (%25) G0, 3 tanesinde (%75) G2 olarak eksprese edildi.

Tümör sınırlarının karakteri HIF2 α ekspresyonu yönünden değerlendirildiğinde;

*Tümör sınırları ekspansif (0) olan 3 olgunun 2 tanesinde (%66.7) G0, 1 tanesinde (%33.3) G1 olarak değerlendirildi.

*Tümör sınırları infiltratif (1) olan 21 olgunun 8 tanesinde (%38.1) G0, 3 tanesinde (%14.3) G1, 10 tanesinde (%47.6) G2 olarak değerlendirildi.

Östrojen boyanma derecesi ile HIF2 α ekspresyonu karşılaştırıldığında;

*Östrojen reseptörü ile boyanmayan (0) 7 olgunun 2 tanesinde (%28.6) G0, 1 tanesinde (%14.3) G1, 4 tanesinde (%57.1) G2 olarak eksprese edildi.

*Östrojen reseptörü ile boyanan (1) 17 olgunun 8 tanesinde (%47.1) G0, 3 tanesinde (%17.6) G1, 6 tanesinde (%35.3) G2 olarak eksprese edildi.

Progesteron boyanma derecesi ile HIF2 α ekspresyonu karşılaştırıldığında;

*Progesteron reseptörü ile boyanmayan (0) 3 olgunun 3 tanesinde (%100) G3 olarak eksprese edildi.

* Progesteron reseptörü ile boyanan (1) 21 olgunun 10 tanesinde (%47.6) G0, 4 tanesinde (%19) G1, 7 tanesinde (%33.3) G2 olarak eksprese edildi.

Cerb-B2 boyanma derecesi ile HIF2 α ekspresyonu karşılaştırıldığında;

*Cerb-B2 ile boyanmayan 15 olgunun 6 tanesinde (%40) G0, 2 tanesinde (%13.3) G1, 7 tanesinde (%46.7) G2 olarak eksprese edildi.

*Cerb-B2 ile hafif boyanan 2 olgunun 2 tanesinde (%100) G0 olarak eksprese edildi.

*Cerb-B2 ile orta boyanan 3 olgunun 2 tanesinde (%66.7) G1, 1 tanesinde (%33.3) G2 olarak eksprese edildi.

*Cerb-B2 ile yüksek boyanan 4 olgunun 2 tanesinde (%50) G0, 2 tanesinde (%50) G2 olarak eksprese edildi.

STAT1 ile nontümöral epitelde boyanma görülmedi. Tümörlü olguların 4/24'ünde boyanma saptanmamış (G0), 4 olguda G1, 11 olguda G2, 5 olguda G3 STAT1 ekspresyonu saptanmıştır. Non tümöral epitel ve miyoepitel hücrelerinde STAT1 ekspresyonu görülmemiştir. STAT1 ekspresyonu ve tümöre ait değerlendirilen parametrelere ait bulgular Tablo 3'de boyanma özellikleri Resim 5'de gösterilmiştir.

STAT 1 ekspresyonu Bloom Richardson gradelemesine göre değerlendirildiğinde;

*Grade I olan olguların 1/7 sinde (%14.3) G0, 5/7 sinde (%71.4) G2, 1/7 sinde (%14.3) G3

*Grade II olan olguların 3/8 inde (%37.5) G1, 2/8 inde (%25) G2, 3/8 inde (%37.5)G3 olarak *Grade III olan olguların 3/9 unda (%33.3) G0, 1/9 unda (%11.1) G1, 4/9 unda (%44.4) G2, 1/9 unda(%11.1) G3 STAT1 ekspresyonu saptandı.

*STAT1 ekspresyonu lenf nodu negatif olguların 2/12 sinde (%16.7) G0, 3/12 sinde (%25) G1, 6/12 sinde (%50) G2, 1/12 sinde (%8.3) G3 olarak tesbit edildi.

* Lenf nodu pozitif olguların 2/12 sinde (%16.7) G0, 1/12 sinde (%8.3) G1, 5/12 sinde (%41.7) G2, 4/12 sinde (%33.3) G3 STAT1 ekspresyonu mevcuttu.

Tümör stromasında desmoplastik yanıt yönünden STAT1 ekspresyonu değerlendirildiğinde;

*Yoğun desmoplazi izlenen 10 olgunun 2 tanesinde (%20) G0, 1 tanesinde (%10) G1, 4 tanesinde (%40) G2, 3 tanesinde (%30) G3

*Orta düzeyde desmoplazi izlenen 7 olgunun 1 tanesinde (%14.3) G1, 4 tanesinde (%57.1) G2, 2 tanesinde (%28.6) G3

*Hafif düzeyde desmoplazi izlenen 6 olgunun 1 tanesinde (%16.7) G0, 2 tanesinde (%33.3) G1, 3 tanesi (%50) G2 STAT1 ekspresyonu mevcuttu.

*Desmoplazi izlenmeyen 1 olgu (%100) G0 olarak saptandı.

Nekroz varlığı STAT1 ekspresyonu yönünden değerlendirildiğinde;

*Nekrozu olan 17 olgunun 2 tanesinde (%28.6) G0, 2 tanesinde (%28.6) G1, 10 tanesinde (%58.8) G2, 3 tanesinde (%17.6) G3 olarak eksprese edildi.

*Nekrozu olmayan 7 olgunun 2 tanesinde (%28.6) G0, 2 tanesinde (%28.6) G1, 1 tanesinde (%14.3) G2, 2 tanesinde (%28.6) G3 STAT1 pozitifliği mevcuttu.

Lenfosit infiltrasyonu derecesi ile STAT1 ekspresyonu karşılaştırıldığında;

*Yoğun lenfosit infiltrasyonu izlenen 7 olgunun 1 tanesinde (%14.3) G0, 2 tanesinde (%28.6) G1, 2 tanesinde (%28.6) G2, 2 tanesinde (%28.6) G3,

*Orta düzeyde lenfosit infiltrasyonu izlenen 5 olgunun 1 tanesinde (%20) G0, 1 tanesinde (%20) G1, 2 tanesinde (%40) G2, 1 tanesinde (%20) G3,

*Hafif düzeyde lenfosit infiltrasyonu izlenen 9 olgunun 2 tanesinde (%22.2) G0, 5 tanesinde (%55.6) G2, 2 tanesinde (%22.2) G3,

*Lenfosit infiltrasyonu izlenmeyen 3 olgunun 1 tanesinde (%33.3) G0, 2 tanesinde (%66.7) G2 olarak değerlendirildi.

Tümör çapı ile STAT1 ekspresyonu değerlendirildiğinde;

*Çap değeri 1 (2cm'ye kadar) olan 9 olgunun 2 tanesinde (%22.2) G0, 3 tanesinde (%33.3) G1, 3 tanesinde (%33.3) G2, 1 tanesinde (%11.1) G3,

*Çap değeri 2 (2-5cm) olan 11 olgunun 1 tanesinde (%9.1) G0, 1 tanesinde (%9.1) G1, 7 tanesinde (%63.6) G2, 2 tanesinde (%18.2) G3,

*Çap değeri 3 (5cm üzeri) olan 4 olgunun 1 tanesinde (%25) G0, 1 tanesinde (%25) G2, 2 tanesinde (%50) G3 STAT1 ekspresyonu mevcuttu.

Tümör sınırlarının karakteri STAT1 ekspresyonu yönünden değerlendirildiğinde;

*Tümör sınırları ekspansif (0) olan 3 olgunun 1 tanesi (%33.3) G0, 2 tanesi (%66.7) G2 olarak değerlendirildi.

*Tümör sınırları infiltratif (1) olan 21 olgunun 3 tanesi (%14.3) G0, 4 tanesi (%19) G1, 9 tanesi (%42.9) G2, 5 tanesi (%23.8) G3 olarak değerlendirildi.

Östrojen boyanma derecesi ile STAT1 ekspresyonu karşılaştırıldığında;

*Östrojen reseptörü ile boyanmayan (0) 7 olgunun 1 tanesinde (%14.3) G0, 2 tanesinde (%28.6) G1, 2 tanesinde (%28.6) G2, 2 tanesinde (%28.6) G3,

*Östrojen reseptörü ile boyanan (1) 17 olgunun 3 tanesinde (%17.6) G0, 2 tanesinde (%11.8) G1, 9 tanesinde (%52.9) G2, 3 tanesinde (%17.6) G3 STAT1 ekspresyonu mevcuttu.

Progesteron boyanma derecesi ile STAT1 ekspresyonu karşılaştırıldığında;

*Progesteron reseptörü ile boyanmayan (0) 3 olgunun 1 tanesinde (%33.3) G2, 2 tanesinde (%66.7) G3 olarak eksprese edildi.

* Progesteron reseptörü ile boyanan (1) 21 olgunun 4 tanesinde (%19) G0, 4 tanesinde (%19) G1, 10 tanesinde (%47.6) G2, 3 tanesinde (%14.3) olarak STAT1 eksprese edildi.

* Cerb-B2 boyanma derecesi ile STAT1 ekspresyonu karşılaştırıldığında Cerb-B2 ile boyanmayan 15 olgunun 4 tanesinde (%26.7) G0, 3 tanesinde (%20) G1, 5 tanesinde (%33.3) G2, 3 tanesinde (%20) G3 olarak eksprese edildi.

*Cerb-B2 ile hafif boyanan 2 olgunun 1 tanesinde (%50) G1, 1 tanesinde (%50) G2,

* Cerb-B2 ile orta boyanan 3 olgunun 2 tanesinde (%66.7) G2, 1 tanesinde (%33.3) G3,

*Cerb-B2 ile yüksek boyanan 4 olgunun 3 tanesinde (%75) G2, 1 tanesinde (%25) G3, boyanma saptandı.

STAT2 olgularda nükleer pozitiflik esas alınarak değerlendirildi. Ayrıca bazı olgularda sitoplazmik boyanma, lenfosit boyanması ve non tümoral epitelde boyanma saptadık. Tümörlü 24 olgunun 2'sinde STAT2 ile boyanma görülmezken (G0), 5'inde G1, 9'unda G2, 8'inde G3 STAT2 ekspresyonu saptandı (Resim 6). STAT2 ekspresyonu ve değerlendirilen parametreler Tablo 4'de gösterilmiştir.

STAT 2 ekspresyonu Bloom Richardson gradelemesine göre

*Grade I olan olguların 4/7 sinde (%57.1) G2, 3/7 sinde (%42.9) G3 olarak boyandı.

*Grade II olan olguların 2/8 sinde (%25) G0, 2/8 inde (%25) G1, 4/8 inde (%50) G2 STAT2 ekspresyonu saptandı.

*Grade III olan olguların 3/9 u (%33.3) G1, 1/9 u (%11.1) G2, 5/9 i (%55.6) G3 olarak değerlendirildi.

*STAT2 ekspresyonu lenf nodu negatif olguların 1/12 sinde (%8.3) G0, 3/12 sinde (%25) G1, 5/12 sinde (%41.7) G2, 3/12 sinde (%25) G3 boyanma tesbit edildi.

* Lenf nodu pozitif olguların 1/12 sinde (%8.3) G0, 2/12 sinde (%16.7) G1, 4/12 sinde (%33.3) G2, 5/12 sinde (%41.7) G3 boyanma saptandı.

Tümör stromasında desmoplastik yanıt yönünden STAT2 ekspresyonu değerlendirildiğinde;

*Yoğun desmoplazi izlenen 10 olgunun 3 tanesinde (%30) G1, 4 tanesinde (%40) G2, 3 tanesinde (%30) G3,

*Orta düzeyde desmoplazi izlenen 7 olgunun 1 tanesinde (%14.3) G0, 1 tanesinde (%14.3) G1, 2 tanesinde (%28.6) G2, 3 tanesinde (%42.9) G3,

*Hafif düzeyde desmoplazi izlenen 6 olgunun 1 tanesinde (%16.7) G0, 1 tanesinde (%16.7) G1, 3 tanesi (%50) G2, 1 tanesi (%16.7) G3 STAT2 ekspresyonu mevcuttu.

*Desmoplazi izlenmeyen 1 olguda (%100) G3 STAT2 ekspresyonu saptandı.

Nekroz varlığı STAT2 ekspresyonu yönünden değerlendirildiğinde;

*Nekrozu olan 17 olgunun 2 tanesinde (%11.8) G0, 3 tanesinde (%17.6) G1, 7 tanesinde (%41.2) G2, 5 tanesinde (%29.4) G3,

*Nekrozu olmayan 7 olgunun 2 tanesinde (%28.6) G1, 2 tanesinde (%28.6) G2, 3 tanesinde (%42.9) G3 olarak değerlendirildi.

Lenfosit infiltrasyonu derecesi ile STAT2 ekspresyonu karşılaştırıldığında;

*Yoğun lenfosit infiltrasyonu izlenen 7 olgunun 1 tanesinde (%14.3) G0, 3 tanesinde (%42.9) G1, 1 tanesinde (%14.3) G2, 2 tanesinde (%28.6) G3,

*Orta düzeyde lenfosit infiltrasyonu izlenen 5 olgunun 4 tanesinde (%80) G2, 1 tanesinde (%20) G3,

*Hafif düzeyde lenfosit infiltrasyonu izlenen 9 olgunun 1 tanesinde (%11.1) G0, 1 tanesinde (%11.1) G1, 3 tanesinde (%33.3) G2, 4 tanesinde (%44.4) G3,

*Lenfosit infiltrasyonu izlenmeyen 3 olgunun 1 tanesinde (%33.3) G1, 1 tanesinde (%33.3) G2, 1 tanesinde (%33.3) G3 olarak değerlendirildi.

Tümör çapı ile STAT2 ekspresyonu değerlendirildiğinde;

*Çap değeri 1 (2cm'ye kadar) olan 9 olgunun 2 tanesinde (%22.2) G1, 3 tanesinde (%33.3) G2, 4 tanesinde (%44.4) G3,

*Çap değeri 2 (2-5cm) olan 11 olgunun 2 tanesinde (%18.2) G0, 3 tanesinde (%27.3) G1, 3 tanesinde (%27.3) G2, 3 tanesinde (%27.3) G3,

*Çap değeri 3 (5cm üzeri) olan 4 olgunun 3 tanesinde (%75) G2, 1 tanesinde (%25) G3 STAT2 ekspresyonu saptandı.

Tümör sınırlarının karakteri STAT2 ekspresyonu yönünden değerlendirildiğinde;

*Tümör sınırları ekspansif (0) olan 3 olgunun 1 tanesinde (%33.3) G1, 1 tanesinde (%33.3) G2, 1 tanesinde (%33.3) G3,

*Tümör sınırları infiltratif (1) olan 21 olgunun 2 tanesinde (%9.5) G0, 4 tanesinde (%19) G1, 8 tanesinde (%38.1) G2, 7 tanesinde (%33.3) G3 STAT2 boyanma mevcuttu.

Östrojen boyanma derecesi ile STAT2 ekspresyonu karşılaştırıldığında;

*Östrojen reseptörü ile boyanmayan (0) 7 olgunun 1 tanesinde (%14.3) G0, 2 tanesinde (%28.6) G1, 2 tanesinde (%28.6) G2, 2 tanesinde (%28.6) G3,

*Östrojen reseptörü ile boyanan (1) 17 olgunun 1 tanesinde (%5.9) G0, 3 tanesinde (%17.6) G1, 7 tanesinde (%41.2) G2, 6 tanesinde (%35.3) G3 STAT2 ekspresyonu mevcuttu.

Progesteron boyanma derecesi ile STAT2 ekspresyonu karşılaştırıldığında;

*Progesteron reseptörü ile boyanmayan (0) 3 olgunun 1 tanesinde (%33.3) G0, 1 tanesinde (%33.3) G1, 1 tanesinde (%33.3) G2,

* Progesteron reseptörü ile boyanan (1) 21 olgunun 1 tanesinde (%4.8) G0, 4 tanesinde (%19) G1, 8 tanesinde (%38.1) G2, 8 tanesinde (%38.1) G3 olarak değerlendirildi.

Cerb-B2 boyanma derecesi ile STAT2 ekspresyonu karşılaştırıldığında;

*Cerb-B2 ile boyanmayan 15 olgunun 1 tanesinde (%6.7) G0, 3 tanesinde (%20) G1, 8 tanesinde (%53.3) G2, 3 tanesinde (%20) G3,

*Cerb-B2 ile hafif boyanan 2 olgunun 1 tanesinde (%50) G0, 1 tanesinde (%50) G3,

*Cerb-B2 ile orta boyanan 3 olgunun 3 tanesinde (%100) G3,

*Cerb-B2 ile yüksek boyanan 4 olgunun 2 tanesinde (%50) G1, 1 tanesinde (%25) G2, 1 tanesinde (%25) G3 STAT2 ekspresyonu mevcuttu.

STAT3 olgularda tümör epitelindeki nükleer boyanması esas alınarak değerlendirildi. Ayrıca damar endotelinde nontümoral duktus epitellerinde, lenfositlerde, stromada endotelde, damar düzkasında ve fibroblastlarda STAT 3 ile boyanma görüldü. Tümörlü olguların 11 tanesi G0 olup STAT3 ekspresyonu gösteren olguların 4'ü G3, 7'si G2, 2'si G1 olarak değerlendirildi (Resim 7). STAT3 boyanma derecesi ve değerlendirilen parametreler Tablo 5'de özetlenmiştir

STAT 3 ekspresyonu Bloom Richardson gradelemesine göre

*Grade I olan olguların 3/7 sinde (%42.9) G0, 2/7 sinde (%28.6) G2, 2/7 sinde (%28.6) G3,

*Grade II olan olguların 5/8 inde (%62.5) G0, 2/8 inde (%25) G1, 1/8 inde (%12.5) G2,

*Grade III olan olguların 3/9 unda (%33.3) G0, 4/9 unda (%44.4) G2, 2/9 unda (%22.2) G3 olarak değerlendirildi.

*STAT 3 ekspresyonu lenf nodu negatif olguların 8/12 sinde (%66.7) G0, 3/12 sinde (%25) G2, 1/12 sinde (%8.3) G3 olarak tesbit edildi.

* Lenf nodu pozitif olguların 3/12 sinde (%25) G0, 2/12 sinde (%16.7) G1, 4/12 sinde (%33.3) G2, 3/12 sinde (%25) G3 olarak saptandı.

Tümör stromasında desmoplastik yanıt yönünden STAT3 ekspresyonu değerlendirildiğinde;

*Yoğun desmoplazi izlenen 10 olgunun 4 tanesinde (%40) G0, 1 tanesinde (%10) G1, 4 tanesinde (%40) G2, 1 tanesinde (%10) G3,

*Orta düzeyde desmoplazi izlenen 7 olgunun 3 tanesinde (%42.9) G0, 1 tanesinde (%14.3) G1, 1 tanesinde (%14.3) G2, 2 tanesinde (%28.6) G3,

*Hafif düzeyde desmoplazi izlenen 6 olgunun 4 tanesinde (%66.7) G0, 2 tanesinde (%33.3) G2,

*Desmoplazi izlenmeyen 1 olgu (%100) G3 STAT3 ekspresyonu saptandı.

Nekroz varlığı STAT3 ekspresyonu yönünden değerlendirildiğinde;

*Nekrozu olan 17 olgunun 8 tanesinde (%47.1) G0, 2 tanesinde (%11.8) G1, 3 tanesinde (%17.6) G2, 4 tanesinde (%23.5) G3,

*Nekroz içermeyen 7 olgunun 3 tanesinde (%42.9) G0, 4 tanesinde (%57.1) G2 STAT3 pozitifliği mevcuttu.

Lenfosit infiltrasyonu derecesi ile STAT3 ekspresyonu karşılaştırıldığında;

*Yoğun lenfosit infiltrasyonu izlenen 7 olgunun 2 tanesinde (%28.6) G0, 2 tanesinde (%28.6) G1, 2 tanesinde (%28.6) G2, 1 tanesinde (%14.3) G3,

*Orta düzeyde lenfosit infiltrasyonu izlenen 5 olgunun 2 tanesinde (%40) G0, 2 tanesinde (%40) G2, 1 tanesinde (%20) G3,

*Hafif düzeyde lenfosit infiltrasyonu izlenen 9 olgunun 5 tanesinde (%55.6) G0, 2 tanesinde (%22.2) G2, 2 tanesinde (%22.2) G3,

*Lenfosit infiltrasyonu izlenmeyen 3 olgunun 2 tanesinde (%66.7) G0, 1 tanesinde (%33.3) G2 STAT3 ekspresyonu saptandı.

