T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİANABİLİM DALI

METAPLASTİK MEME KARSİNOMLARINDA KLİNİKOPATOLOJİK KORELASYON VE İMMÜNHİSTOKİMYASAL ANALİZ İLE PATOGENEZİN AYDINLATILMASI

Dr. YASEMİN ŞAHİN

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2015

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİANABİLİM DALI

METAPLASTİK MEME KARSİNOMLARINDA KLİNİKOPATOLOJİK KORELASYON VE İMMÜNHİSTOKİMYASAL ANALİZ İLE PATOGENEZİN AYDINLATILMASI

Dr. YASEMİN ŞAHİN

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2015

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ: DOÇ. DR. MERİH GÜRAY DURAK

Bu Proje DEÜBAP tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 2014110

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR ..... **II**

TABLO LİSTESİ ..... **III**

ŞEKİL LİSTESİ ..... **IV**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **V**

ÖZET **1**

İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT) **4**

I GİRİŞ **7**

II GENEL BİLGİLER **8**

2.1. Etyoloji 8

2.2. Prognostik ve prediktif faktörler 8

2.3. WHO 2012 Klasifikasyonu 11

2.3.1. TNM Klasifikasyonu 11

2.3.2. Histolojik türler 12

2.4. Metaplastik meme karsinomları 21

III GEREÇ VE YÖNTEM **27**

IV BULGULAR **32**

V TARTIŞMA **52**

VI SONUÇLAR **59**

KAYNAKLAR **62**

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, insani ve ahlaki değerleriyle örnek aldığım, çok değerli tez danışman hocam Doç. Dr. Merih GÜRAY DURAK başta olmak üzere;

Kendileri ile çalışma, tecrübelerinden yaralanma şansına eriştiğim, tezim için gerekli olguları toplarken arşivinden yararlandığım çok saygıdeğer dekan hocamız, Prof. Dr. Tülay CANDA' ya,

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda hizmet veren, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Sülen SARIOĞLU ve değerli hocalarım Prof. Dr. Kutsal YÖRÜKOĞLU, Prof. Dr. Meral KOYUNCUOĞLU, Prof. Dr. Erdener ÖZER, Prof. Dr. Özgül SAĞOL, Prof. Dr. Burçin TUNA, Prof. Dr. Banu LEBE, Prof. Dr. Sermin ÖZKAL, Prof. Dr. Çağnur ULUKUŞ, Doç. Dr. Duygu GÜREL, Doç. Dr. Mehtat ÜNLÜ ve Yrd.Doç. Dr. Ayça ERŞEN DANYELİ'ye, kendileri ile çalışmaktan onur duyduğum, saygıdeğer emekli hocam Prof. Dr. Şerefettin CANDA'ya,

Hastaların klinik takiplerine ulaşmak konusunda destek gösteren ve verilerini benimle paylaşan Prof. Dr. İlknur Bilkay GÖRKEN'e ve Prof. Dr. Binnaz DEMİRKAN'a, verilerin değerlendirilmesindeki yardımlarından dolayı Prof. Dr. Hülya ELLİDOKUZ'a, tezimde jüri üyesi olarak katkıda bulunan Prof. Dr. Fulya ÇAKALAĞAOĞLU'na, immünhistokimya aşamasında yardımlarını esirgemeyen teknisyenimiz Ayşe Çayan ile bu süreçte yanımda olan değerli araştırma görevlisi arkadaşlarıma, gerek uzmanlık eğitimi gerekse tez sürecinde büyük emekleri bulunan, Anabilim Dalımızın güleryüzlü ve içten tüm çalışanlarına,

Zor zamanlarımda yardımına çekinmeden başvurduğum, değerli zamanını bana ayıran güzel insan Doç. Dr. Hamiyet Yaşar'a,

Bu zorlu süreçte her zaman yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen anne ve babama, sevgili eşim Dr. Ali ŞAHİN' e ve ondan çaldığım zamanlar için anlayış gösteren canım oğlum Ozan Emre'ye

En içten sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Yasemin ŞAHİN

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. İmmuhistokimyasal olarak kullanılan antikorların özellikleri