Tümör çapı ile STAT3 ekspresyonu değerlendirildiğinde;

*Çap değeri 1 (2cm'ye kadar) olan 9 olgunun 4 tanesinde (%44.4) G0, 3 tanesinde (%33.3) G2, 2 tanesinde (%22.2) G3,

*Çap değeri 2 (2-5cm) olan 11 olgunun 5 tanesinde (%45.5) G0, 1 tanesinde (%9.1) G1, 3 tanesinde (%27.3) G2, 2 tanesinde (%18.2) G3,

*Çap değeri 3 (5cm üzeri) olan 4 olgunun 2 tanesinde (%50) G0, 1 tanesinde (%25) G1, 1 tanesinde (%25) G2 olarak saptandı.

Tümör sınırlarının karakteri STAT3 ekspresyonu yönünden değerlendirildiğinde;

*Tümör sınırları ekspansif (0) olan 3 olgunun 1 tanesinde(%33.3) G0, 1 tanesinde (%33.3) G2, 1 tanesinde (%33.3) G3 olarak değerlendirildi.

*Tümör sınırları infiltratif (1) olan 21 olgunun 10 tanesinde (%47.6) G0, 2 tanesinde (%9.5) G1, 6 tanesinde (%28.6) G2, 3 tanesinde (%14.3) G3 olarak değerlendirildi.

Östrojen boyanma derecesi ile STAT3 ekspresyonu karşılaştırıldığında;

*Östrojen reseptörü ile boyanmayan (0) 7 olgunun 4 tanesinde (%57.1) G0, 1 tanesinde (%14.3) G1, 1 tanesinde (%14.3) G2 , 1 tanesinde (%14.3) G3,

*Östrojen reseptörü ile boyanan (1) 17 olgunun 7 tanesinde (%41.2) G0, 1 tanesinde (%5.9) G1, 6 tanesinde (%35.3) G2, 3 tanesinde (%17.6) G3 STAT3 ekspresyonu saptandı.

Progesteron boyanma derecesi ile STAT3 ekspresyonu karşılaştırıldığında;

*Progesteron reseptörü ile boyanmayan (0) 3 olgunun 2 tanesinde (%66.7) G0, 1 tanesinde (%33.3) G1,

* Progesteron reseptörü ile boyanan (1) 21 olgunun 9 tanesinde (%42.9) G0, 1 tanesinde (%4.8) G1, 7 tanesinde (%33.3) G2, 4 tanesinde (%19) G3 olarak değerlendirildi.

Cerb-B2 boyanma derecesi ile STAT3 ekspresyonu karşılaştırıldığında;

*Cerb-B2 ile boyanmayan 15 olgunun 8 tanesinde (%53.3) G0, 5 tanesinde (%33.3) G2, 2 tanesinde (%13.3) G3,

*Cerb-B2 ile hafif boyanan 2 olgunun 1 tanesinde (%50) G1, 1 tanesinde (%50) G3,

*Cerb-B2 ile orta boyanan 3 olgunun 3 tanesinde (%100) G0,

*Cerb-B2 ile yüksek boyanan 4 olgunun 1 tanesinde (%25) G1, 2 tanesinde (%50) G2, 1 tanesinde (%25) G3 STAT3 ekspresyonu mevcuttu.

STAT5a ile tümörlü olguların 10'unda STAT5a ekspresyonu görülmezken, 7 olguda G1, 4 olguda G2, 3 olguda G3 STAT5a ekspresyonu görülmüştür. STAT5a ile nontümöral meme duktus epiteli kuvvetli boyanma gösterirken mioepitel hücrelerinde boyanma görülmedi. Damar endotelinde ve lenfositlerde yaygın STAT5a pozitifliği görüldü (Resim 8).

STAT5a boyanma derecesi ve değerlendirilen parametreler Tablo 6'da özetlenmiştir.

STAT 5a ile non-tümöral meme dokusunda, lenfositlerde boyanma izlendi.

STAT 5a ekspresyonu Bloom Richardson gradelemesine göre

*Grade I olan olguların 3/7 sinde (%42.9) G0, 2/7 sinde (%28.6) G1, 1/7 sinde (%14.3) G2, 1 tanesinde (%14.3) G3,

*Grade II olan olguların 3/8 inde (%37.5) G0, 2/8 inde (%25) G1, 2/8 inde (%25) G2, 1/8 inde (%12.5) G3,

*Grade III olan olguların 4/9 unda (%44.4) G0, 3/9 unda (%33.3) G1, 1/9 unda (%11.1) G2, 1/9 unda (%11.1) G3 STAT5a ekspresyonu saptandı.

*STAT 5a ekspresyonu lenf nodu negatif olguların 4/12 sinde (%33.3) G0, 5/12 sinde (%41.7) G1, 3/12 sinde (%25) G2 olarak tesbit edildi.

* Lenf nodu pozitif olguların 6/12 sinde (%50) G0, 2/12 sinde (%16.7) G1, 1/12 sinde (%8.3) G2, 3/12 sinde (%25) G3 tesbit edildi.

Tümör stromasında desmoplastik yanıt yönünden STAT5a ekspresyonu karşılaştırıldığında;

*Yoğun desmoplazi izlenen 10 olgunun 4 tanesi (%40) G0, 5 tanesi (%50) G1, 1 tanesi (%10) G3,

*Orta düzeyde desmoplazi izlenen 7 olgunun 4 tanesi (%57.1) G0, 1 tanesi (%14.3) G2, 2 tanesi (%28.6) G3 olarak eksprese edildi.

*Hafif düzeyde desmoplazi izlenen 6 olgunun 2 tanesi (%33.3) G0, 2 tanesi (%33.3) G1, 2 tanesi (%33.3) G2 Olarak eksprese edildi.

*Desmoplazi izlenmeyen 1 olgu (%100) G2 olarak değerlendirildi.

Nekroz varlığı STA5a ekspresyonu yönünden değerlendirildiğinde;

*Nekrozu olan 17 olgunun 5 tanesinde (%29.4) G0,6 tanesinde (%35.3) G1, 3 tanesinde (%17.6) G2, 3 tanesinde (%17.6) G3,

*Nekrozu olmayan 7 olgunun 5tanesinde (%71.4) G0, 1 tanesinde (%14.3) G1, 1 tanesinde (%14.3) G2 STAT5a pozitifliği saptandı.

Lenfosit infiltrasyonu derecesi ile STAT5a ekspresyonu karşılaştırıldığında;

*Yoğun lenfosit infiltrasyonu izlenen 7 olgunun 3 tanesinde (%42.9) G0, 2 tanesinde (%28.6) G1, 1 tanesinde (%14.3) G2, 1 tanesinde (%14.3) G3,

*Orta düzeyde lenfosit infiltrasyonu izlenen 5 olgunun 2 tanesinde (%40) G0, 2 tanesinde (%40) G1, 1 tanesinde (%20) G2,

*Hafif düzeyde lenfosit infiltrasyonu izlenen 9 olgunun 3 tanesinde (%33.3) G0, 3 tanesinde (%33.3) G1, 1 tanesinde (%11.1) G2, 2 tanesinde (%22.2) G3,

*Lenfosit infiltrasyonu izlenmeyen 3 olgunun 2 tanesinde (%66.7) G0, 1 tanesinde (%33.3) G2 değerlendirildi.

Tümör çapı ile STAT5a ekspresyonu değerlendirildiğinde;

*Çap değeri 1 (2cm'ye kadar) olan 9 olgunun 4 tanesinde (%44.4) G0, 2 tanesinde (%22.2) G1, 3 tanesinde (%33.3) G2 olarak eksprese edildi.

*Çap değeri 2 (2-5cm) olan 11 olgunun 4 tanesinde (%36.4) G0, 3 tanesinde (%27.3) G1, 1 tanesinde (%9.1) G2, 3 tanesinde (%27.3) G3 olarak eksprese edildi.

*Çap değeri 3 (5cm üzeri) olan 4 olgunun 2 tanesinde (%50) G0, 2 tanesinde (%50) G1 olarak eksprese edildi.

Tümör sınırlarının karakteri STAT5a ekspresyonu yönünden değerlendirildiğinde;

*Tümör sınırları ekspansif (0) olan 3 olgunun 1 tanesinde(%33.3) G0, 1 tanesinde (%33.3) G1, 1 tanesinde (%33.3) G2,

*Tümör sınırları infiltratif (1) olan 21 olgunun 9 tanesinde (%42.9) G0, 6 tanesinde (%28.6) G1, 3 tanesinde (%14.3) G2, 3 tanesinde (%14.3) G3 boyanma mevcuttu.

Östrojen boyanma derecesi ile STAT5a ekspresyonu karşılaştırıldığında;

*Östrojen reseptörü ile boyanmayan (0) 7 olgunun 3 tanesinde (%42.9) G1, 3 tanesinde (%42.9) G2, 1 tanesinde (%14.3) G3,

*Östrojen reseptörü ile boyanan (1) 17 olgunun 10 tanesinde (%58.8) G0, 4 tanesinde (%23.5) G1, 1 tanesinde (%5.9) G2, 2 tanesinde (%11.8) G3 STAT5a pozitifliği saptandı.

Progesteron boyanma derecesi ile STAT5a ekspresyonu karşılaştırıldığında;

*Progesteron reseptörü ile boyanmayan (0) 3 olgunun 1 tanesi (%33.3) G1, 1 tanesi (%33.3) G2, 1 tanesi (%33.3) G3 olarak değerlendirildi.

* Progesteron reseptörü ile boyanan (1) 21 olgunun 10 tanesi (%47.6) G0, 6 tanesinde (%28.6) G1, 3 tanesi (%14.3) G2, 2 tanesi (%9.5) G3 olarak değerlendirildi.

Cerb-B2 boyanma derecesi ile STAT5a ekspresyonu karşılaştırıldığında;

*Cerb-B2 ile boyanmayan 15 olgunun 6 tanesinde (%40) G0, 4 tanesinde (%26.7) G1, 4 tanesinde (%26.7) G2, 1 tanesinde (%6.7) G3,

*Cerb-B2 ile hafif boyanan 2 olgunun 1 tanesinde (%50) G0, 1 tanesinde (%50) G3,

*Cerb-B2 ile orta boyanan 3 olgunun 2 tanesinde (%66.7) G0, 1 tanesinde (%33.3) G1,

*Cerb-B2 ile yüksek boyanan 4 olgunun 1 tanesinde (%25) G0, 2 tanesinde (%50) G1, 1 tanesinde (%25) G3 STAT 5a ekspresyonu saptandı.

STAT5b ile tümör hücrelerinde nükleer ve sitoplazik boyanma saptandı. Tümörlü olguların tümü STAT5b ile boyanmış olup 24 olgunun 23'ü G3, sadece biri G2 olarak değerlendirilmiştir (Resim 9). STAT5b boyanma derecesi ile tümöre ait parametrelerin karşılaştırması Tablo 7'de gösterilmiştir.

STAT 5b ekspresyonu tümör grade'i arasındaki ilişki değerlendirildiğinde;

*Grade I olan olguların 7/7 sinde (%100) G3,

*Grade II olan olguların 1/8 inde (%12.5) G2, 7/8 inde (%87.5) G3,

*Grade III olan olguların 9/9 unda (%100) G3 STAT5b pozitifliği saptandı.

*STAT5b ekspresyonu lenf nodu negatif olguların 1/12 sinde (%8.3) G2, 11/12 sinde (%91.7) G3 olarak tesbit edildi.

* Lenf nodu pozitif olguların 12/12 sinde (%100) G3 boyanma tesbit edildi.

Tümör stromasında desmoplastik yanıt yönünden STAT5b ekspresyonu değerlendirildiğinde;

*Yoğun desmoplazi izlenen 10 olgunun 10 tanesinde (%100) G3,

*Orta düzeyde desmoplazi izlenen 7 olgunun 7 tanesinde (%100) G3,

*Hafif düzeyde desmoplazi izlenen 6 olgunun 1 tanesinde (%16.7) G2, 5 tanesinde (%83.3) G3,

*Desmoplazi izlenmeyen 1 olgu (%100) G3 STAT5b ekspresyonu saptandı.

Nekroz varlığı STAT5b ekspresyonu yönünden değerlendirildiğinde;

*Nekrozu olan 17 olgunun 1 tanesinde (%5.9) G2, 16 tanesinde (%94.1) G3 boyanma mevcuttu.

*Nekrozu olmayan 7 olgunun 7 tanesinde (%100) G3 STAT5b ekspresyonu saptandı.

Lenfosit infiltrasyonu derecesi ile STAT5b ekspresyonu karşılaştırıldığında;

*Yoğun lenfosit infiltrasyonu izlenen 7 olgunun 7 tanesinde (%100) G3,

*Orta düzeyde lenfosit infiltrasyonu izlenen 5 olgunun 1 tanesinde (%20) G2, 4 tanesinde (%80) G3,

*Hafif düzeyde lenfosit infiltrasyonu izlenen 9 olgunun 9 tanesinde (%100) G3,

*Lenfosit infiltrasyonu izlenmeyen 3 olgunun 3 tanesinde (%100) G3 STAT5b ekspresyonu saptandı.

Tümör çapı ile STAT5b ekspresyonu değerlendirildiğinde;

*Çap değeri 1 (2cm'ye kadar) olan 9 olgunun 1 tanesi (%11.1) G2, 8 tanesi (%88.9) G3,

*Çap değeri 2 (2-5cm) olan 11 olgunun tamamında (%100) G3,

*Çap değeri 3 (5cm üzeri) olan 4 olgunun tamamında (%100) G3 STAT5b ekspresyonu mevcuttu.

Tümör sınırlarının karakteri STAT5b ekspresyonu yönünden değerlendirildiğinde;

*Tümör sınırları ekspansif (0) olan 3 olgunun tamamı (%100) G3 boyanma gösterdi.

*Tümör sınırları infiltratif (1) olan 21 olgunun 1 tanesinde (%4.8) G2, 20 tanesinde (%95.2) G3 STAT5b ekspresyonu mevcuttu.

Östrojen boyanma derecesi ile STAT5b ekspresyonu karşılaştırıldığında;

*Östrojen reseptörü ile boyanmayan (0) 7 olgunun 1 tanesinde (%14.3) G2, 6 tanesinde (%85.7) G3,

*Östrojen reseptörü ile boyanan (1) 17 olgunun 17 tanesinde (%100) G3 STAT5b ekspresyonu mevcuttu.

Progesteron boyanma derecesi ile STAT5b ekspresyonu karşılaştırıldığında;

*Progesteron reseptörü ile boyanmayan (0) 3 olgunun tamamı (%100) G3 olarak değerlendirildi.

* Progesteron reseptörü ile boyanan (1) 21 olgunun 1 tanesinde (%4.8) G2, 20 tanesinde (%95.2) G3 pozitiflik mevcuttu.

Cerb-B2 boyanma derecesi ile STAT5b ekspresyonu karşılaştırıldığında;

*Cerb-B2 ile boyanmayan 15 olgunun 1 tanesinde (%6.7) G2, 14 tanesinde (%93.3) G3,

*Cerb-B2 ile hafif boyanan 2 olgunun 2 tanesinde (%100) G3,

*Cerb-B2 ile orta boyanan 3 olgunun 3 tanesinde (%100) G3,

*Cerb-B2 ile yüksek boyanan 4 olgunun 4 tanesinde (%100) G3 STAT5b pozitifliği saptandı.

Ki-kare testi kullanılarak yapılan çok değişkenli analizlerde invaziv duktal karsinom tanısı alan 24 olguda histopatolojik prognostik parametreler ile immün boyama sonuçları karşılaştırıldı. Tümör grade'i, çapı, sınırları, tümör içi desmoplazi, iltihabi infiltrasyon, nekroz, aksiler lenf nodu tutulumu, östrojen, progesteron, cerb-B2 ile boyanma durumu ($p>0.05$) istatistiksel olarak anlamlı değildi. STAT 5a ve östrojen reseptör durumu ($p<0.05$) istatistiksel olarak anlamlı bulundu. HIF 2 α ve progesteron reseptör durumu ($p<0.05$) istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

(Östrojen - STAT5a = 0,035 ve Progesteron- HIF2 α = 0,047 istatistiksel sonuçları)

OLGU	LN met.	grade	desmoplazi	inflamasyon	nekroz	çap	tm sınırı	ER	PR	cerbB2	Hif1 α
1	yok	1	orta	orta	var	2	ekspansif	1	1	0	0
2	yok	3	ağır	ağır	var	2	ekspansif	1	1	3	0
3	yok	3	ağır	ağır	yok	1	infiltratif	1	1	0	0
4	yok	1	hafif	yok	yok	1	infiltratif	1	1	2	0
5	yok	3	ağır	hafif	var	2	infiltratif	0	1	2	0
6	yok	3	ağır	orta	var	3	infiltratif	1	1	0	0
7	yok	1	ağır	hafif	var	1	infiltratif	1	1	0	0
8	yok	3	yok	ağır	var	1	ekspansif	0	1	0	0
9	yok	2	hafif	orta	var	1	infiltratif	0	1	0	0
10	yok	2	hafif	yok	yok	1	infiltratif	0	1	0	0
11	yok	2	ağır	hafif	yok	2	infiltratif	1	1	0	0
12	yok	2	hafif	hafif	var	2	infiltratif	0	0	0	0
13	var	3	ağır	hafif	yok	1	infiltratif	1	1	0	0
14	var	1	hafif	hafif	yok	2	infiltratif	1	1	0	0
15	var	3	orta	hafif	var	3	infiltratif	1	1	2	0
16	var	1	orta	hafif	var	2	infiltratif	1	1	1	1
17	var	3	orta	ağır	var	2	infiltratif	1	1	3	2
18	var	2	orta	ağır	var	2	infiltratif	1	1	1	0
19	var	1	orta	orta	var	1	infiltratif	1	1	0	0
20	var	1	ağır	orta	yok	1	infiltratif	1	1	0	3
21	var	3	ağır	hafif	var	2	infiltratif	1	1	3	0
22	var	2	ağır	ağır	var	3	infiltratif	0	0	3	0
23	var	2	orta	ağır	var	2	infiltratif	0	0	0	0
24	var	2	hafif	yok	var	3	infiltratif	1	1	0	1

Tablo 1: HIF1 α 'nın boyanma şiddetinin lenf nodu metastaz varlığı, Bloom Richardson gradelemesi, lenfosit infiltrasyonu, nekroz, tümör çapı, tümör sınırları, östrojen, progesteron, CerbB2 ile ilişkisi

OLGU	LN met.	grade	desmoplazi	inflamasyon	nekroz	çap	tm sınırı	ER	PR	cerbB2	Hif2 α
1	yok	1	orta	orta	var	2	ekspansif	1	1	0	1
2	yok	3	ağır	ağır	var	2	ekspansif	1	1	3	0
3	yok	3	ağır	ağır	yok	1	infiltratif	1	1	0	2
4	yok	1	hafif	yok	yok	1	infiltratif	1	1	2	1
5	yok	3	ağır	hafif	var	2	infiltratif	0	1	2	1
6	yok	3	ağır	orta	var	3	infiltratif	1	1	0	2
7	yok	1	ağır	hafif	var	1	infiltratif	1	1	0	2
8	yok	3	yok	ağır	var	1	ekspansif	0	1	0	0
9	yok	2	hafif	orta	var	1	infiltratif	0	1	0	0
10	yok	2	hafif	yok	yok	1	infiltratif	0	1	0	2
11	yok	2	ağır	hafif	yok	2	infiltratif	1	1	0	2
12	yok	2	hafif	hafif	var	2	infiltratif	0	0	0	2
13	var	3	ağır	hafif	yok	1	infiltratif	1	1	0	0
14	var	1	hafif	hafif	yok	2	infiltratif	1	1	0	1
15	var	3	orta	hafif	var	3	infiltratif	1	1	2	2
16	var	1	orta	hafif	var	2	infiltratif	1	1	1	0
17	var	3	orta	ağır	var	2	infiltratif	1		3	0
18	var	2	orta	ağır	var	2	infiltratif	1	1	1	0
19	var	1	orta	orta	var	1	infiltratif	1	1	0	0
20	var	1	ağır	orta	yok	1	infiltratif	1	1	0	0
21	var	3	ağır	hafif	var	2	infiltratif	1	1	3	2
22	var	2	ağır	ağır	var	3	infiltratif	0	0	3	2
23	var	2	orta	ağır	var	2	infiltratif	0	0	0	2
24	var	2	hafif	yok	var	3	infiltratif	1	1	0	0

Tablo 2: HIF2 α 'nın boyanma şiddetinin lenf nodu metastaz varlığı, Bloom Richardson gradelemesi, lenfosit infiltrasyonu, nekroz, tümör çapı, tümör sınırları, östrojen, progesteron, CerbB2 ile ilişkisi

OLGU	LN met.	grade	desmoplazi	inflamasyon	nekroz	çap	tm sınırı	ER	PR	cerbB2	Stat1
1	yok	1	orta	orta	var	2	ekspansif	1	1	0	2
2	yok	3	ağır	ağır	var	2	ekspansif	1	1	3	2
3	yok	3	ağır	ağır	yok	1	infiltratif	1	1	0	1
4	yok	1	hafif	yok	yok	1	infiltratif	1	1	2	2
5	yok	3	ağır	hafif	var	2	infiltratif	0	1	2	2
6	yok	3	ağır	orta	var	3	infiltratif	1	1	0	0
7	yok	1	ağır	hafif	var	1	infiltratif	1	1	0	2
8	yok	3	yok	ağır	var	1	ekspansif	0	1	0	0
9	yok	2	hafif	orta	var	1	infiltratif	0	1	0	1
10	yok	2	hafif	yok	yok	1	infiltratif	0	1	0	1
11	yok	2	ağır	hafif	yok	2	infiltratif	1	1	0	3
12	yok	2	hafif	hafif	var	2	infiltratif	0	0	0	2
13	var	3	ağır	hafif	yok	1	infiltratif	1	1	0	0
14	var	1	hafif	hafif	yok	2	infiltratif	1	1	0	0
15	var	3	orta	hafif	var	3	infiltratif	1	1	2	3
16	var	1	orta	hafif	var	2	infiltratif	1	1	1	2
17	var	3	orta	ağır	var	2	infiltratif	1	1	3	2
18	var	2	orta	ağır	var	2	infiltratif	1	1	1	1
19	var	1	orta	orta	var	1	infiltratif	1	1	0	2
20	var	1	ağır	orta	yok	1	infiltratif	1	1	0	3
21	var	3	ağır	hafif	var	2	infiltratif	1	1	3	2
22	var	2	ağır	ağır	var	3	infiltratif	0	0	3	3
23	var	2	orta	ağır	var	2	infiltratif	0	0	0	3
24	var	2	hafif	yok	var	3	infiltratif	1	1	0	2

Tablo 3: STAT1'in boyanma şiddetinin lenf nodu metastaz varlığı, Bloom Richardson gradelemesi, lenfosit infiltrasyonu, nekroz, tümör çapı, tümör sınırları, östrojen, progesteron, CerbB2 ile ilişkisi

OLGU	LN met.	grade	desmoplazi	inflamasyon	nekroz	çap	tm sınırı	ER	PR	cerbB2	Stat2
1	yok	1	orta	orta	var	2	ekspansif	1	1	0	2
2	yok	3	ağır	ağır	var	2	ekspansif	1	1	3	1
3	yok	3	ağır	ağır	yok	1	infiltratif	1	1	0	1
4	yok	1	hafif	yok	yok	1	infiltratif	1	1	2	3
5	yok	3	ağır	hafif	var	2	infiltratif	0	1	2	3
6	yok	3	ağır	orta	var	3	infiltratif	1	1	0	2
7	yok	1	ağır	hafif	var	1	infiltratif	1	1	0	2
8	yok	3	yok	ağır	var	1	ekspansif	0	1	0	3
9	yok	2	hafif	orta	var	1	infiltratif	0	1	0	2
10	yok	2	hafif	yok	yok	1	infiltratif	0	1	0	1
11	yok	2	ağır	hafif	yok	2	infiltratif	1	1	0	2
12	yok	2	hafif	hafif	var	2	infiltratif	0	0	0	0
13	var	3	ağır	hafif	yok	1	infiltratif	1	1	0	3
14	var	1	hafif	hafif	yok	2	infiltratif	1	1	0	2
15	var	3	orta	hafif	var	3	infiltratif	1	1	2	3
16	var	1	orta	hafif	var	2	infiltratif	1	1	1	3
17	var	3	orta	ağır	var	2	infiltratif	1	1	3	3
18	var	2	orta	ağır	var	2	infiltratif	1	1	1	0
19	var	1	orta	orta	var	1	infiltratif	1	1	0	2
20	var	1	ağır	orta	yok	1	infiltratif	1	1	0	3
21	var	3	ağır	hafif	var	2	infiltratif	1	1	3	1
22	var	2	ağır	ağır	var	3	infiltratif	0	0	3	2
23	var	2	orta	ağır	var	2	infiltratif	0	0	0	1
24	var	2	hafif	yok	var	3	infiltratif	1	1	0	2

Tablo 4: STAT2'nin boyanma şiddetinin lenf nodu metastaz varlığı, Bloom Richardson gradelemesi, lenfosit infiltrasyonu, nekroz, tümör çapı, tümör sınırları, östrojen, progesteron, CerbB2 ile ilişkisi

OLGU	LN met.	grade	desmoplazi	inflamasyon	nekroz	çap	tm sınırı	ER	PR	cerbB2	stat3
1	yok	1	orta	orta	var	2	ekspansif	1	1	0	0
2	yok	3	ağır	ağır	var	2	ekspansif	1	1	3	2
3	yok	3	ağır	ağır	yok	1	infiltratif	1	1	0	0
4	yok	1	hafif	yok	yok	1	infiltratif	1	1	2	0
5	yok	3	ağır	hafif	var	2	infiltratif	0	1	2	0
6	yok	3	ağır	orta	var	3	infiltratif	1	1	0	2
7	yok	1	ağır	hafif	var	1	infiltratif	1	1	0	0
8	yok	3	yok	ağır	var	1	ekspansif	0	1	0	3
9	yok	2	hafif	orta	var	1	infiltratif	0	1	0	0
10	yok	2	hafif	yok	yok	1	infiltratif	0	1	0	2
11	yok	2	ağır	hafif	yok	2	infiltratif	1	1	0	0
12	yok	2	hafif	hafif	var	2	infiltratif	0	0	0	0
13	var	3	ağır	hafif	yok	1	infiltratif	1	1	0	2
14	var	1	hafif	hafif	yok	2	infiltratif	1	1	0	2
15	var	3	orta	hafif	var	3	infiltratif	1	1	2	0
16	var	1	orta	hafif	var	2	infiltratif	1	1	1	3
17	var	3	orta	ağır	var	2	infiltratif	1	1	3	2
18	var	2	orta	ağır	var	2	infiltratif	1	1	1	1
19	var	1	orta	orta	var	1	infiltratif	1	1	0	3
20	var	1	ağır	orta	yok	1	infiltratif	1	1	0	2
21	var	3	ağır	hafif	var	2	infiltratif	1	1	3	3
22	var	2	ağır	ağır	var	3	infiltratif	0	0	3	1
23	var	2	orta	ağır	var	2	infiltratif	0	0	0	0
24	var	2	hafif	yok	var	3	infiltratif	1	1	0	0

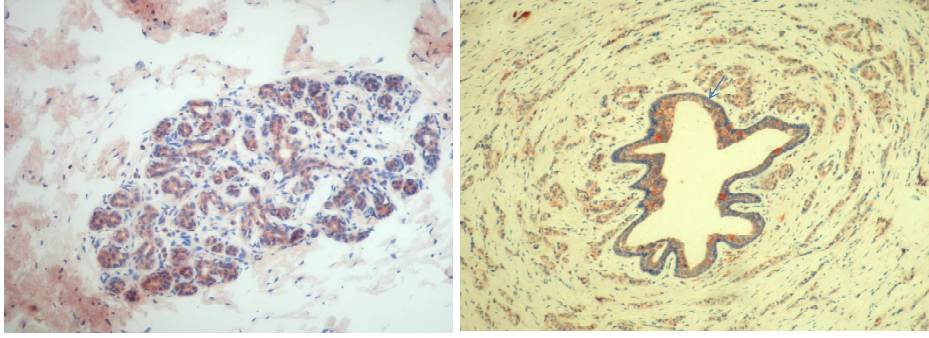
Tablo 5: STAT 3'ün boyanma şiddetinin lenf nodu metastaz varlığı, Bloom Richardson gradelemesi, lenfosit infiltrasyonu, nekroz, tümör çapı, tümör sınırları, östrojen, progesteron, CerbB2 ile ilişkisi

OLGU	LN met.	grade	desmoplazi	inflamasyon	nekroz	çap	tm sınırı	ER	PR	cerbB2	stat5a
1	yok	1	orta	orta	var	2	ekspansif	1	1	0	0
2	yok	3	ağır	ağır	var	2	ekspansif	1	1	3	1
3	yok	3	ağır	ağır	yok	1	infiltratif	1	1	0	0
4	yok	1	hafif	yok	yok	1	infiltratif	1	1	2	0
5	yok	3	ağır	hafif	var	2	infiltratif	0	1	2	1
6	yok	3	ağır	orta	var	3	infiltratif	1	1	0	1
7	yok	1	ağır	hafif	var	1	infiltratif	1	1	0	1
8	yok	3	yok	ağır	var	1	ekspansif	0	1	0	2
9	yok	2	hafif	orta	var	1	infiltratif	0	1	0	1
10	yok	2	hafif	yok	yok	1	infiltratif	0	1	0	2
11	yok	2	ağır	hafif	yok	2	infiltratif	1	1	0	0
12	yok	2	hafif	hafif	var	2	infiltratif	0	0	0	2
13	var	3	ağır	hafif	yok	1	infiltratif	1	1	0	0
14	var	1	hafif	hafif	yok	2	infiltratif	1	1	0	1
15	var	3	orta	hafif	var	3	infiltratif	1	1	2	0
16	var	1	orta	hafif	var	2	infiltratif	1	1	1	3
17	var	3	orta	ağır	var	2	infiltratif	1	1	3	0
18	var	2	orta	ağır	var	2	infiltratif	1	1	1	0
19	var	1	orta	orta	var	1	infiltratif	1	1	0	2
20	var	1	ağır	orta	yok	1	infiltratif	1	1	0	0
21	var	3	ağır	hafif	var	2	infiltratif	1	1	3	3
22	var	2	ağır	ağır	var	3	infiltratif	0	0	3	1
23	var	2	orta	ağır	var	2	infiltratif	0	0	0	3
24	var	2	hafif	yok	var	3	infiltratif	1	1	0	0

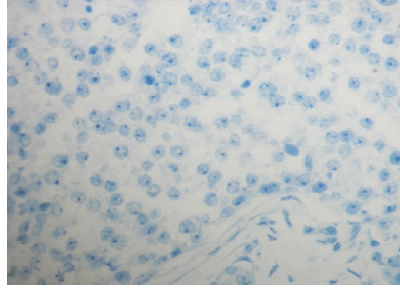
Tablo 6: STAT 5a'nın boyanma şiddetinin lenf nodu metastaz varlığı, Bloom Richardson gradelemesi, lenfosit infiltrasyonu, nekroz, tümör çapı, tümör sınırları, östrojen, progesteron, CerbB2 ile ilişkisi

OLGU	LN met.	grade	desmoplazi	inflamasyon	nekroz	çap	tm sınırı	ER	PR	cerbB2	stat5b
1	yok	1	orta	orta	var	2	ekspansif	1	1	0	3
2	yok	3	ağır	ağır	var	2	ekspansif	1	1	3	3
3	yok	3	ağır	ağır	yok	1	infiltratif	1	1	0	3
4	yok	1	hafif	yok	yok	1	infiltratif	1	1	2	3
5	yok	3	ağır	hafif	var	2	infiltratif	0	1	2	3
6	yok	3	ağır	orta	var	3	infiltratif	1	1	0	3
7	yok	1	ağır	hafif	var	1	infiltratif	1	1	0	3
8	yok	3	yok	ağır	var	1	ekspansif	0	1	0	3
9	yok	2	hafif	orta	var	1	infiltratif	0	1	0	2
10	yok	2	hafif	yok	yok	1	infiltratif	0	1	0	3
11	yok	2	ağır	hafif	yok	2	infiltratif	1	1	0	3
12	yok	2	hafif	hafif	var	2	infiltratif	0	0	0	3
13	var	3	ağır	hafif	yok	1	infiltratif	1	1	0	3
14	var	1	hafif	hafif	yok	2	infiltratif	1	1	0	3
15	var	3	orta	hafif	var	3	infiltratif	1	1	2	3
16	var	1	orta	hafif	var	2	infiltratif	1	1	1	3
17	var	3	orta	ağır	var	2	infiltratif	1	1	3	3
18	var	2	orta	ağır	var	2	infiltratif	1	1	1	3
19	var	1	orta	orta	var	1	infiltratif	1	1	0	3
20	var	1	ağır	orta	yok	1	infiltratif	1	1	0	3
21	var	3	ağır	hafif	var	2	infiltratif	1	1	3	3
22	var	2	ağır	ağır	var	3	infiltratif	0	0	3	3
23	var	2	orta	ağır	var	2	infiltratif	0	0	0	3
24	var	2	hafif	yok	var	3	infiltratif	1	1	0	3

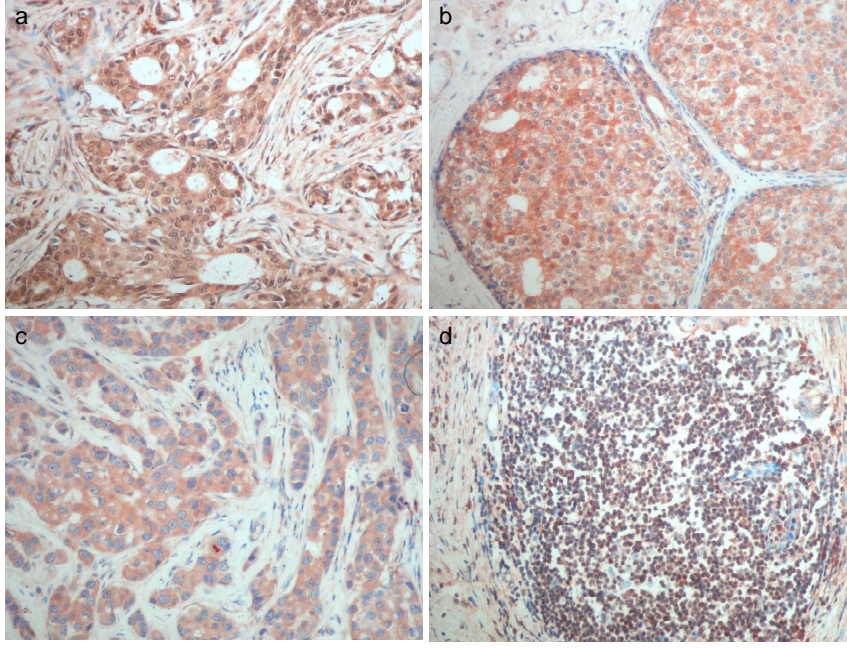
Tablo 7: STAT 5b'nin boyanma şiddetinin lenf nodu metastaz varlığı, Bloom Richardson gradelemesi, lenfosit infiltrasyonu, nekroz, tümör çapı, tümör sınırları, östrojen, progesteron, CerbB2 ile ilişkisi



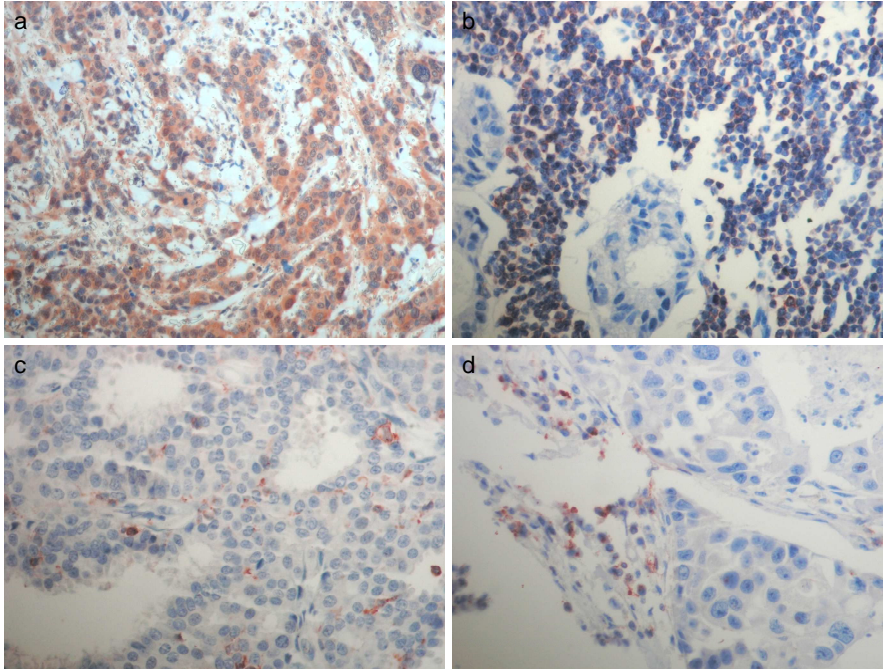
Resim 1: HIF1alfa ile tümör dışı meme dokusunda epitelde, intraduktal ve infiltratif atipik epitelde boyanma mevcut olmakla beraber myoepitel hücrelerinde HIF1alfa pozitifliği saptanmadı. Tümör dışı alanda lenfositlerde boyanma görülmedi



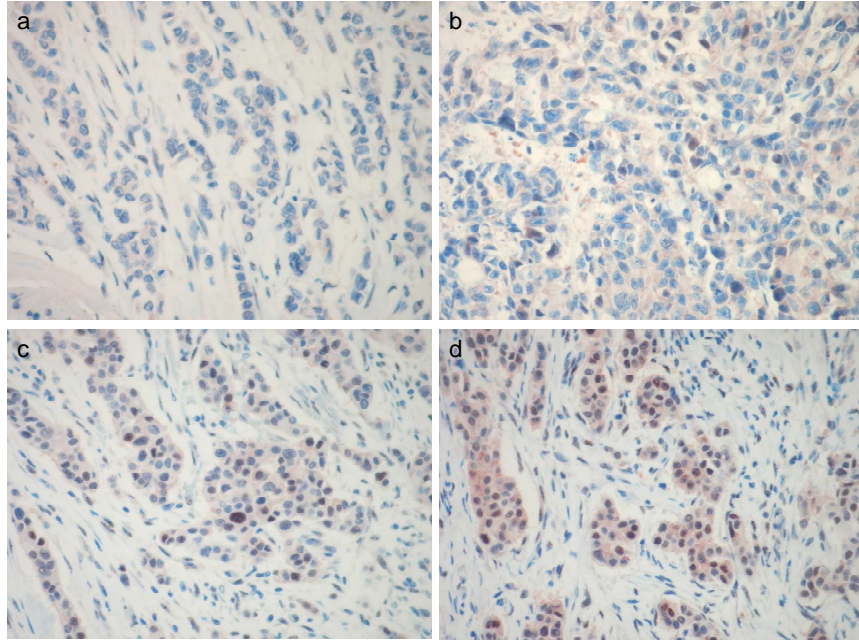
Resim 2 : HIF1 alfa ile tümör epitelinde boyanma saptanmayan (grade 0) olgu.