Tablo 2. Tüm olgulardaki histopatolojik bulguların özeti

Tablo 3. Metaplastik karsinom olgularının histolojik alt türleri

Tablo 4.Tüm olgulardaki immunhistokimyasal bulguların özeti

Tablo 5.İstatistiksel olarak anlamlı histolojik ve immunhistokimyasal parametrelerin özeti

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Kaplan Meier genel sağ kalım eğrisi
Şekil 2. Kondroid diferansiyasyon gösteren metaplastik karsinom (X100, H&E)
Şekil 3. Kondroid diferansiyasyon gösteren metaplastik karsinom (X200, H&E)
Şekil 4. Skuamöz diferansiyasyon gösteren metaplastik karsinom (X200, H&E)
Şekil 5. Osseöz diferansiyasyon gösteren metaplastik karsinom (X100, H&E)
Şekil 6. Metaplastik karsinom olgusunda diffüz ER pozitifliği (ER, X100)
Şekil 7. Metaplastik karsinom olgusunda diffüz PR pozitifliği (PR, X200)
Şekil 8. Metaplastik karsinom olgusunda C-erbB2 ile 3+ boyanma(Cerb-B2, X200)
Şekil 9. Metaplastik karsinom olgusunda diffüz EGFR pozitifliği (EGFR, X200)
Şekil 10. Metaplastik karsinom olgusunda fokal EGFR pozitifliği (EGFR, X200)
Şekil 11. Metaplastik karsinom olgusunda diffüz CK5/6 pozitifliği (CK5/6, X200)
Şekil 12. Metaplastik karsinom olgusunda fokal CK5/6 pozitifliği (EGFR, X200)
Şekil 13. Metaplastik karsinom olgusunda diffüz p63 pozitifliği (p63, X200)
Şekil 14. Metaplastik karsinom olgusunda diffüz CD44 pozitifliği (CD44,X200)
Şekil 15. CD24 immunhistokimyasal boyası için pozitif kontrol olarak kullanılan kolon adenokarsinomu (CD24, X200)
Şekil 16. Metaplastik karsinom olgusunda diffüz CD24 pozitifliği (CD24, X200)
Şekil 17. İnvaziv duktal karsinom olgusunda diffüz CD24 pozitifliği (CD24, X100)
Şekil 18. Metaplastik karsinom olgusunda diffüz e-kaderin pozitifliği (e-kaderin, X200)
Şekil 19.İnvaziv duktal karsinom olgusunda diffüz e-kaderin pozitifliği (e-kaderin, X200)
Şekil 20. Snail immunhistokimyasal boyası için pozitif kontrol olarak kullanılan böbrek dokusu (Snail, X100)

KISALTMALAR

APC: Adenomatöz polipozis coli

ALDH1: Aldehit dehidrogenaz 1

BBA: Büyük büyütme alanı

Bcl-2: B cell lyhmphoma 2

BRCA1: Breast cancer type 1

BRCA2: Breast cancer type 2

CK: Sitokeratin

DKIS: Duktal karsinoma in situ

EGFR: Epidermel büyüme faktörü reseptörü

EMT: Epitelyal mezenkimal transisyon

ER: Östrojen reseptör

FISH: Fluorescence In Situ Hibridizasyon

GCDFP-15: Gross cystic disease fluid protein-15

H&E: Hemotoksilen&eozin

HER2 (HER2/neu, cerb-B2):İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2

İDK: İnvaziv duktal karsinom

İHK: İmmünhistokimya

İLK: İnvaziv lobüler karsinom

KKH: Kanser kök hücre

Kİ67: Hücre proliferasyonu ilişkili bir protein

LVİ: Lenfovasküler invazyon

MK: Metaplastik karsinom

PCR: Polimeraz zincir reksiyonu

PIK3CA: Phosphatidylinositol4, 5 Bisphosphate 3 Kinase, Catalytic Subunit Alpha

PKİ: Perikapsüler invazyon

PNİ: Perinöral invazyon

PR: Progesteron reseptörü

PTEN: Phosphatase and tensin homolog

TNM: Tümör, lenf nodu, metastaz

WHO/DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

ÖZET

METAPLASTİK MEME KARSİNOMLARINDA KLİNİKOPATOLOJİK KORELASYON VE İMMUNHİSTOKİMYASAL ANALİZ İLE PATOGENEZİN AYDINLATILMASI

Dr. Yasemin Şahin

yasemin.sahin@deu.edu.tr

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı

Amaç:

Metaplastik meme karsinomları (MK), tüm meme kanserlerinin %1'den azını oluşturan heterojen bir grup tümördür. Patogenezleri henüz tam olarak aydınlatılamamış nadir görülen bu tümörlerin hedefe yönelik tedavisi için son dönemlerde literatürde çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Çalışmamızın amacı, bölümümüzde MK tanısı almış olgularımızı yeniden gözden geçirerek, tümör boyutu, tümörün histolojik türü ve derecesi, lenfovasküler, perinöral invazyon durumu, aksiller lenf nodlarına metastaz, perikapsüler invazyon gibi patolojik parametreleri değerlendirmek; immunhistokimyasal analiz ile hormon reseptörleri ve cerb-B2 durumu yanı sıra bazal-benzeri fenotip oranını belirlemek; bu tümörlerin patogenezlerini açıklamaya yönelik literatürde yer alan teorileri immunhistokimyasal belirteçlerle değerlendirmek; ve benzer evredeki invaziv duktal karsinomlarla (İDK) karşılaştırarak klinikopatolojik korelasyon ile hastalarımızın hastalıksız yaşam ve sağkalım oranlarını saptamaktır. Tümör hücrelerinin immunhistokimyasal profilini değerlendirerek patogenezlerini açıklamaya yönelik teorileri tartışmak ve hedefe yönelik tedavi için literatüre katkı sağlamak hedeflenmektedir.

Gereç ve Yöntem:

Retrospektif olarak patoloji arşivinden taranarak bulunan, 1994 yılından günümüze kadar bölümümüzde tanı almış 30 MK hastası ile benzer evredeki 30 İDK hastasının hematoksilen-eozin boyalı doku kesitleri yeniden değerlendirildi. Uygun tümörlü bloklar seçilerek immunhistokimyasal boyalar (ER, PR, c erb-B2, EGFR, CK5/6, CD24, CD44, e-kaderin, p63, Snail) uygulandı. MK olgularında üçlü negatif ve bazal benzeri fenotipe sahip olanların oranı

belirlendi. Tüm veriler dahil edilerek elde edilen prognostik ve prediktif parametreler ile istatistiksel inceleme yapıldı.

Bulgular:

Çalışmaya dahil edilen 60 invaziv meme kanseri olgusunun 59'u kadın 1'i erkek olup, yaş ortalaması MK olgularında 54,8, İDK olgularında 56,7 dir. Ortalama tümör boyutu MK olgularında 28,3 mm, İDK olgularında 21,5 mm dir. MK olgularının 14'ü (%46,6) skuamöz, 4'ü (%13,4) kondroid, 3'ü (%10,0) adenoskuamöz, 2'si (%6,6) karsinosarkom, 1'i (%3,3) osteoklastik, 1'i (%3,3) sarkomatöz ve nöroendokrin diferansiyasyon göstermekte olup, 5'inde (%16,6) nonspesifik özellikler izlenmiştir. MK olgularının çoğu (%83,3) derece III, İDK olgularının çoğu ise (%60,0) derece 1 veya 2'dir. Hem MK hem de İDK olgularının 9'unda (%30,0) lenf nodu metastazı izlenmektedir. MK olgularının 16'sında (%53,3), İDK olgularının 17'sinde (%56,7) lenfatik invazyon; MK olgularının 11'inde (%36,7), İDK olgularının ise 7'sinde (%23,3) vasküler invazyon vardır. MK olgularının 16' sı(%53,3) ER, PR ve c erb-B2 negatiftir (üçlü-negatif). Bazal benzeri fenotip (EGFR ve/veya CK5/6 pozitifliği) MK olgularının 26'sında (%86,6) izlenmektedir. MK olgularının 19'unda (%63,3)p63, 16'sında (%53,3) CD24 ile boyanma vardır. MK olgularının tümünde CD44, İDK olgularının tümünde ise CD24 ile boyanma izlenmiştir. Hem MK (%90,0) hem de İDK (%96,7) olgularının çoğunda e-kaderin ile boyanma vardır. Snail ile her iki grupta boyanma görülmemiştir. MK ve İDK olguları arasında tümör derecesi ($p=0,001$), ER, PR, p63, EGFR, CK5/6, CD24 ve CD44 ekspresyonu ($p<0,001$) açısından istatistiksel olarak anlamlı fark vardır. Bununla birlikte, tümör boyutu, lenfovasküler ve perinöral invazyon durumu, lenf nodu tutulumu, perikapsüler invazyon, cerb-b2 ve e-kaderin ekspresyonu açısından anlamlı ilişki bulunmamıştır. Düzenli takip verisi bulunan 23 MK olgusunda ortalama 58,3 aylık takip sonrası %33,3 ex izlenirken, 23 İDK olgusunda ortalama 42,2 aylık takip sonrası %13,3 ex vardır. Genel sağ kalım açısından, MK ve İDK olguları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmiştir ($p=0,036$).