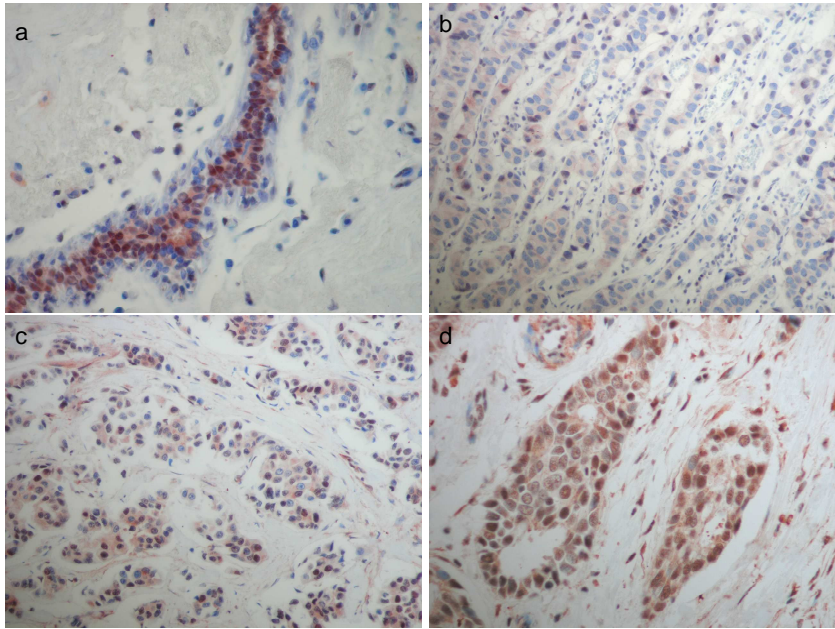
Resim 3: HIF1alfa ile nükleer pozitiflik esas alınmakla beraber pozitif boyanan tümörlerin çoğunda (a, b) hem nükleer hem de sitoplazmik boyanma mevcut olup bazı tümörlerde sadece sitoplazmik boyanma görüldü (c). Tümöre karşı gelişen lenfoid yanıtta lenfositlerde nükleer boyanma mevcuttu



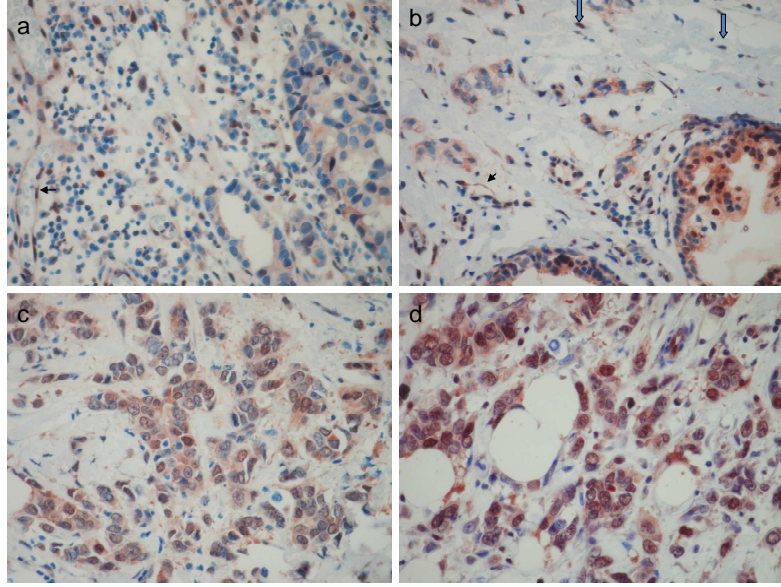
Resim 4: HIF2alfa ile epitel hücrelerinde nükleer ve sitoplazmik boyanma gösterdi, nükleer boyanma derecelendirildi (a). Tümör içindeki lenfositlerde HIF2alfa ekspres etti (b,c,d)



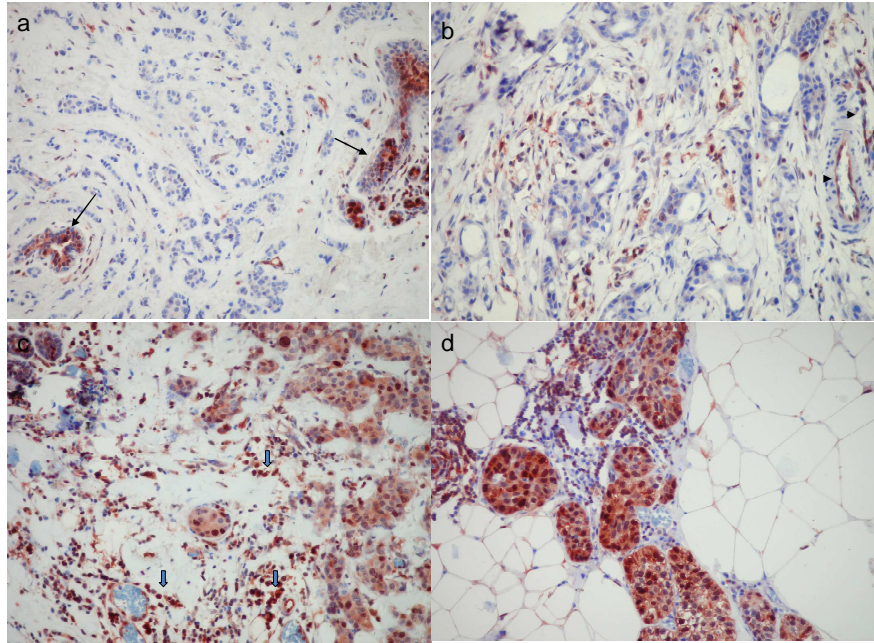
Resim 5: STAT1 ile tümörlü olguların 4/24'ünde boyanma saptanmamış (G0)(a), 4 olguda G1 (b), 11 olguda G2(c), 5 olguda G3(d) STAT1 ekspresyonu saptanmıştır.



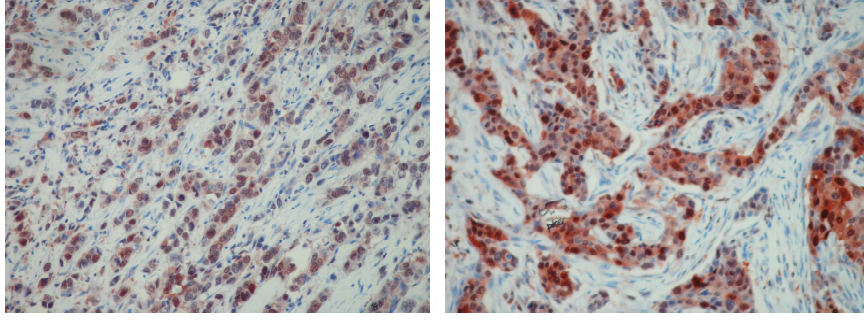
Resim 6: STAT2 ile tümör dışı dokuda glandüler epitel boyanırken myoepitelde boyanma görülmedi (a). G1 (b), G2 (c), G3 (d) STAT2 ekspresyonu nükleer olmakla beraber yeryer zayıf sitoplazmik boyanma eşlik etmektedir



Resim 7: Tümörlü olguların 11'inde G0 (a), 2'sinde G1(b), 7'sinde G2(c), 4'ünde G3(d) STAT 3 ekspresyonu saptandı. Stromada damar endoteli (kısa oklar) ve fibroblastlarda (kalın oklar) STAT3 pozitifliği saptandı.



Resim 8 : STAT 5a ile nontümöral meme duktus epiteli kuvvetli boyanma gösterirken myoepitel hücrelerinde boyanma görülmedi (uzun ok), bu resimdeki olguda tümör hücreleri STAT5a negatif (a). G1 boyanma gösteren tümör alanına komşu damar endotelinde (ok ucu) de STAT5a ekspresyonu görüldü (b). G2 değerlendirilen olgu, tümör içinde lenfositlerde STAT5a ekspresyonu yaygındı (c). G3, STAT5a ekspresyonu.



Resim 9: Tümörlü olguların 23/24'ü G3 (sağdaki resim) , 1/24'de G2 (soldaki resim) STAT5b ekspresyonu mevcuttu.

TARTIŞMA:

Kadınlarda meme karsinomları en sık görülen malign tümördür, yıllık dünya çapında 1.000.000'dan fazla kadına meme karsinomu tanısı konmaktadır. Kadınlarda karsinomlardan ölümlerde en sık nedendir (1). Meme kanseri çocukluk dönemi hariç, herhangi bir yaş grubunda görülse de, bazı familial olgular dışında 25 yaşın altında nadiren ortaya çıkmaktadır. İnsidans yaşla birlikte artış gösterir ve dördüncü dekatta 1/231 iken yedinci dekatta 1/29 olur. Meme karsinomu gelişiminde; genetik yatkınlık, fibrokistik hastalık ve hiperplazi, karşı memede tümör mevcudiyeti, radyasyona maruz kalma, coğrafyanın etkileri, menstrüal ve reproduktif dönem öyküsü, obesite, eksojen östrojen varlığı risk faktörleridir. Meme kanseri prognozunda; hasta yaşı, BRCA1 durumu, gebelik ve oral kontraseptifler; erken tanı; invazivitenin varlığı veya yokluğu, tümör boyutu, yerleşim yeri, hücresel mimari tipi, mikroskopik grade, tümör sınırları, tümör nekrozu, stromal reaksiyon, mikrodamar yoğunluğu, elastozis, keratin boyalı örnek, CEA boyalı örnek, Vimentin boyalı örnek, Katepsin D, HER2/neu, p53 ve nm23, Bcl-2, deri invazyonu, meme başı invazyonu, lenfatik tümör embolisi, kan damar embolisi, Paget hastalığı, Östrojen reseptörleri, DNA ploidy, hücre proliferasyonu, Siklin D1, telomeraz aktivitesi, aksiller lenf nodu metastazı, lenf nodu reaksiyon paterni, internal mammarian lenf nodu metastazı, lokal rekürrens, terapi tipi, gen ekspresyon profili önemlidir. Ancak yeni tedavi stratejilerinin belirlenmesi, kanser riski yüksek kişilerde kanser gelişimini önlemeye yönelik, prognoz üzerinde etkili olabilecek yeni parametreler üzerinde pek çok çalışma mevcuttur. Kanser progresyonunda kronik hipoksik basınçla sonuçlanan damarlanmanın tümör büyüme kabiliyeti ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Ancak kanser hücrelerinin hangi moleküler mekanizmalarla kronik hipoksiye yanıt verdiği tam anlaşılamamıştır. Bu amaçla son yıllarda tümör gelişimi ve yayılımı üzerinde etkili

faktörler üzerinde yapılan bu çalışmalarda pek çok tümörde yüksek düzeyde bulunan hipoksiyle indüklenen faktörlerin anaerobik enerji metabolizmasını, anjiogenezisi, hücrelerin devamlılığını ve ilaca karşı dirençte rol oynayan hedef genleri düzenleyerek tümör gelişiminde önemli rol oynadığının anlaşılması, yeni tedavi seçenekleri yönünde bu konudaki çalışmaların artmasına neden olmuştur (4,5,6). Yine transkripsiyonun sinyal transdüser ve aktivatörünün (STAT) sinyal yolları sitokinler ve büyüme faktörlerine cevap olarak aktive olur ve pek çok insan malignensisi ve tümör formasyonu STAT'ların artmış aktivasyon seviyeleri ile ilişkilidir (201, 202).

Biz çalışmamızda, 24 invaziv duktal karsinom olgusunda, HIF1 α , HIF2 α , STAT1, STAT2, STAT3, STAT5a, STAT5b'nin immunohistokimyasal ekspresyonu ile bilinen histopatolojik prognostik parametreler (tümör grade'i, çapı, sınırları, tümör içi desmoplazi, iltihabi infiltrasyon, nekroz, aksiler lenf nodu tutulumu, östrojen, progesteron, cerb-B2 ile boyanma durumu) karşılaştırdık.

Hipoksi hücrelerin yeni çevrelerine adaptasyonu için gerekli canlılığını sürdürme programının en önemli stres faktörüdür. Bu primer olarak metabolizmanın adaptasyonu ve/veya oksijen sunumunun stimülasyonunu içermektedir. Bu hücre kurtarıcı mekanizmalar, hipoksik durumlara reaksiyon veren transkripsiyon faktörü HIF1 α tarafından düzenlenebilmektedir (203). HIF1 α protein konsantrasyonu hücre oksijen konsantrasyonuna bağlıdır. Hipoksinin yanı sıra tümör süpresör genleri PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten) (204), p53 (205) kaybı ve HER-2/neu gibi onkogenlerin overekspresyonu (206) da HIF 1 düzeyini arttırabilir.

Kanser hücreleri olağan dışı mikroçevrelerde yaşamını ve proliferasyonunu sürdürebilmektedir, onkogenler ve tümör süpresör genlerde değişiklikler göstermektedir. Hızlı büyüyen solid tümörlerin gelişiminde intratümöral hipoksi belirleyicidir. Tümöral hücrelerin yaşamı ve gelişimi için hipoksik ortama adaptasyon, esas olarak hipoksi indükleyici faktör (HIF) bağımlı transkripsiyon programı ile belirlenir. Hipoksi ve HIF1 karsinogenezis ve tümörlerin klinik davranışından sorumlu tutulmaktadır. HIF1 α ve HIF2 α hipoksiye karşı tümör hücre yanıtını başlatan önemli proteinlerdir. Spesifik olarak, eritropoiesis, glikoliz ve anjiogenez ile ilişkili transkripsiyon genleri HIF1 α oranına bağlıdır (207). Gen ekspresyonu ile düzenlenen HIF'lerin major rolü anjiogenezisi arttırmak, tümörün progresyonuna neden olmak ve sonuç olarak tümörde agresif davranıştır. (208)

Anjiogenesiz daha önceden varolan damar yapılarından yeni kan damarlarının gelişimidir ve tümör büyümesinde kritik bir basamaktır. Anjiogenezis olmayan tümörler 1-2 mm³ den daha fazla büyüyemez çünkü tümör merkezindeki oksijensizlik hücre apoptozisi ve nekroza yol açmaktadır (209). İn vivo optimal tümör büyümesi ve anjiogenezis için HIF proteinlerinin gerekliliğine rağmen, bu moleküllerin overekspresyonu tümör büyümesi için zararlı gözükmemektedir. HIF proteinlerinin anjiogenik ve tümör inhibe edici düzeyleri arasındaki denge optimal tümör büyümesi için gerekli olabilir. Blancher ve arkadaşlarının 2000 yılında yaptığı çalışma insan meme kanser biyolojisi için pek çok tanımlama içermektedir. HIF1 α ve HIF2 α tarafından aktive edilen apoptozisten korunma tümörlerin agresif davranışları için önemlidir, fakat hala düzeylerindeki minimal artış tümör büyümesi için önemlidir (210). Özellikle anjiogenezi süprese etmesi ve hipoksik cevap yolu ile apoptozis arasındaki potansiyel etkileşim nedeni ile hipoksik yol inhibiyonunun teröpatik değeri olabileceğine dair önerilere rağmen, tümör hücre canlılık sürecini uzatabilir. Tümörlerde HIF1 α ve HIF2 α indüksiyonunun immünohistokimyasal değerlendirmesi hipoksiye maruz kalan tüm hücre popülasyonunun ölçümünde daha değerli olabilir. Literatürde mesane, meme, endometrial, servikal, orofarengeal ve özefajial karsinomlarını olan hastaların düşük surveyi ile HIF1 α yüksek düzeyleri arasında belirgin bağlantı vardır (208, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219). Mivake K ve arkadaşlarını 2008 yılında yaptıkları çalışma sonucunda HIF1 α 'nın pankreas tümörlerinde kötü prognozla ilişkili olduğunu saptamışlardır (220).

Meme karsinomları üzerine yapılan çeşitli çalışmalarda HIF1 α 'nın yüksek düzeylerinin daha kısa yaşam süresi ile ilişkili olduğunu belirtilmiştir (208, 221, 219).

HIF1 α artışı, meme karsinogenezisi, özellikle de düşük diferasyonlularda gözlenmektedir (222). Pek çok kanser tipinde hipoksi tedaviye zayıf yanıtla bağlantılıdır. Meme kanserinde prognoz proliferasyon oranıyla yakından ilişkilidir (223), düşük diferansasyon gösteren tümörler genellikle yüksek proliferasyon ve HIF1 α ekspresyonu göstermektedir. HIF1 α prognostik değeri, HIF1 α ile proliferasyon arasındaki sıkı bağlantı ile açıklanabilir.

Biz de çalışmamızda 24 invaziv duktal karsinom olgusunda HIF1 α ile pozitif boyanan vakaların tümünün lenf nodu pozitif, tümör sınırlarının infiltratif özellikle olduğunu tespit ettik. Yaşam süreleri sağlıklı karşılaştırılmamakla beraber sonuçlarımız literatür bulguları ile uyumlu olup, lenf nodu pozitifliği gibi tümör evresini belirlemede önemli bir parametre ile HIF1 α sunumu arasındaki ilişkinin varlığı, hasta prognozu ile HIF1 α arasındaki olumsuz ilişkiyi desteklemektedir. Ayrıca tümör sınırlarının tipi ile ilişkisi ile tümörün gelişim ve yayılım potansiyeli ile ilişkisini düşündürmektedir.

Çalışmamızda HIF1 α ekspresyonu ile tümör diferansiyasyonu arasında ilişki bulunmamıştır.

Çalışmamıza dahil edilen 24 invaziv duktal karsinom olgusunda HIF1 α ile pozitif boyanan vakaların tümünün östrojen ve progesteron reseptör pozitif olduğunu saptadık. Ancak HIF1 α ile östrojen, progesteron reseptör pozitifliği arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı. Hormon reseptörlerinin varlığı meme karsinomlu hastaların tedavi seçenekleri açısından önemli bir özelliktir. Meme kanseri sıklıkla erken östrojen reseptör (ER) pozitif evreden ER negatif evreye progrese olur. Hipoksi hücrel diferansiyasyon ve ER ekspresyonunun down-regülasyonu ile kanser progresyonunu tetikler. Daha hipoksik tümörler daha çok ER-negatif tümörlerdir. Ancak artmış östrojen ilişkili reseptör seviyeleri ER-negatif tümör statusu ile ilişkili gözükmemektedir. Östrojen- ilişkili reseptör meme karsinomunda etkin prognostik belirleyici olup artmış rekürens riski ve kötü klinik gidişle ilişkilidir. Östrojen- ilişkili reseptörün HIF ile oluşan hipoksik yanıtı arttırdığı ve bu şekilde daha malign fenotipe neden olduğu öne sürülmektedir (224). HIF ve ilişkili gen ürünlerinin tümör prognozundaki etkileri tedavi seçenekleri olarak dikkate alınmaları gerektiğini düşündürmektedir (225).

ER meme kanseri gelişim ve progresyonunda önemli rol alır. Hipoksinin ER alfa ekspresyon seviyesini etkilediği, meme kanserinde hipoksinin ER alfa'yı aktive ettiği, olası HIF1 α ve ER alfa ilişkisi savunulmaktadır (226). HIF1 α 'nın östrojen ilişkili VEGF ekspresyonunda önemli rol oynadığı yönünde sonuçlar bulunmuştur (227).

Aktive ER alfa formu kemoendokrin tedavinin sensitivitesinde bağımsız bir faktördür; ancak HIF1 α ve p 44/42 MAPK ise rezistansda bağımsız faktörlerdir. Tümör çapı, lenf nod varlığı, hasta yaşı, tümör histolojik tipi ile ilişkili bulunmamıştır (228). Çalışmamızda HIF1 α pozitif hastaların tümü lenf nodu pozitif, östrojen reseptör pozitifdir. Ancak HIF1 α ile östrojen, progesteron reseptör pozitifliği arasında anlamlı ilişki mevcut değildir. Bunun olgu sayımızın azlığına bağlı olduğunu düşünmekteyiz.

HIF2 α ile daha önce yapılan bir çalışmada memenin duktal karsinomlarının %36'sında HIF2 α ekspresyonu saptanmış (207). Biz çalışmamızda olgularımızın %58'de HIF2 α ekspresyonu saptadık. Bu çalışmada hormon reseptörleri, Cerb-B2 ile HIF2 α arasında ilişki bulunmazken lenf nodu metastazı varlığı ile anlamlı ilişki saptamışlar (207). Bizim çalışmamızda progesteron reseptör pozitif olgularda HIF2 α 'nın artmış ekspresyonu mevcut olup progesteron ve HIF2 α ilişkisi de istatistiksel olarak anlamlı idi. Lenf nodu metastazı varlığı ile anlamlı ilişki saptayamadık, bunun lenf nodu metastazlı olgularımızın azlığına bağlı olabileceğini düşünüyoruz. Cerb-B2 ekspresyonu ve diğer prognostik

parametreler ile HIF2 α arasında literatürde mevcut bulgular ile uyumlu anlamlı ilişki saptayamadık. HIF2 α 'nın etki mekanizması üzerine az sayıda çalışma mevcuttur. HIF2 α ile oluşan hipoksik yanıtta hormon reseptörlerinin, özellikle progesteron reseptörünün rol olabileceğini, bu yönde yeni çalışmaların yapılması gerektiğini düşünüyoruz.

Transkripsiyonun sinyal transdüser ve aktivatörünün (STAT) sinyal yolları sitokinler ve büyüme faktörlerine cevap olarak aktive olur (201,202). JAKs, Src ve epidermal büyüme faktörü (EGFR) STAT3'ün potansiyel arttırıcı aktivatörlerindedir (229, 230). Artan sayıda insan malignensisi ve tümör formasyonu STAT'ların artmış aktivasyon seviyeleri ile ilişkilidir, özellikle de STAT3 ve STAT5 (231, 232). STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b ve STAT6'dan oluşan STAT ailesinin major elemanı olan STAT3 hücre diferensiyasyonu ve proliferasyonda önemli rol oynamaktadır (201, 233, 234). Gen çalışmaları sonucu STAT tiplerinin özel fonksiyonları olduğu belirlenmiştir. Örnek olarak STAT1 gen delesyonu sonucu interferon cevabı ortadan kalkar (235, 236), Benzer şekilde STAT2, STAT4 ve STAT6'nın da özellikli rolleri mevcuttur (237, 238). STAT2 IFN- γ sinyalizasyonu için gerekli iken, STAT4, IL-12 sinyalizasyonunda kritiktir. STAT6 IL-4 ve IL-13'ün T ve B hücreleri üzerindeki etkilerini özellikle düzenlemektedir. STAT3'ün gen delesyonu erken embriyolojik ölümle sonuçlanır (239). STAT3 ayrıca T hücre proliferasyonu, makrofaj fonksiyonu, deri gelişimi ve meme bezi involüsyonunda önemli role sahiptir (240, 241) birlikte gen delesyonunda belirgin bir anormallik gözlenmez. Meme ve hemotopoetik hücrelerde, çalışmalar STAT3'ün onkojenik protein olarak rol aldığını göstermiştir ve kemoterapi rezistansı ile de ilgili olabilir (242, 243). STAT3 aktivasyonu, ileri derece meme kanseri ve meme karsinomu hücre sıralarında belirlenebilirken, normal meme epitel hücrelerinde gösterilememiştir (232, 244, 245). STAT3 proto-onkojen olarak sınıflandırılmıştır çünkü STAT3'ün aktive formu hücre kültürlerinde onkojenik transformasyonu etkilemiştir (231,229). Aktif STAT3 sinyalizasyonu onkogeneziste, hücre proliferasyonunu stimule ederek, anjiogenezisi arttırarak, immun kaçınmayı etkileyerek ve konvensiyonel terapilerce etkilenen apoptozise rezistans sağlayarak rol alabilir (230,246 ,247 , 242,248, 249) STAT3 meme kanserinde özellikle aktive olduğu ve kanser progresyonuna katkıda bulunduğu için meme karsinomu onkogenezisinde STAT3'ün etkilediği alt hedefleri iyi belirlemek gerekir. Günümüzde STAT3 alt hedeflerine bakıldığında apoptozis inhibitörleri (Survivin, Mcl-1, HSP27 ve Bcl-xL), hücre siklus regülatörleri (Cyclin D1, MEK5, c-Fos ve c-Myc) ve tümör anjiogenezisi aktive edicisi (VEGF) dir (242, 229, 247, 250, 251).

Buna rağmen bu alt hedeflerin pek çoğu insan meme epitel hücrelerinde ve kanser hücrelerinde gösterilememiştir, bu nedenle meme kanserinde önemli olmayabilecekleri veya STAT3'ün gerçek hedeflerinden olmayabileceği düşünülmüştür. Yapılan çalışmalarda meme kanseri dokularının %35'inin nukleuslarında STAT3 fosforilasyonu gösterilmiştir ve fosfo-STAT3 pozitif boyanması bölgesel lenf nodu metastazı ve PR ekspresyonu ile bağlantılıyken, ER ekspresyonu ile ilişki bulunmamıştır (252). Bizim olgularımızın %45'de grade 2-3 STAT3 ekspresyonu saptadık. Çalışmamıza dahil ettiğimiz parametrelerden lenf nodu metastazı varlığı ve diğer prognostik parametreler ile STAT3 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki saptayamadık. Yapılan bir diğer çalışmada artmış STAT3 fosforilasyonu veya STAT3 aktivasyonunun ER ekspresyonu ile bağlantılı olmadığı düşünülmekte, bu da STAT3'ün sadece ER negatif meme kanserlerinde aktive olacağını belirten konsepti desteklemektedir. Progesteron, PR aracılığıyla, meme hücre proliferasyonu ve diferensiyasyonu kontrolünde önemlidir (253). Meme kanser hücrelerinin progestin tedavisi STAT5 ve STAT3 protein düzeyleri, PR bağımlı yol aracılığıyla, düzenlenmektedir (254). Bu iki çalışma Fu-Chuan Hsieh ve arkadaşlarının gözlemleriyle uyumlu olarak, pozitif fosfo-STAT3 boyanmasının PR ekspresyonu ilişkili olduğu ve ER ekspresyonu ile ilişkili olmadığını göstermiştir. Bizim çalışmamızda STAT3 ile ER ve PR arasında anlamlı sonuç saptamadık ancak STAT5a ile ER arasında anlamlı bir sonuç bulduk.

Watson ve arkadaşları, 1995'te yaptıkları çalışmada STAT aktivasyonunun invaziv meme karsinomu ile ilişkili olup, benign ve in situ karsinom ile ilişkili olmadığını göstermişlerdir (244). İnvaziv meme karsinomlu 16 hastanın 15'inde EMSA yöntemi ile yapılan incelemede yüksek STAT aktivitesi bulunmuştur. Ters olarak, insitu karsinomların sadece 1 tanesinde yüksek STAT aktivitesi gözlenmiştir, düşük seviyeler fibroadenomlar ve benign lezyonlarda bulunabilir. İlginç olarak STAT1 ve en azından bazı tümörlerde, STAT3 aktive iken STAT5 sadece normal meme ve benign lezyonlarda bulunmuştur. Gary L. ve arkadaşlarının 2005 yılında STAT5a ekspresyonu ile ilgili yaptığı çalışmada nontümöral meme dokusunda, endotel hücreleri, adipositler ve lökositlerde boyanma izlenmiştir (255). Biz çalışmamızda da nontümöral meme dokusunda, lenfositlerde, fibroblastlarda boyanma saptadık. Çalışmamızda STAT2, STAT3, STAT5a ile nontümöral meme duktus epitelinde boyanma izledik.

STAT1 tümör hücrelerinde sıklıkla silinmiş olduğu için tümör süpresörü olarak düşünülmüştür. Buna rağmen Christine J.Watson'ın sonuçları aktif STAT1'in meme bezinde onkogen olarak düşündürmektedir (256). Son yaptıkları demonstrasyon STAT3

gerileyen fare meme epitelinde apopitozisin temel mediatörü olduğunu göstermektedir ve bu bağlamda paradoksal gözükmektedir. Buna rağmen, STAT3'ün uygunsuz regülasyonunun apopitozisin disregülasyonuna yol açacağı ve bunun da malignensiye predispozisyon yaratacağı düşünülebilir. Meme kanser hücrelerinin STAT3 tarafından düzenlenen apopitozise rezistansını sağlayan mekanizma ve STAT1'in meme gelişiminde normal fonksiyonunu bulmak ilgi alanına girmelidir (256).

Andreas ve arkadaşlarının 2002 yılında yaptığı çalışmada yüksek STAT 1 aktivasyonunun iyi bilinen prognoz markerları olan lenf nodu tutulumu veya catepsin D'den bağımsız olarak iyi prognozun anlamlı belirteçidir (257).

Sheen-Chen SM ve arkadaşlarının 2007 yılında STAT 1 ile meme karsinomlarında yaptığı çalışma da STAT1 ekspresyonunun yaş, östrojen reseptör durumu, histolojik grade, primer tümör stage'i, lenf nodu durumu, TNM evresi ile ilişkili olduğu da saptanamamıştır (258). Bizim çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak STAT1 ekspresyonu ile tümör grade'i, çapı, sınırları, tümör içi desmoplazi, iltihabi infiltrasyon, nekroz, aksiler lenf nodu tutulumu, östrojen, progesteron, cerb-B2 arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç saptamadık.

STAT2 interferona yanıtta, STAT1 ve IFN regülatuar faktör ailesinden p48 ile bağlanarak transaktivatör rol oynar, ancak tek başına bağlanabilme özelliği yoktur. Klinik olarak alfa ve beta interferon tedavileri meme kanserlerinin sadece bir kısmında etkili olmaktadır (259). STAT2 ile meme karsinomları ile ilgili literatürde yayınlanmış çalışma mevcut değildir. Biz çalışmamızda olguların %67'de STAT2 ile orta ve şiddetli nükleer boyanma saptadık. Bu oran STAT1 için aynıdır. Interferon ile tedavi yaklaşımı yönünde STAT1 ve STAT2'nin değerlendirilmesine yönelik daha kapsamlı çalışmaların faydalı olacağı kanısındayız.

STAT5 meme epitelinde hücre diferensiyasyonun düzenlemesini sağlar (260, 261). STAT5 dolaşımında artan prolaktin seviyesine cevap olarak gebelik ve laktasyon esnasında yüksek derecede aktive olur, ancak STAT5 aynı zamanda gebelik ve laktasyon harici dönemde de meme epitelinde bazal düzeyde devamlı olarak aktive olmaktadır (262). STAT5'in hücreler diferensiyasyonunu desteklemesi yanı sıra, meme epitel hücrelerinin yaşamı ve proliferasyonunu da stimüle eder (263). Sağlıklı insan meme epitelinde aktive olan STAT5, metastatik progresyon sırasında inaktive olur. Nevalainen ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma sonucu metastazda azalmış STAT5 aktivasyonunun, STAT5'in meme kanseri metastazını desteklemediğini gösterdiğini belirtmişlerdir. Bunun yerine aktif STAT5 insan meme kanserinde bağımsız iyi bir prognostik faktör olduğunu belirtmişlerdir

ve istatistiksel olarak anlamlı biçimde düşük ölüm oranıyla birliktelik gösterdiğini belirtmişlerdir. Özellikle de aktif STAT5 nod negatif meme kanserlerinde iyi prognoz göstergesidir. Tümör hücrelerinde normal diferensiyasyonun kaybı, tümörün lokalize, cerrahi olarak tedavi edilebilir veya metastatik hastalık haline gelmesinde önemlidir (264,265). Bunun yanında, epitelyalden mezenşimale dediferensiyasyon meme karsinomu hücrelerinin migrasyonu için gereklidir (266). Meme epitel hücresi diferensiyasyon faktörü olarak STAT5 epitelyalden mezenşimale dediferensiyasyon baskılayabilir. Güncel gözlemlere göre, primer meme kanserinde STAT5 aktivasyonunun kaybı, artmış peritümöral veya ekstrasvasküler invazyonla karakterize tümör progresyonuna yol açabilir. Datalar aynı zamanda lenf nodu metastazı varlığında, STAT5 aktivitesinin primer meme kanserindeki prognostik değerinin azaldığını belirtmişlerdir. Nevalainen ve arkadaşlarının yaptığı çalışma prospektif çalışmalarla desteklenmiş ve STAT5'in lenf nodu negatif meme kanseri hastalarında mükemmel prognoz göstergesi olduğu belirtilmiştir (267). Nevalainen ve arkadaşlarının yaptığı çalışma da STAT5a'nın iyi prognozla ilgili olduğunu belirtmişlerdir (267). Bizim çalışmamızda da STAT5a ve iyi prognostik özelliklerden olan östrojen boyanması ($p<0.05$) istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Ayrıca Nevalainen 2004 yılında yaptığı diğer bir çalışmada STAT5a'nın iyi prognoz göstergesi olan aksiler lenf nodu negatif vakalarda yüksek saptamıştır (267). Bizim çalışmamızda lenf nodu metastazı ile STAT5a arasında anlamlı ilişki saptayamadık.

Strauss ve arkadaşlarının 2006 yılında yaptığı çalışmada atipik ve malign meme duktus epitellerinde, insitu ve invaziv duktal karsinomlarda STAT5a ekspresyonunun azalmasına karşın sekretuar tipte karsinomda arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca apokrin metaplazi, müsinöz karsinom ve berrak hücreli karsinomlarda da STAT5a ekspresyonu olmadığı saptanmıştır (196). Sekretuar karsinomlarda translokasyon, t(12;15)(p13;q25) ETV6 ve NTRK3 füzyonu yoluyla tirozin kinaz ekspresyonu ile sonuçlanmaktadır. Bu ilk defa pediatrik tümörlerde saptanan transformasyon aktivitesine sahip fonksiyonel tirozinaz kinazdır. ETV6-NTRK3 onkoprotein füzyonu STAT5a ekspresyonuna neden olmaktadır. Biz çalışmamızda sekretuar karsinom ve diğer spesifik tipleri dahil etmemiştik, invaziv duktal karsinomlu vakalarında saptadığımız kuvvetli STAT5a ekspresyonu %30 olup Strauss'un çalışmasında %17 dir. Biz de çalışmamızda nontümöral duktus epitelinde yaygın STAT5a ekspresyonu saptadık. Oranlar farklı olsa da normal ve hiperplastik epitel ile karsinom hücrelerindeki STAT5a ekspresyonu karşılaştırıldığında bizim çalışmamızda da belirgin STAT5a ekspresyon kaybı dikkati çekmektedir.

STAT5'in diğer izoformu olan STAT5b'de STAT5a ile birlikte prolaktin tarafından indirekt olarak aktive edilir (268,269). Normal meme epitel hücresinde STAT5b, STAT5a'nın gen dublikasyonu sonucu ortaya çıkan STAT ailesinin bir üyesidir. Ayrıca epidermal büyüme faktör reseptör ailesinin üyeleride tirozin kinaz aktivasyonu ile STAT5a/5b'yi direkt olarak aktive edebilmektedir (269). İmmunohistokimyasal olarak STAT5b literatürde bir çalışmada incelenmiştir. Ancak Cotarla ve arkadaşlarının bu çalışmasında STAT5b sonuçları bildirilmemiştir. Biz çalışmamızda olgularımızın tümünde kuvvetli nükleer boyanma saptadık. Prognostik parametreler ile ilişki mevcut olmamakla beraber, duktal karsinomların tümünde boyanma olması tümör gelişiminde belirgin rol oynadığını düşündürmektedir.

SONUÇLAR:

Meme kanseri olgularımızda yaptığımız retrospektif çalışmada STAT1, STAT2, STAT3, STAT5a, STAT5b, HIF1 α , HIF2 α 'nın meme kanserlerinde eksprese edildiğini saptadık.

Bu ekspresyon HIF1 α 'da daha az olmakla beraber diğer tüm STAT'lar ve HIF2 α 'da yaygın olarak mevcuttu. STAT1, STAT2, STAT3, STAT5a, STAT5b, HIF1 α 'da nükleer boyanma, HIF2 α 'da sitoplazmik boyanma esas alındı.

STAT2 ile nükleer boyanmaya ek olarak bazı olgularda sitoplazmik boyanma, lenfositler ve non tümöral duktus epitelinde boyanma saptadık.

STAT3 ile damar endotelinde nontümöral duktus epitelinde, lenfositlerde, fibroblastlarda boyandığını saptadık.

STAT5a ile non-tümöral meme dokusunda, lenfositlerde boyanma izlendi.

HIF1 α ile lenfositlerde nontümöral epitelde boyanma izlendi. Olgularda nükleer boyanma dışında diffüz sitoplazmik boyanma mevcuttu.

HIF2 α ile lenfosit, miyoepitel hücreler ve damar duvarlarında da boyanma saptadık.

Ki-kare testi kullanılarak yapılan çok değişkenli analizlerde invaziv duktal karsinom tanısı alan 24 olguda histopatolojik prognostik parametreler ile immün boyama sonuçları karşılaştırdık. Tümör grade'i, çapı, sınırları, tümör içi desmoplazi, iltihabi infiltrasyon, nekroz, aksiler lenf nodu tutulumu, östrojen, progesteron, cerb-B2 ile boyanma durumu ($p>0.05$) istatistiksel olarak anlamlı değildi. STAT5a ve östrojen boyanması ($p<0.05$) istatistiksel olarak anlamlı bulundu. HIF2 α ve progesteron boyanması ($p<0.05$) istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

ÖZET:

Bu çalışmada retrospektif olarak arşiv taraması ile 2002 ve 2008 Tarihleri arasında, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalında mastektomi ve aksiller disseksiyon yapılan ve Tıbbi Patoloji Anabilim Dalında tanı almış 150 Meme karsinomu olgusu incelendi. Taranan olgulardan 24 Tanesi lenf nodu metastazların varlığı ve yokluğu dikkate alınarak incelemeye alındı. AMAÇ: STAT1, STAT2, STAT3, STAT5a, STAT5b, HIF1 α , HIF2 α 'nın meme kanserlerindeki rolünü belirlemek. METOD: 24 meme kanseri olgusunda STAT1, STAT2, STAT3, STAT5a, STAT5b, HIF1 α , HIF2 α 'nın varlığı immünohistokimyasal olarak değerlendirildi. Tümör grade'i, çapı, sınırları, tümör içi desmoplazi, iltihabi infiltrasyon, nekroz, aksiler lenf nodu tutulumu, östrojen, progesteron, cerb-B2 ile boyanma durumları arasında farklılıklar değerlendirildi. BULGULAR: STAT1, STAT2, STAT3, STAT5a, STAT5b, HIF1 α , HIF2 α 'nın meme kanserlerinde eksprese edildiğini saptadık. Lenfosit, miyoepitel hücreler, damar duvarlarında, nontümoral duktus epitelinde boyanmanın olduğunu saptadık. SONUÇLAR: Bu çalışmada meme tümörlerinde STAT1, STAT2, STAT3, STAT5a, STAT5b, HIF1 α , HIF2 α 'nın varlığı gösterilmiştir. Antikorlar formalinle fiske, parafin bloklara immünohistokimyasal olarak gösterilebilmektedir. Tümör grade'i, çapı, sınırları, tümör içi desmoplazi, iltihabi infiltrasyon, nekroz, aksiler lenf nodu tutulumu, Cerb-B2 ile boyanma durumu ile STAT ve HIF ekspresyonları arasında ($p>0.05$) istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulamadık. STAT5a ve östrojen boyanmasını ($p<0.05$) istatistiksel olarak, HIF2 α ve progesteron boyanmasını ($p<0.05$) istatistiksel olarak anlamlı bulduk. Bulgular STAT ve HIF'lerin invaziv duktal karsinomların gelişiminde rol oynayabileceğini düşündürdü, hormon reseptörleri ile ilişkisi nedeni ile gelecekte tedavi seçenekleri olarak kullanılabilmesi için yeni çalışmaların yapılması gereklidir. ANAHTAR KELİMELER: Meme karsinomu, prognostik özellikler, HIF1 α , HIF2 α , STAT1, STAT2, STAT3, STAT5a, STAT5b

SUMMARY:

This study is based on the retrospective investigation of 150 breast cancer patients who underwent mastectomy and axillary LN dissection in General Surgery and diagnosed in the Pathology department of Inonu University Medical School, during the period of 6 years, beginning from 2002 to 2008. Twenty-four of these patients were investigated according to the LN metastases.

Purpose: To investigate the expression of STAT1, STAT2, STAT3, STAT5a, STAT5b, HIF1 α , HIF2 α and their roles in prognosis of breast cancer.

Method: The expression of STAT1, STAT2, STAT3, STAT5a, STAT5b, HIF1 α , HIF2 α were analyzed using immunohistochemical staining in 24 breast cancer patient group. The data of tumor grading, size, desmoplasia, lymphoid infiltration, necrosis, axillary LN metastases, estrogen, progesterone and c-erbB2 receptor status were evaluated.

Results: We determined STAT1, STAT2, STAT3, STAT5a, STAT5b, HIF1 α , HIF2 α expression in breast cancer. The staining was determined in lymphocytes, myoepithelial cells, vascular wall, non tumor ductal epithelial cells.

Conclusion: In our study the expressions of STAT1, STAT2, STAT3, STAT5a, STAT5b, HIF1 α , HIF2 α were shown in breast cancer. The antibodies could be determined immunohistochemically in formalin fixed tissues. There was not any statistical relationship between the STAT and HIF expressions and the data of tumor grading, size, desmoplasia, lymphoid infiltration, necrosis, axillary LN metastases and the c-erbB2 status ($p > 0.05$). There were statistically significant relationships, between both STAT5a grading and estrogen receptor positivity and HIF2 α grading and progesterone receptor positivity in the invasive ductal carcinomas ($p < 0.05$). Those findings suggested that STATs and HIFs

were important in development of invasive ductal carcinomas and for their use in new the therapy strategies further studies are needed.

Key words: Breast carcinoma, prognostic features, HIF1 α , HIF2 α , STAT1, STAT2, STAT3, STAT5a, STAT5b

KAYNAKLAR

- 1) Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Estimating the world cancer burden. Globocan 2000. *Int J Cancer* 2001;94: 153-156
- 2) Sondik EJ. Breast cancer trends. Incidence, mortality, and survival. *Cancer* 1994;74: 995-999
- 3) Garfinkel L, Boring CC, Heath CW Jr. Changing trends. An overview of breast cancer incidence and mortality. *Cancer* 1994;74: 222-227
- 4) Yeo EJ, Chun YS, Park JW, et al: New Anticancer Strategies Targeting HIF-1. *Biochem. Pharmacol* 2004; 68: 1061-1069.
- 5) Maxwell PH. The HIF Pathway in Cancer, *Seminars in Cell & Developmental Biology* 2005;16:523-30.
- 6) Freeburg PB, Robert B, St John PL, Abrahamson DR: Podocyte ekspresyon of Hypoxia-inducible factor (hif)-1 and HIF-2 during glomerular development. *J Am Soc Nephrol* 2003;14(4):927-38.
- 7) Gamze Mocan Kuzey. *Temel Patoloji* 2007:705-719
- 8) Ponder B. Breast cancer genes. Searches begin and end (editorial). *Nature* 1994;371:279.
- 9) Blackwood MA, Weber BL. BRCA1 and BRCA2: from molecular genetics to clinical medicine. *J Clin Oncol* 1998;16: 1969-1977.
- 10) Futreal PA, Liu Q, Shattuck-Eidens D, Cochran C, Harshman K, Tavtigian S, Bennett LM, Haugen-Strano A, Swensen J, Miki Y, Eddington K, McClure M, Frye C, Weaver-Feldhaus J, Ding W, Gholami Z, Söderkvist P, Terry L, Jhanwar S, Berchuck A, Iglehart JD, Marks J, Ballinger DG, Barrett JC, Skolnick MH, Kamb

- A, Wiseman R. BRCA1 mutations in primary breast and ovarian carcinomas. *Science* 1994;226: 120-122.
- 11) Wooster R, Neuhausen Susan L, Mangion J, Quirk Y, Ford D, Collins N, Nguyen K, Seal S, Tran T, Averill D, Fields P, Marshall G, Narod S, Lenoir GM, Lynch H, Feunteun J, Devilee P, Cornelisse CJ, Menko FH, Daly PA, Ormiston W, McManus R, Pye C, Lewis CM, Cannon-Albright LA, Peto J, Ponder BAJ, Skolnick MH, Easton DF, Goldgar DE, Stratton MR. Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12-13. *Science* 1994;265: 2088-2090.
 - 12) Ford, D., D. F. Easton, et al. Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. The Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet* 1998;62(3):676-689.
 - 13) Thorlacius, S., J. P. Struwing, et al. Population-based study of risk of breast cancer in carriers of BRCA2 mutation. *Lancet* 1998;352(9137):1337-1339.
 - 14) Hartge, P., N. Chatterjee, et al. Breast cancer risk in Ashkenazi BRCA1/2 mutation carriers: effects of reproductive history. *Epidemiology* 2002;13(3):255-261.
 - 15) Adem C, Reynolds C, Sodenberg CL, Slezak JM, McDonnell SK, Sebo TJ, Sellers TA, Hartmann LC, Jenkins RB. Pathologic characteristics of breast parenchyma in patients with hereditary breast carcinoma, including BRCA1 and BRCA2 mutations carriers. *Cancer* 2003;97: 1-11
 - 16) Armes JE, Egan AJ, Southey MC, Dite GS, McCredie MR, Giles GG, Hopper JL, Venter DJ. The histologic phenotypes of breast carcinoma occurring before age 40 years in women with and without BRCA1 or BRCA2 germline mutations: a population- based study. *Cancer* 1998;83: 2335-2345.
 - 17) Lakhani Sr, Jacquemier J, Sloane JP, Gusterson BA, Anderson TJ, van de Vijver MJ, Farid LM, Venter D, Antoniou A, Storer-Isser A, Smyth E, Steel CM, Haites N, Scott RJ, Goldgar D, Neuhausen S, Daly PA, Ormiston W, McManus R, Scherneck S, Ponder BA, Ford D, Peto J, Stoppa-Lyonet D, Easton DF, et al. Multifactorial analysis of differences between sporadic breast cancers and cancers involving BRCA 1 and BRCA2 mutations. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:1138-1145.
 - 18) Li, F. P., J. F. Fraumeni, Jr., et al. A cancer family syndrome in twenty-four kindreds. *Cancer Res* 1988;48(18):5358-5362.

- 19) Birch, J. M., A. L. Hartley, et al. Prevalence and diversity of constitutional mutations in the p53 gene among 21 Li-Fraumeni families. *Cancer_Res* 1994;54(5):1298-1304.
- 20) Li, J., C. Yen, et al. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. *Science* 1997;275(5308):1943-1947.
- 21) Jenne, D. E., H. Reimann, et al. Peutz-Jeghers syndrome is caused by mutations in a novel serine threonine kinase. *Nat Genet* 1998;18(1):38-43.
- 22) Consensus Meeting. Oct 3 to 5, 1985, New York, Cancer Committee of the College of American Pathologists: Is 'fibrocystic disease' of the breast precancerous? *Arch Pathol Lab Med* 1986;110:171-173.
- 23) Anastassiades O, Iakovou E, Stavridou N, Gogas J, Karameris A. Multicentricity in breast cancer. A study of 366 cases. *Am J Clin Pathol* 1993;99:238-243.
- 24) Dawson PJ. What is new in our understanding of multifocal breast cancer. *Pathol Res Pract* 1993;189:11-116.
- 25) Heron DE, Komarnicky LT, Hyslop T, Schwartz GF, Mansfield CM. Bilateral breast carcinoma: risk factors and outcomes for patients with synchronous and metachronous disease. *Cancer* 2000;88:2739-2750.
- 26) Broët P, de la Rochefordière A, Scholl SM, Fourquet A, Massen V, Durand J-C, Pouillart P, Asselian B. Contralateral breast cancer. Annual incidence and risk parameters. *J Clin Oncol* 1995;13:1578-1583.
- 27) Jatoi I, Miller AB. Why is breast-cancer mortality declining? *Lancet Oncol* 2003;4:251-254.
- 28) Peto R, Boreham J, Clarke M, Davies C, Beral V. UK and USA breast cancer deaths down 25% in year 2000 at ages 20-69 years. *Lancet* 2000;355:1822.
- 29) Parkin DM, Bray FI, Devesa SS. Cancer burden in the year 2000. the global Picture. *Eur J Cancer* 2001;37:S4-66.
- 30) Kelsey JL, Gammon MD, John EM. Reproductive factors and breast cancer. *Epidemiol Rev* 1993;15:36-47.
- 31) Pathak DR, Osuch JR, He J. Breast carcinoma etiology: current knowledge and new insight into the effects of reproductive and hormonal risk factors in black and white populations. *Cancer* 2000;88:1230-1238.
- 32) Chen CL, Weiss NS, Newcomb P, Barlow W, White E. Hormone replacement therapy in relation to breast cancer. *JAMA* 2002;287:734-741.

- 33)** Clemons M, Goss P. Estrogen and the risk of breast cancer. *N Engl J Med* 2001;344:276-285.
- 34)** Boyle, C. A., G. S. Berkowitz, et al. (1984). Caffeine consumption and fibrocystic breast disease: a case-control epidemiologic study. *J Natl Cancer Inst* 1984;72(5):1015-1019.
- 35)** Hislop, T. G., P. R. Band, et al. Diet and histologic types of benign breast disease defined by subsequent risk of breast cancer. *Am J Epidemiol* 1990;131(2): 263-270.
- 36)** Brisson, J., R. Verreault, et al. (1989). "Diet, mammographic features of breast tissue, and breast cancer risk." *Am J Epidemiol* 130(1): 14-24.
- 37)** Regitnig P, Heckermann H, Moser R, et al. Molecular genetic comparison of primary and recurrent breast carcinoma? Significant increase of loss of heterozygosity (LOH) in the recurrence and specific LOH associated with early recurrence. *Mod Pathol* 2000;13:45A.
- 38)** Rosen's Breast Pathology Third Edition, Paul Peter Rosen, Wolter Kluwer, Lipincott Williams and Wilkins, Philadelphia, Baltimore, New York, London, 2009. Invasive Duct Carcinoma: Assessment of prognosis, morphologic prognostic markerd and tumor growth grade, Chapter 12,Sf 360.
- 39)** Bloom HJG, Richardson WW. Histological grading and prognosis in breast cancer. A study of 1409 cases of which 359 have been followed for 15 years. *Br J Cancer* 1957;11:359-377.
- 40)** Fisher ER, Costantino J, Fisher B, Redmond C. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Project (Protocol 4). Discriminanats for 15-year survival. National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Investigators. *Cancer* 1993;71:2141-2150.
- 41)** Fisher ER, Redmond C, Fisher B, Bass G. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Projects (NSABP). Prognostic discriminants for 8-year survival for node-negative invasive breast cancer patients. *Cancer* 1990;65:2121-2128.
- 42)** Mansour EG, Ravdin PM, Dressler L. Prognostic factors in early breast carcinoma. *Cancer* 1994;74:381-400.
- 43)** Mori I, Yang Q, Kukudo K. Predictive and prognostic markers for invasive breast cancer. *Pathol Int* 2002;52:186-194.

- 44) Rosen PP, Groshen S, Kinne DW, Norton L. Factors influencing prognosis in node-negative breast carcinoma. Analysis of 767 T1N0M0/T2N0M0 patients with long-term follow-up. *J Clin Oncol* 1993;11:2090-2100.
- 45) Simpson J, Page D. Prognostic value of histopathology in the breast. *Semin Oncol* 1992;19:254-262.
- 46) Simpson JF, Page DL. Status of breast cancer prognostication based on histopathologic data. *Am J Clin Pathol* 1994;102:S3-S8.
- 47) Wold LE, Ingle JN, Pisansky TM, Johnson RE, Donohue JH. Prognostic factors for patients with carcinoma of the breast. *Mayo Clin Proc* 1995;70:678-679.
- 48) Adami H-O, Malaker B, Holmberg L, Persson I, Stone B. The relation between survival and age at diagnosis in breast cancer. *N Engl J Med* 1986;315:559-563.
- 49) Rosen PP, Lesser ML, Kinne DW, Beattie EJ. Breast carcinoma in women 35 years of age or younger. *Ann Surg* 1984;199:133-142.
- 50) Nixon AJ, Neuberg D, Hayes DF, Gelman R, Connolly JL, Schnitt S, Abner A, Recht A, Vicini F, Harris JR. Relationship of patient age to pathologic features of the tumor and prognosis for patients with stage I or II breast cancer. *J Clin Oncol* 1994;12:888-894.
- 51) Bertheau P, Steinberg SM, Cowan K, Merino MJ. Breast cancer in young women: clinicopathologic correlation. *Semin Diagn Pathol* 1995;16:248-256.
- 52) Chung M, Chang HR, Bland KI, Wanebo HJ. Younger women with breast carcinoma have a poorer prognosis than older women. *Cancer* 1996;77:97-103.
- 53) Goffin JR, Chappuis PO, Begin LE, Wong N, Brunet JS, Hamel N, Paradis AJ, Boyd J, Foulkes WD. Impact of germline BRCA1 mutations and overexpression of p53 on prognosis and response to treatment following breast carcinoma: 10-year follow-up data. *Cancer* 2003;97:527-536.
- 54) Robson M. Are BRCA1- and BRCA2-associated breast cancers different? Prognosis of BRCA1-associated breast cancer. *J Clin Oncol* 2000;18:113S-118S.
- 55) Reed W, Sandstad B, Holm R, Nesland JM. The prognostic impact of hormone receptors and c-erbB-2 in pregnancy-associated breast cancer and their correlation with BRCA1 and cell cycle modulators. *Int J Surg Pathol* 2003;11:485-488.
- 56) Peters MV. The effect of pregnancy on breast cancer. In Forrest APM, Kunkler PB (eds): *Prognostic factors in breast carcinoma*. Baltimore, 1968, Williams and Wilkins.

- 57) Gallenberg MM, Loprinzi CL. Breast cancer and pregnancy. *Semin Oncol* 1989;16:369-376.
- 58) Petrek JA, Dukoff R, Rogatko A. Prognosis of pregnancy-associated breast cancer. *Cancer* 1991;67:869-872.
- 59) Rosner D, Lane WW. Oral contraceptive use has no adverse effect on the prognosis of breast cancer. *Cancer* 1986;57:591-596.
- 60) Seidman H, Gelb SK, Silverberg E, La Verda N, Lubera JA. Survival experience in the breast cancer detection demonstration project. *CA Cancer J Clin* 1987;37:258-290.
- 61) Lagios MD, Westdahl PR, Margolin FR, Rose MR. Duct carcinoma in situ. Relationship of extent of noninvasive disease to the frequency of occult invasion, multicentricity, lymph node metastases, and short-term treatment failures. *Cancer* 1982;50:1309-1314.
- 62) Lash RH, Bauer TW, Medendorp SV. Prognostic significance of the proportion of intraductal and infiltrating ductal carcinoma in women treated by partial mastectomy. *Surg Pathol* 1990;3:47-58.
- 63) Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer* 1989;63:181-187.
- 64) Russo J, Frederick J, Ownby HE, Fine G, Hussain M, Kirckstein HI, Robbins TO, Rosenberg B. Predictors of recurrence and survival of patients with breast cancer. *Am J Clin Pathol* 1987;88:123-131.
- 65) Quiet CA, Ferguson DJ, Weichselbaum RR, Hellman S. Natural history of node-negative breast cancer. A study of 826 patients with long-term follow-up. *J Clin Oncol* 1995;13:1144-1151.
- 66) Seidman JD, Schnaper LA, Aisner SC. Relationship of the size of the invasive component of the primary breast carcinoma to axillary lymph node metastasis. *Cancer* 1995;75:65-71.
- 67) Abner AL, Collins L, Peiro G, Recht A, Come S, Shulman LN, Silver B, Nixon A, Haris JR, Schnitt SJ, Connolly JL. Correlation of tumor size and axillary lymph node involvement with prognosis in patients with T1 breast carcinoma. *Cancer* 1998;83:2502-2508.
- 68) Saigo P, Rosen PP. Prognostic factors in invasive mammary carcinomas 1.0 cm or less in diameter (abstract). *Am J Clin Pathol* 1980;73:303-304.

- 69)** Lohrisch C, Jackson J, Jones A, Mates D, Olivotto IA. Relationship between tumor location and relapse in 6781 women with early invasive breast cancer. *J Clin Oncol* 2000;18:2828-2835.
- 70)** Dawson PJ, Ferguson DJ, Karrison T. The pathologic findings of breast cancer in patients surviving 25 years after radical mastectomy. *Cancer* 1982;50:2131-2138.
- 71)** Kister SJ, Sommers SC, Haagensen CD, Cooley E. Re-evaluation of blood vessel invasion as a prognostic factor in carcinoma of the breast. *Cancer* 1966;19:1213-1216.
- 72)** Page DL. Special types of invasive breast cancer, with clinical implications. *Am J Surg Pathol* 2003;27:832-835.
- 73)** Miremadi A, Pinder SE, Lee AHS, Bell JA, Paish EC, Wencky P, Elston CW, Nicholson RI, Blamey RW, Robertson JF, Ellis IO. Neuroendocrine differentiation and prognosis in breast adenocarcinoma. *Histopathology* 2002;40:215-222.
- 74)** Bloom HJG, Richardson WW. Histological grading and prognosis in breast cancer. A study of 1409 cases of which 359 have been followed for 15 years. *Br J Cancer* 1957;11:359-377.
- 75)** Black MM, Barclay THC, Hankey BF. Prognosis in breast cancer utilizing histologic characteristics of the primary tumor. *Cancer* 1975;36:2048-2055.
- 76)** Baak JPA, Kurver PHJ, de Snoo-Niewlaat AJE, de Graef S, Makkink B, Boon ME. Prognostic indicators in breast cancer. Morphometric methods. *Histopathology* 1982;6:327-339.
- 77)** Baak JPA, Van Dop H, Kurver PHJ, Hermans J. The value of morphometry to classic prognosticators in breast cancer. *Cancer* 1985;56:374-382.
- 78)** Pienta KJ, Coffey DS. Correlation of nuclear morphometry with progression of breast cancer. *Cancer* 1991;68:2012-2016.
- 79)** van Diest PJ, Baak JP. The morphometric prognostic index is the strongest prognosticator in premenopausal lymph node-negative and lymph node-positive breast cancer patients. *Hum Pathol* 1991;22:326-330.
- 80)** Davis BW, Gelber RD, Goldhirsch A, Hartman WH, Locher GW, Reed R, Golouh R, Save-Soderbergh J, Holloway L, Russell I, Rudenstam CM. Prognostic significance of tumor grade in clinical trials of adjuvant therapy for breast cancer with axillary lymph node metastasis. *Cancer* 1986;58:2662-2670.
- 81)** Lash RH, Bauer TW, Hermann RE, Esselstyn CB. Partial mastectomy. Pathologic findings and prognosis. *Hum Pathol* 1986;17:813-822.

- 82)** Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grades in breast cancer. Experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1991;19:403-410.
- 83)** Frierson HF Jr, Wolber RA, Berean KW, Franquemont DW, Gaffey MJ, Boyd JC, Wilbur DC. Interobserver reproducibility of the Nottingham modification of the Bloom and Richardson histologic grading scheme for infiltrating ductal carcinoma. *Am J Clin Pathol* 1995;103:195-198.
- 84)** Page DL, Ellis IO, Elston CW. Histologic grading of breast cancer. Let's do it (editorial). *Am J Clin Pathol* 1995;103:123-124.
- 85)** Bane AL, Parkers R, Tjan S, O'Malley FP. Invasive lobular carcinoma: to grade or not to grade (Abstract). *Mod Pathol* 2003;16:23a.
- 86)** Carter D, Pipkin RD, Shepard RH, Elkins RC, Abbey H. Relationship of necrosis and tumor border to lymph node metastases and 10-year survival in carcinoma of the breast. *Am J Surg Pathol* 1978;2:39-46.
- 87)** Hultborn KA, Tornberg B. Mammary carcinoma. The biologic character of mammary carcinoma studied in 517 cases by a new form of malignancy grading. *Acta Radiol (Stockh)* 1960;196:1-143.
- 88)** Kouchoukos NT, Ackerman LV, Butcher HR Jr. Prediction of axillary nodal metastases from the morphology of primary mammary carcinomas. A guide to operative therapy. *Cancer* 1967;20:948-960.
- 89)** Bauer TW, O'Ceallaigh D, Eggleston JC, Moore GW, Baker RR. Prognostic factors in patients with stage I, estrogen receptor-negative carcinoma of the breast. A clinicopathologic study. *Cancer* 1983;52:1423-1431.
- 90)** Gilchrist KW, Gray R, Fowble B, Tormey DC, Taylor SG 4th. Tumor necrosis is a prognostic predictor for early recurrence and death in lymph node-positive breast cancer. A 10-year follow-up study of 728 Eastern Cooperative Oncology Group patients. *J Clin Oncol* 1993;11:1929-1935.
- 91)** Mate TP, Carter D, Fischer DB, Hartmann PV, McKhann C, Merino M, Prosnitz LR, Weissberg JB. A clinical and histopathologic analysis of the results of conservation surgery and radiation therapy in stage I and II breast carcinoma. *Cancer* 1986;58:1995-2002.
- 92)** Jimenez RE, Wallis T, Visscher DW. Centrally necrotizing carcinomas of the breast: a distinct histologic subtype with aggressive clinical behaviour. *Am J Surg Pathol* 2001;25:331-337.

- 93) Fisher ER, Kotwal N, Hermann C, Fisher B. Types of tumor lymphoid response and sinus histiocytosis. *Arch Pathol Lab Med* 1983;107:222-227.
- 94) Weidner N. Tumor angiogenesis. Review of current applications in tumor prognostication. *Semin Diagn Pathol* 1993;10:302-313.
- 95) Weidner N. Intratumor microvessel density as a prognostic factor in cancer. *Am J Pathol* 1995;147:9-19.
- 96) Weidner N, Folkman J, Pozza F, Bevilacqua P, Allred EN, Moore DH, Meli S, Gasparini G. Tumor angiogenesis. A new significant and independent prognostic indicator in early-stage breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1992;84:1875-1887.
- 97) Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis-correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1991;324:1-8.
- 98) Axelsson K, Ljung B-M, Moore DH II, Tuhor AD, Chew KL, Edgerton SM, Smith HS, Mayall BH. Tumor angiogenesis as a prognostic assay for invasive ductal breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1995;87:997-1008.
- 99) Page DL, Dupont WD. Breast cancer angiogenesis. Through a narrow window. *JNCI* 1992;84:1850-1851.
- 100) Siitonen SM, Haapasalo HK, Rantala IS, Helin HJ, Isola JJ. Comparison of different immunohistochemical methods in the assessment of angiogenesis. Lack of prognostic value in a group of 77 selected node-negative breast carcinomas. *Mod Pathol* 1995;8:745-752.
- 101) Vartanian RK, Weidner N. Correlation of intratumoral endothelial cell proliferation with microvessel density (tumor angiogenesis) and tumor cell proliferation in breast carcinoma. *Am J Pathol* 1994;144:1188-1194.
- 102) Guidi AJ, Fischer L, Haris JR, Schnitt SJ. Microvessel density and distribution in ductal carcinoma in situ of the breast. *J Natl Cancer Inst* 1994;86:614-619.
- 103) Masters JRW, Millis RR, King RJB, Rubens RD. Elastosis and response to endocrine therapy in human breast cancer. *Br J Cancer* 1979;39:536-539.
- 104) Bogomoletz WV. Elastosis in breast cancer. *Pathol Annu* 1986;21(Pt 2):345-366.
- 105) Glaubitz LC, Bowen JH, Cox EB, McCarty KS Jr. Elastosis in human breast cancer. Correlation with sex steroid receptors and comparison with clinical outcome. *Arch Pathol Lab Med* 1984;108:27-30.
- 106) van de Rijn M, Perou CM, Tibshirani R, Haas P, Kallioniemi O, Kononen J, Torhorst J, Sauter G, Zuber M, Kochli OR, Mross F, Dieterich H, Seitz R, Ross

- D, Botstein D, Brown P. Expression of cytokeratins 17 and 5 identifies a group of breast carcinomas with poor clinical outcome. *Am J Pathol* 2002;161:1991-1996.
- 107)** van der Linden JC, Baak JPA, Lindeman J, Smeulders AWM, Meyer CJLM. Carcinoembryonic antigen expression and peanut agglutinin binding in primary breast cancer and lymph node metastases. Lack of correlation with clinical, histopathological, biochemical and morphometric features. *Histopathology* 1985;9:1051-1059.
- 108)** Domagala W, Lasota J, Dukowicz A, Markiewski M, Striker G, Weber K, Osborn M. Vimentin expression appears to be associated with poor prognosis in node-negative ductal NOS breast carcinomas. *Am J Pathol* 1990;137:1299-1304.
- 109)** Tandon AK, Clark GM, Chamness GC, Chirgwin JM, McGuire WL. Cathepsin D and prognosis in breast cancer. *N Engl J Med* 1990;322:297-302.
- 110)** Armas OA, Gerald WL, Lesser ML, Arroyo CD, Norton L, Rosen PP. Immunohistochemical detection of cathepsin D in T2N0M0 breast carcinoma. *Am J Surg Pathol* 1994;18:158-156.
- 111)** 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;141:1003-1012.
- 112)** Kandalaf PL, Chang KL, Ahn CW, Traweek ST, Mehta P, Battifora H. Prognostic significance of immunohistochemical analysis of cathepsin D in low grade breast cancer. *Cancer* 1993;71:2756-2763.
- 113)** Lah TT, Kalman E, Najjar D, Gorodetsky E, Brennan P, Somers R, Daskal I. Cells producing cathepsin D, B and L in human breast carcinoma and their association with prognosis. *Hum Pathol* 2000;31:149-160.
- 114)** Ravdin PM, Tandon AK, Allred DC, Clark GM, Fuqua SA, Hilsenbeck SH, Chamness GC, Osborn CK. Cathepsin D by Western blotting and immunohistochemistry. Failure to confirm correlations with prognosis in node-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 1994;12:467-474.
- 115)** Sahin AA, Sneige N, Ordonez NG, Singletary SE, Ro JY, El Naggar AK, Ayala AG. Immunohistochemical assessment of cathepsin D in stages I and II node-negative breast cancer. *Appl Immunohistochem* 1994;2:15-21
- 116)** Muss HB, Thor AD, Berry DA, Kute T, Liu ET, Koerner F, Cirrincione CT, Budman DR, Wood WC, Barcos M, et al. *c-erbB-2* expression and response to

- adjuvant therapy in women with node-positive early breast cancer. *N Engl J Med* 1994;330:1260-1266.
- 117) Tsuda H, Hirohashi S, Shimosato Y, Hirota T, Tsugane S, Watanabe S, Terada M, Yamamoto H. Correlation between histologic grade of malignancy and copy number of *c-erbB-2* gene in breast carcinoma. A retrospective analysis of 176 cases. *Cancer* 1990;65:1794-1800.
 - 118) Baak JP, Chin D, van Diest PJ, Ortiz R, Matze-Cok P, Bacus SS. Comparative long-term prognostic value of quantitative HER-2/neu protein expression, DNA ploidy, and morphometric and clinical features in paraffin-embedded invasive breast cancer. *Lab Invest* 1991;64:215-223.
 - 119) Rosen PP, Lesser ML, Arroyo CD, Cranor M, Borgen P, Norton L. Immunohistochemical detection of HER2/neu in patients with axillary lymph node-negative breast carcinoma. A study of epidemiologic risk factors, histologic features, and prognosis. *Cancer* 1995;75:1320-1326.
 - 120) Barbareschi M. Prognostic value of the immunohistochemical expression of p53 in breast carcinomas: a review of the literature involving over 9,000 patients. *Appl Immunohistochem* 1996;4:106-116.
 - 121) Barnes DM, Dublin EA, Fisher CJ, Levison DA, Milis RR. Immunohistochemical detection of p53 protein in mammary carcinoma. An important new independent indicator of prognosis? *Hum Pathol* 1993;24:469-476.
 - 122) Barnes R, Masood S, Barker E, Rosengard AM, Coggin DL, Crowell T, King CR, Porter-Jordan K, Wargotz ES, Liotta LA, et al. low nm23 protein expression in infiltrating ductal breast carcinomas correlates with reduced patient survival. *Am J Pathol* 1991;139:245-250.
 - 123) Hurlimann J. Prognostic value of p53 protein expression in breast carcinomas. *Pathol Res Pract* 1993;189:996-1003.
 - 124) Rosen PP, Lesser ML, Arroyo CD, Cranor M, Borgen P, Norton L. p53 in node-negative breast carcinoma. An immunohistochemical study of epidemiologic risk factors, histologic features, and prognosis. *J Clin Oncol* 1995;13:821-830.
 - 125) Reed W, Hannidal E, Boehler PJ, Gunderson S, Host H, Marthin J. The prognostic value of p53 and *c-erb B-2* immunostaining is overrated for patients with lymph node negative breast carcinoma: a multivariate analysis of prognostic factors in 613 patients with a follow-up of 14-30 years. *Cancer* 2000;88:804-813.

- 126)** Otis CN, Krebs PA, Albuquerque A, Quezado MM, San Juan X, Sobel ME, Merino MJ. Loss of heterozygosity of p53, BRCA1, VHL, and estrogen receptor genes in breast carcinoma: correlation with related protein products and morphologic features. *Int Surg Pathol* 2002;10:237-245.
- 127)** Hurlimann J, Larrinaga B, Vala DLM: bcl-2 protein in invasive ductal breast carcinomas. *Virchows Archiv* 1995;426:163-168.
- 128)** Doglioni C, Dei Tos AP, Laurino L, Chiarelli C, Barbareschi M, Viale G. The prevalence of BCL-w immunoreactivity in breast carcinomas and its clinicopathological correlates with particular reference to oestrogen receptor status. *Virchow Arch* 1994;424:47-52.
- 129)** Joensuu H, Pylkkanen L, Toikkanen S. Bcl-2 protein expression and long-term survival in breast cancer. *Am J Pathol* 1994;145:1191-1198.
- 130)** Sears HF, Janus C, Levy W, Hopson R, Creech R, Grotzinger P. Breast cancer without axillary metastases. Are there high-risk biologic subpopulations? *Cancer* 1982;50:1820-1827.
- 131)** Weirtheim U, Ozzello L. Neoplastic involvement of nipple and skin flap in carcinoma of the breast. *Am J Surg Pathol* 1980;4:543-549.
- 132)** Davis BW, Gelber R, Goldhirsch A, Hartmann WH, Hollaway L, Russell I, Rudensta CM. Prognostic significance of peritumoral vessel invasion in clinical trials of adjuvant therapy for breast cancer with axillary lymph node metastasis. *Hum Pathol* 1985;16:1212-1218.
- 133)** Nime FA, Rosen PP, Thaler HT, Ashikari R, Urban JA. Prognostic significance of tumor emboli in intramammary lymphatics in patients with mammary carcinoma. *Am J Surg Pathol* 1977;1:25-30.
- 134)** Roses DF, Bell DA, Flotte TJ, Taylor R, Ratech H, Dubin N. Pathologic predictors of recurrence in stage 1 (T1N0M0) breast cancer. *Am J Clin Pathol* 1982;78:817-820.
- 135)** Breast Cancer Study Group. Identification of breast cancer patients with high risk of early recurrence after radical mastectomy. II. Clinical and pathologic correlations. *Cancer* 1978;42:2809-2826.
- 136)** Fisher ER, Anderson S, Tan-Chiu E, Fisher B, Eaton L, Wolmark N. Fifteen-year prognostic discriminants for invasive breast carcinoma: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol-06. *Cancer* 2001;91:1679-1688.

- 137)** Lee AKC, DeLellis RA, Silverman ML, Wolfe HJ. Lymphatic and blood vessel invasion in breast carcinoma. A useful prognostic indicator? *Hum Pathol* 1986;17:984-987.
- 138)** Pinder SE, Ellis IO, Galea M, O'Rourke S, Blamey RW, Elston CW. Pathological prognostic factors in breast cancer. III. Vascular invasion. Relationship with recurrence and survival in a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1994;24:41-47.
- 139)** Aamdal S, Bormer O, Jorgensen O, Host H, Eliassen G, Kaalhus O, Pihl A. Estrogen receptors and long-term prognosis in breast cancer. *Cancer* 1984;53:2525-2529.
- 140)** Butler JA, Bretsky S, Menendez-Botet C, Kine DW. Estrogen receptor protein of breast cancer as a predictor of recurrence. *Cancer* 1985;55:1178-1181.
- 141)** Hilf R, Feldtein ML, Gibson SL, Savlov ED. The relative importance of estrogen receptor analysis as a prognostic factor for recurrence or response to chemotherapy in women with breast cancer. *Cancer* 1980;45:1993-2000.
- 142)** Auer G, Eriksson E, Azavedo E, Caspersson T, Wallgren A. Prognostic significance of nuclear DNA content in mammary adenocarcinomas in humans. *Cancer Res* 1984;44:394-396.
- 143)** Bergers E, Baak JP, Van Diest PJ, Willig AJ, Los J, Peterse JL, Ruitenberg HM, Schapers RF, Somsen JG, van Beek MW, Bellot SM, Fijnheer J, van Gorp LH. Prognostic value of DNA ploidy using flow cytometry in 1301 breast cancer patients: results of the prospective multicenter morphometric mammary carcinoma project. *Mod Pathol* 1997;10:762-768.
- 144)** Frierson Hf Jr. Ploidy analysis and S-phase fraction determination by flow cytometry of invasive adenocarcinomas of the breast. *Am J Surg Pathol* 1991;15:358-367.
- 145)** Keyhani-Rofagha S, O'Toole RV, Farrar WB, Sickie-Santanello B, De Cenzo J, Young D. Is DNA ploidy an independent prognostic indicator in infiltrative node-negative breast adenocarcinoma? *Cancer* 1960;65:1577-1582.
- 146)** Mambo NC, Gallager HS. Carcinoma of the breast. The prognostic significance of extranodal extension of axillary disease. *Cancer* 1977;39:2280-2285.
- 147)** Toikkanen S, Joensuu H, Klemi P. Nuclear DNA content as a prognostic factor in T1-2N0 breast cancer. *Am J Clin Pathol* 1990;93:471-479.

- 148) Witzig TE, Gonchoroff NJ, Therneau T, Gilbertson DT, Wold LE, Grant C, Grande J, Katzmann JA, Ahmann DL, Ingle JN. DNA content flow cytometry as a prognostic factor for node-positive breast cancer. The role of multiparameter ploidy analysis and specimen sonication. *Cancer* 1991;68:1781-1788.
- 149) Biesterfeld S, Noll I, Noll E, Wohltmann D, Blocking A. Mitotic frequency as a prognostic factor in breast cancer. *Hum Pathol* 1995;26:47-52.
- 150) de Jong JS, van Diest PJ, Baak JP. Hot spot microvessel density and the mitotic activity index are strong additional prognostic indicators in invasive breast cancer. *Histopathology* 2000;36:306-312.
- 151) Kujari HP, Collan YUI, Atkin NB. Use of the mitotic counts for the prognosis and grading of breast cancer. *Pathol Res Pract* 1994;190:593-599.
- 152) Laroye GJ, Minkin S. The impact of mitotic index on predicting outcome in breast carcinoma. A comparison of different counting methods in patients with different lymph node status. *Mod Pathol* 1991;4:456-460.
- 153) Mauri FA, Girlando S, Dalla Palma P, Buffa G, Perrone G, Doglioni C, Kreipe H, Barbareschi M. Ki-67 antibodies (Ki-S5, MIB-1, and Ki-67) in breast carcinomas. A brief quantitative comparison. *Appl Immunohistochem* 1994;2:171-176.
- 154) Sahin AA, Ro J, Ro JY, Blick MB, el-Naggar AK, Ordonez NG, Fritsche HA, Smith TL, Hortobagyi GN, Ayala AG. Ki-67 immunostaining in node-negative stage I/II breast carcinoma. Significant correlation with prognosis. *Cancer* 1991;68:549-557.
- 155) Vielh P, Chevillard S, Mosseri V, Donatini B, Magdelenat H. Ki67 index and S-phase fraction in human breast carcinomas. Comparison and correlations with prognostic factors. *Am J Clin Pathol* 1990;94:681-686.
- 156) Weidner N, Moore DH, Vartanian R. Correlation of Ki-67 antigen expression with mitotic figure index and tumor grade in breast carcinomas using the novel 'paraffin'-reactive MIB1 antibody. *Hum Pathol* 1994;25:337-342.
- 157) Wintzer HO, Zipfel I, Schulte-Monting J, Hellerich U, von Kleist S. Ki-67 immunostaining in human breast tumors and its relationship to prognosis. *Cancer* 1991;67:421-428.
- 158) Page DL. Prognosis and breast cancer. Recognition of lethal and favorable prognostic types. *Am J Surg Pathol* 1991;15:334-349.

- 159)** Sigurdsson H, Baldetorp B, Borg A, Dalberg M, Ferno M, Killander D, Olsson H. Indicators of prognosis in node-negative breast cancer. *N Engl J Med* 1990;322:1045-1053.
- 160)** Visscher DW, Zarbo RJ, Greenawald KA, Crissman JD. Prognostic significance of morphological parameters and flow cytometric DNA analysis in carcinoma of the breast. *Pathol Annu* 1990;25(Pt 1):171-210.
- 161)** van Diest PJ, Michalides RJ, Jannink I, van der Valk P, Peterse HL, de Jong JS, Meijer CJ, Baak JP. Cyclin D1 expressin in invasive breast cancer correlations and prognostic value. *Am J Pathol* 1997;150:705-711.
- 162)** Carey LA, Kim NW, Goodman S, Marks J, Henderson G, Umbricht CB, Dome JS, Dooley W, Amshey SR, Sukumar S. Telomerase activity and prognosis in primary breast cancers. *J Clin Oncol* 1999;17:3075-3081.
- 163)** Alderson MR, Hamlin I, Staunton MD. The relative significance of prognostic factors in breast carcinoma. *Br J Cancer* 1971;25:646-655.
- 164)** Hutter RVP. The influence of pathologic factors on breast cancer management. *Cancer* 1980;46:961-976.
- 165)** Berg JW, Robbins GF. Factors influencing short and long-term survival of breast cancer patients. *Surg Gynecol Obstet* 1966;122:1311-1316.
- 166)** Fisher B, Bauer M, Wickerham L, Redmond CK, Fisher ER. Relation of number of positive axillary nodes to the prognosis of patients with primary breast cancer. An NSABP update. *Cancer* 1983;52:1551-1557.
- 167)** Fisher ER, Gregorio R, Redmond C, Dekker A, Fisher B. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Project (Protocol No.4). II. The significance of regional node histology other than sinus histiocytosis in invasive mammary cancer. *Am J Clin Pathol* 1976;65:21-30.
- 168)** Smith JA III, Gamez-Araujo J, Gallager HS, White EC, McBride CM. Carcinoma of the breast. Analysis of total lymph node involvement versus level of metastasis. *Cancer* 1977;39:527-532.
- 169)** Erlandson RA, Rosen PP. Infiltrating myoepithelioma of the breast. *Am J Surg Pathol* 1982;6:785-793.
- 170)** Rosen PP, Saigo PE, Braun DW, Weathers E, Fracchia AA, Kinne DW. Axillary micro- and macrometastases in breast cancer. Prognostic significance of tumor size. *Ann Surg* 1981;196:585-591.

- 171)** Fisher ER, Gregorio RM, Redmond C, Kim WS, Fisher B. Pathologic findings from the national National Surgical Adjuvant Breast Project (Protocol No. 4). III. The significance of extranodal extension of axillary metastases. *Am J Clin Pathol* 1976;65:439-444.
- 172)** Goldstein NS. The significance of extracapsular axillary lymph node extension by metastatic breast cancer. *Int J Surg Pathol* 1995;3:65-66.
- 173)** Leonard C, Corkill M, Tompkin J, Zhen B, Waitz D, Norton L, Kinzie J. Are axillary recurrence and overall survival affected by axillary extranodal tumor extension in breast cancer? Implications for radiation therapy. *J Clin Oncol* 1995;13:47-53.
- 174)** Mambo NC, Gallager HS. Carcinoma of the breast. The prognostic significance of extranodal extension of axillary disease. *Cancer* 1977;39:2280-2285.
- 175)** Clemente CG, Boracchi P, Andreola S, Del Vecchio M, Veronesi P, Rilke FO. Peritumoral lymphatic invasion in patients with node-negative mammary duct carcinoma. *Cancer* 1992;69:1396-1403.
- 176)** Hartveit F, Skjaerven R, Maehle BO. Prognosis in breast cancer patients with tumour cells in the efferent vessels of their axillary nodes. *Pathology* 1983;139:379-382.
- 177)** Cummings MC, Walsh MD, Hohn BG, Bennett IC, Wright RG, McGuckin MA. Occult axillary lymph node metastases in breast cancer do matter: results of 10-year survival analysis. *Am J Surg Pathol* 2002;26:1286-1295.
- 178)** Tsakraklides V, Olson P, Kersey JH, Good RA. Prognostic significance of the regional lymph node histology in cancer of the breast. *Cancer* 1974;34:1259-1266.
- 179)** Fisher ER, Gregorio RM, Redmond C, Dekker A, Fisher B. Pathologic findings from the national National Surgical Adjuvant Breast Project (Protocol No. 4). II. The significance of regional node histology other than sinus histiocytosis in invasive mammary cancer. *Am J Clin Pathol* 1976;65:21-30.
- 180)** Fisher ER, Kotwal N, Hermann C, Fisher B. Types of tumor lymphoid response and sinus histiocytosis. *Arch Pathol Lab Med* 1983;107:222-227.
- 181)** Noguchi M, Ohta N, Koyasaki N, Taniya T, Miyazaki I, Mizukami Y. Reappraisal of internal mammary node metastases as a prognostic factor in patients with breast cancer. *Cancer* 1991;68:1918-1925.

- 182)** Gilliland MD, Barton RM, Copeland EM III. The implications of local recurrence of breast cancer as the first site of therapeutic failure. *Ann Surg* 1983;197:284-287.
- 183)** Lewison EF, Montague ACW, Kuller L. Breast cancer treated at The Johns Hopkins Hospital, 1951-1956. Review of international ten-year survival rates. *Cancer* 1996;19:1359-1368.
- 184)** Fisher B, Montague E, Redmond C, Barton B, Borland D, Fisher ER, Deutsch M, Schwarz G, Margolese R, Donegan W, Volk H, Honvolinka C, Gardner B, Cohn I Jr, Lesnick G, Cruz AB, Lawrence W, Nealon T, Butcher H, Lawton R. Comparison of radical mastectomy with alternative treatments for primary breast cancer. A first report of result from a prospective randomized clinical trial. *Cancer* 1977;39:2827-2839.
- 185)** Fisher B, Redmond C, Poisson R, Margolese R, Wolmark N, Wickerham L, Fisher E, Deutsch M, Caplan R, Pilch Y, et al. Eight-year results of a randomized clinical trial comparing total mastectomy and lumpectomy with or without irradiation in the treatment of breast cancer. *N Engl J Med* 1989;320:822-828.
- 186)** Jacobson JA, Danforth DN, Cowan KH, d'Angelo T, Steinberg SM, Pierce L, Lippman ME, Lichter AS, Glatstein E, Okunieff P. Ten-year results of a comparison of conservation with mastectomy in the treatment of stage I and II breast cancer. *N Engl J Med* 1995;332:907-911.
- 187)** Schnitt SJ. Risk factors for local recurrence in patients with invasive breast cancer and negative surgical margins of excision: where are we and where are we going? *Am J Clin Pathol* 2003;120:485-488.
- 188)** Bloom HJG, Richardson WW, Harris ED. Natural history of untreated breast cancer. Comparison of untreated cases according to histological grade of malignancy. *Br Med J* 1962;2:213-221.
- 189)** Perou CM, Serlie T, Elsen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, Pollack JR, Ross DT, Johnsen H, Akslen LA, Fluge O, Pergamenschikov A, Williams C, Zhu SX, Lenning PE. Molecular portraits of human breast tumors. *Nature* 2000;406:747-752.
- 190)** van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ, Dai H, Hart AA, Voskuil DW, Schreiber GJ, Peterse JL, Roberts C, Marton MJ, Parrish M, Atsma D, Witteveen A, Glas A, Delahaye L, van der Velde T, Bartelink H, Rodenhuis S, Rutgers ET,

- Friend SH, Bernards R. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med* 2002;347:1999-2009.
- 191)** van't Veer LJ, Dal H, van de Vijver MJ, He YD, Hart AA, Mao M, Peterse HL, van der Kooy K, Marton MJ, Witteveen AT, Schrieber GJ, Kerkhoven RM, Roberts C, Linsley PS, Bernards R, Friend SH. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* 2002;415:530-536.
- 192)** Klampfer L. The role of signal transducers and activators of transcription in colon cancer. *Frontiers in Bioscience* 2008;13:2888-2899.
- 193)** Saydam G; Temel Moleküler Hematoloji Kursu ; Hematolojik Malignitelerde Sinyal İletim Sistemleri:49-60.
- 194)** Gao Cytokines, STATs and Liver Disease. *Cell Mol Immun* 2005;2(2):92-100.
- 195)** Dogan L, Güç D; Hacettepe Tıp Dergisi; Sinyal İletimi Mekanizmaları ve Kanser 2004;35:34-42.
- 196)** Strauss BL, Bratthauer GL, Tavassoli FA. STAT5a expression in the breast is maintained in secretory carcinoma, in contrast to other histologic types. *Hum Pathol* 2006;37:586-592.
- 197)** Semenza GL. Expression of Hypoxia-inducible Factor1: Mechanisms and Consequences. *Biochem Pharmacol.* 2000;59:47-53.
- 198)** Chen WT, Huang CJ, Wu MT, Yang SF, Su YC, Chai CY: Hypoxia-inducible Factor1 α is Associated with Risk of Aggressive Behavior and Tumor Angiogenesis in Gastrointestinal Stromal Tumors. *Japanese J Clin Oncol* 2005;35(4):207-213.
- 199)** Bardos JI, Ashcroft M. Hypoxia-inducible Factor1 and Oncogenic Signalling. *BioEssay* 2004;2:262-69.
- 200)** Lee JW, Bae SH, Jeong JW, Kim SH, Kim KW. Hypoxia-inducible Factor1 (HIF1) α : Its Protein Stability and Biological Functions. *Experimental and Molecular Medicine* 2004;36:1-12.
- 201)** J.J. Darnell, I. Kerr, G. Stark, JAK-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins, *Science* 1994;264:1415-1421.
- 202)** Z. Zhong, Z. Wen, J.J. Darnell, Stat3: a STAT family member activated by tyrosine phosphorylation in response to epidermal growth factor and interleukin-6, *Science* 1994;264:95-98.

- 203)** Semenza GL, Wang GL: A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. *Mol Cell Biol* 1992;12:5447-5454.
- 204)** Zundel W, Schindler C, Haas-Kogan D, Koong A, Kaper F, Chen E, Gottschalk AR, Ryan HE, Johnson RS, Jefferson AB, Stokoe D, Giaccia AJ: Loss of PTEN facilitates HIF-1-mediated gene expression. *Genes Dev* 2000;14:391-396.
- 205)** Ravi R, Mookerjee B, Bhujwalla ZM, Sutter CH, Artemov D, Zeng Q, Dillehay LE, Madan A, Semenza GL, Bedi A: Regulation of tumor angiogenesis by p53-induced degradation of hypoxia-inducible factor 1 α . *Genes Dev* 2000;14:34-44.
- 206)** Laughner E, Taghavi P, Chiles K, Mahon PC, Semenza GL: Her2 (neu) signaling increases the rate of hypoxia-inducible factor 1 α (hif-1 α) synthesis: novel mechanism for hif-1-mediated vascular endothelial growth factor expression. *Mol Cell Biol* 2001;21:3995-4004.
- 207)** Giatromanolaki, A., E. Sivridis, et al. "Hypoxia-inducible factor-2 alpha (HIF-2 alpha) induces angiogenesis in breast carcinomas." *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2006;14(1):78-82.
- 208)** Schindl M, Schoppmann SF, Samonigg H, et al. Overexpression of hypoxia-inducible factor-1 α associated with an unfavorable prognosis in lymph node-positive breast cancer. *Clin Cancer Res* 2002;8:1831-7.
- 209)** Morrow, C. S., and Cowan, K. H. Antineoplastic drug resistance and breast cancer. *Ann. NY Acad. Sci.* 1993;698:289-312.
- 210)** Christine Blancher, John W. Moore, Kate L. Talks, Sue Houlbrook, and Adrian L. Harris 2000;60:7196-7113.
- 211)** Theodoropoulou VE, Lazaris AC, Sofras F, et al. Hypoxia-inducible factor-1 α expression correlates with angiogenesis and unfavorable prognosis in bladder cancer. *Eur Urol* 2004;46: 200-8.
- 212)** Sivridis E, Giatromanolaki A, Gatter KC, Harris AL, Koukourakis MI, Tumor and Angiogenesis Research Group. Association of hypoxia-inducible factor-1 α and 2 α with activated angiogenic pathways and prognosis in patients with endometrial carcinoma. *Cancer* 2002; 95: 1055-63
- 213)** Burri P, Djonov V, Aebbersold DM, et al. Significant correlation of hypoxia-inducible factor-1 α with treatment outcome in cervical cancer treated with radical radiotherapy. *Int J Rad Oncol Biol Phys* 2003; 56: 494-501

- 214)** Birner P, Schindl M, Obermair A, Plank C, Breitenecker G, Oberhuber G. Overexpression of hypoxia-inducible factor-1 α is a marker for an unfavorable prognosis in early-stage invasive cervical cancer. *Cancer Res* 2000; 60: 4693-6
- 215)** Aegersold DM, Burri P, Beer KT, et al. Expression of hypoxia-inducible factor-1 α : a novel predictive and prognostic parameter in the radiotherapy of oropharyngeal cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 2911-6
- 216)** Hui EP, Chan AT, Pezzella F, et al. Coexpression of hypoxia-inducible factor-1 α and 2 α , carbonic anhydrase IX, and vascular endothelial growth factor in nasopharyngeal carcinoma and relationship to survival. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 2595-604
- 217)** Matsuyama T, Nakanishi K, Hayashi T, et al. Expression of hypoxia-inducible factor-1 α in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Sci* 2005; 96: 176-82
- 218)** Kurokawa T, Miyamoto M, Kato K, et al. Overexpression of hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) in oesophageal squamous cell carcinoma correlates with lymph node metastasis and pathologic stage. *Br J Cancer* 2003; 89: 1042-7
- 219)** Vleugel MM, Greijer AE, Shvarts A, et al. Differential prognostic impact of hypoxia induced and diffuse HIF-1 α expression in invasive breast cancer. *J Clin Pathol* 2005; 58: 172-7
- 220)** Mivake K, Yoshizumi T, Imura S, Sugimoto K, Batmunkh E, Kanemura H, Morine Y, Shimada M. 2008;36(3):e1-9
- 221)** Bos R, van der Groep P, Greijer AE, et al. Levels of hypoxia-inducible factor-1 α independently predict prognosis in patients with lymph node negative breast carcinoma. *Cancer* 2003;97 1573-81
- 222)** Bos R, Zhong H, Hanrahan CF, Mommers EC, Semenza GL, Pinedo HM, Abeloff MD, Simons JW, Van Diest PJ, Van der Wall E: Levels of hypoxia-inducible factor-1 α during breast carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst* 2001, 93:309-314
- 223)** Van Diest PJ, Baak JP: The morphometric prognostic index is the strongest prognosticator in premenopausal lymph node- negative and lymph node positive breast cancer patients. *Hum pathol* 1991, 22:326-330
- 224)** Ao, A., H. Wang, et al. (2008). "Involvement of estrogen-related receptors in transcriptional response to hypoxia and growth of solid tumors." *Proc Natl Acad Sci U_S A* 105(22): 7821-7826.
- 225)** Lundgren, K., C. Holm, et al. (2007). "Hypoxia and breast cancer: prognostic and therapeutic implications." *Cell Mol Life Sci* 64(24): 3233-3247

- 226)** Cho, J., J. J. Bahn, et al. (2006). "Hypoxic activation of unoccupied estrogen-receptor-alpha is mediated by hypoxia-inducible factor-1 alpha." J Steroid Biochem Mol Biol 100(1-3): 18-23.
- 227)** Molitoris, K. H., A. A. Kazi, et al. (2009). "Inhibition of oxygen-induced hypoxia-inducible factor-1alpha degradation unmasks estradiol induction of vascular endothelial growth factor Expression in ECC-1 cancer cells in vitro." Endocrinology 150(12): 5405-5414.
- 228)** Generali, D., F. M. Buffa, et al. (2009). "Phosphorylated ERalpha, HIF-1alpha, and MAPK signaling as predictors of primary endocrine treatment response and resistance in patients with breast cancer." J Clin Oncol 27(2): 227-234.
- 229)** J. Bromberg, M. Wrzeszcznska, G. Devgan, Y. Zhao, R. Pestell, C. Albanese, J.J. Darnell, Stat3 as an oncogene, Cell 98 (1999) 295-303
- 230)** R. Garcia, T. Bowman, G. Niu, H. Yu, S. Minton, C. Muro- Cacho, C. Cox, R. Fairclough, S. Parsons, A. Laudano, A. Gazit, A. Levitzki, A. Kraker, R. Jove, Constitutive activation of Stat3 by the Src and JAK tyrosine kinases participates in growth regulation of human breast carcinoma cells, Oncogene 20 (2002) 2499-2513
- 231)** T.Bowman, R. Garcia, J. Turkson, R. Jove, STATs in oncogenesis, Oncogene 19 (2000) 2474-2488
- 232)** R.Garcia, C.Yu, A. Hudnall, R. Catlett, K. Nelon, T. Smithgall, D.Fujita, S. Ehtir, R. Jove, Constitutive activation of STAT 3 in fibroblasts transformed by diverse oncoproteins and in breast carcinoma cells, Cell Growth Diff. 8 (1997) 1267-1275
- 233)** R.Buettner, L. Mora, R. Jove, Activated STAT signaling in human tumors provides novel molecular targets for therapeutic intervention, Clin. Cancer Res. 8 (2002) 945-954
- 234)** T.Schaefer, L.Sanders, D. Nathans, Cooperative transcriptional activity of Jun and Stat3 beta, a short form of Stat3, Proc. Natl. Acad. Sci.USA 92 (1995) 9097-9101
- 235)** J.E. Durbin, R. Hackenmiller, M.C. Simon, and D.E. Levy (1996). Targeted disruption of the Mouse Stat1 gene results in compromised innate immunity to viral disease. Cell84:431-442
- 236)** M.A.Merez, J. M. White, K. C. Sheehan, E.A. Bach, S.J. Rodig, A. S Dighe, D.H. Kaplan, J.K. Riley, A. C. Greenlund, D. Campbell, K. Carver Moore, R. N. DuBois, R. Clark, M. Aguet, and R.D. Schreiber (1996). Targeted disruption of

- the Stat1 gene in mice reveals unexpected physiologic specificity in the JAK-STAT signaling pathway. *Cell* 84: 431-442
- 237)** M. H. Kaplan, Y-L Sun, T. Hoey, and M. J. Grusby (1996). Impaired IL-12 responses and development of Th2 cells in Stat4 deficient mice. *Nature* 382:174-177
- 238)** K. Shimoda, J. Van Deursen, M. Y. Sangster, S. R Sarawar, R. T. Carson, R. A. Tripp, C. Chu, F. W. Quelle, T. Nosaka. D. A. Vignali, P.C. Doherty, G. Grosveld, W. E. Paul, and J.N. Ihle (1996). Lack of IL-4-induced Th2 response and IgE class switching in mice with disrupted Stat6 gene. *Nature* 380: 630-633
- 239)** K. Takeda, K. Noguchi, W. Shi, T. Tanaka, M. Matsumoto, N. Yoshida, T. Kishimoto, and S. Akira (1997), Targeted disruption of the Mouse Stat3 gene leads to early embryonic lethality. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 94: 3801-3804
- 240)** S. Akira (2000) Roles of Stat3 defined by tissue- specific gene targeting. *Oncogene* 19: 2607- 2611
- 241)** R.S. Chpman, P. C. Lourenco. E. Tonner, D. J. Flint, S. Selbert, K. Takeda, S. Akira, A. R. Clarke, and C. J. Watson (1999). Supression of epithelial apoptosis and delayed mammary gland involution in mice with a conditional knockout of Stat3. *Genes Dev.* 13:2604-2616
- 242)** P. Real, A. Sierra, A. De Juan, J. Segovia, J. Lopez- Vega, J. Fernndez- Luna, Resistance to chemotherapy via Stat3- dependent overexpresssion of Bcl-2 in metastatic breast cancer cell. *Oncogene* 21(2002) 7611-7618.
- 243)** W. Dalton, R. Jove, Drug sistance in multiple myeloma: approaches to circumvention, *Semin. Oncol.* 26 (1999) 23-27.
- 244)** C. Watson, W. Miller, Elevated levels of members of the STAT family of transcription factors in breast carcinoma nuclear extracts, *Br. J. Cancer* 71 (1995) 840-844
- 245)** T. Bowman, R. Garcia, G. Niu, H. Yu. S. Minton, C. A. Muro-Cacho, C. E. Cox, R. Falcone, R. Falcone, R. Fairclough, S. Parsons, A. Laudano, A. Gazit, A. Kraker, R. Jove, Constitutive activation of Stat3 by the Src and JAK tyrosine kinases participates in growth regulation of human breast carcinoma cells, *Oncogene* 20 (2002) 2499-2513
- 246)** T. Wang, G. Niu, M. Kortylewski, L. Burdelya, K. Shain, S. Zhang, R. Bhattacharya, D. Gabrilovich, R. Heller, D. Coppola, W. Dalton, R. Jove, D.

- Pardoll, H. Yu, Regulation of the innate and adaptive immune responses by Stat-3 signaling in tumor cells, *Nat. Med.* 10 (2004) 48-54
- 247)** Y. Aoki, G. Feldman, G. Tosato, Inhibition of STAT3 signaling induces apoptosis and decreases survivin expression in primary effusion lymphoma, *Blood* 101 (2003) 1535-1542
- 248)** L. Wei. M. Kuo, C.Chen, C. Chou, K. Lai, C. Lee, C.Hsieh, Interleukin-6 promotes cervical tumor growth by VEGF- dependent angiogenesis via a STAT3 pathway, *Oncogene* 22 (2003) 1517- 1527
- 249)** G. Biu. K. Wright, M. Huang, L. Song, E. Haura, J. Turkson, S. Zhang, T. Wang, D. Sinibaldi, D. Pardoll, R. Jove, H. Yu, Constitutive Stat3 activity up-regulates VEGF expression and tumor angiogenesis, *Oncogene* 21 (2002) 2000-2008
- 250)** H. Song, S. Ethier, M. Dziubinski, J. Lin, Stat3 modulates heat shock 27kDa protein expression in breast epithelial cells, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 314 (2004) 143- 150
- 251)** D. Dauer, B. Ferraro, L. Song, B. Yu, L. Mora, R. Buettner, S. Enkemann, R. Jove, E. Haura, Stat3 regulates genes common to both wound healing and cancer, *Oncogene* (2005)
- 252)** Fu-Chuan Hsieh, Gong Cheng, Jiayuh Lin *Biochemical and Biophysical Research Communications* 335 (2005) 292-299
- 253)** C.Clarke, R. Sutherland, Progesterin regulation of cellular proliferation, *Endocr. Rev.* 11 (1990) 266-301
- 254)** J. Richer, C. Lange, N.Manning, G. Owen, R.Powell, K. Horwitz, Convergence of progesterone with growth factor and cytokine signalling in breast cancer. Progesterone receptors regulate signal transducers and activators of transcription expression and activity, *J.Biol. Chem.* 273 (1998) 31317-31326
- 255)** Gary L. Bratthauer-Brian L. Strauss. Fattaneh A. Tavassoli; 2006;448: 165-171
- 256)** Christine J. Watson; *Journl of Mammary Gland Biology and Neoplasia*; Vol. 6, No.1, 2001
- 257)** Andreas Widschwendter, Sibylle Tonko-Geymayer, Thomas Welte, Günter Daxenbichler, Christian Marth, and Wolfgang Doppler 2002;vol 8,3065-3074
- 258)** Sheen-Chen S M, Huang CC, Tang RP, Yang CH, Chou FF, Eng HL; 2007; 27(4B): 2481-6

- 259)** Biffi, A., D. Coradini, et al. (1998). "Simultaneous but not sequential treatment with sodium butyrate improves the antiproliferative effect of alpha- or beta-interferon on a breast cancer cell line." *Anticancer Res* 18(6A): 4109-4114.
- 260)** Liu X, Robinson GW, Wagner KU, et al: Stat5a is mandatory for adult mammary gland development and lactogenesis. *Genes Dev* 11:179- 186, 1997
- 261)** Xie J, LeBaron MJ, Nevalainen MT, et al: Role of tyrosine kinase JAK2 in prolactin-induced differentiation and growth of mammary epithelial cells. *J. Biol Chem* 277: 14020-14030, 2002
- 262)** Nevalainen MT, Xie J, Bubendorf L, et al: Basal activation of transcription factor signal transducer and activator of transcription (stat5) in nonpregnant Mouse and human breast epithelium. *Mol Endocrinol* 16: 1108-1124, 2002
- 263)** Miyoshi K, Shillingford JM, Smith GH, et al: Signal transducer and activator of transcription (stat)5 controls the proliferation and differentiation of mammary alveolar epithelium. *J. Cell Biol* 155: 531-542, 2001
- 264)** Freije JM, MacDonald NJ, Steeg PS: Nm23 and tumor metastasis: Basic and translational advances. *Biochem Soc Symp* 63: 261-271, 1998
- 265)** Rivadeneira DE, Simmons RM, Christos PJ, et al: Predictive factors associated with axillary lymph node metastases in T1a and T1b breast carcinomas: Analysis in more than 900 patients. *J Am Coll Surg* 191:1-8, 2000
- 266)** Theiry JP: Epithelial- mesenchymal transitions in tumor progression. *Nat Rev Cancer* 2: 442-454, 2002
- 267)** Nevalainen MT, Xie J, Torhost J, Bubendorf L, Haas P, Kononen J, Sauter G, Hallgeir R (2004) Signal transducer and activator of transcription-5 activation and breast cancer prognosis. *J Clin Oncol* 22 (11): 2053-2060
- 268)** Canbay, E., M. Norman, et al. (1997). "Prolactin stimulates the JAK2 and focal adhesion kinase pathways in human breast carcinoma T47-D cells." *Biochem J* 324 (Pt 1): 231-236.
- 269)** Cotarla, I., S. Ren, et al. (2004). "Stat5a is tyrosine phosphorylated and nuclear localized in a high proportion of human breast cancers." *Int J Cancer* 108(5): 665-671.