Sonuç:

MK'lu hastalarımızın %86,6'sında bazal benzeri fenotip izlenmekte olup, üçlü-negatiflik oranı %53,3'tür. MK olgularının % 46,7'sinde, İDK'lara göre (olguların hiçbirinde CD44+/CD24- fenotip izlenmedi) istatistiksel olarak anlamlı oranda farklı CD44+/CD24- immunfenotip olması, benzer şekilde myoepitelyal belirteç olan p63 ile de MK olgularında anlamlı düzeyde yüksek pozitiflik izlenmesi, bu olguların patogenezinde kök hücrelerinin ve myoepiteliyal

hücrelerin rolünü desteklemektedir. E-kaderin ile olguların çoğunda ekspresyon kaybının izlenmemesi, Snail ile de hiçbir olguda boyanma görülmemesi, olgu grubunun küçük olmasına bağlı olabilir. Dolayısıyla, olgu grubumuz epitelyal mezenkimal geçiş teorisini değerlendirmek için yeterli değildir. Düzenli takibi olan hastaların genel sağ kalım oranlarındaki istatistiksel olarak anlamlı fark, MK'ların daha agresif davranış ve klinik gidişatını göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: Metaplastik karsinom, üçlü-negatif meme karsinomu, patogenez, epitelyal-mezenkimal geçiş, kanser kök hücresi.

ABSTRACT

CLINICOPATHOLOGIC CORRELATION IN METAPLASTIC BREAST CARCINOMAS AND ENLIGHTENING PATHOGENESIS VIA IMMUNOHISTOCHEMICAL ANALYSIS

Dr. Yasemin Şahin

yasemin.sahin@deu.edu.tr

Dokuz Eylül University Faculty of Medicine Department of Pathology

Aim:

Metaplastic breast carcinomas (MC) are heterogeneous group of tumors that constitute less than 1% of all breast cancers. There are various studies in the literature about targeted therapies of these rare tumors,in whichthe pathogenesis is stillunclear. The aim of this study is to evaluate the pathological parameters such as; tumor size, histologic type and grade of tumor, lymphovascular, perineural invasion, axillary lymph node status and pericapsular invasion; and to determine basal-like phenotype ratio, in addition to hormone receptor and c-erb B2 status, by immunohistochemical analysis in patients with metaplastic carcinoma. We have also aimed to evaluate the theories about the pathogenesis of these tumors using immunohistochemical markers and to investigate both disease-free and overall survival of these patients by clinocopathological correlation. We evaluated invasive ductal carcinoma (IDC) patients of similar stage, as a control group. Therefore, our objective is to discuss theories about the pathogenesis of these tumors by evaluating immunohistochemical profile and to contribute to literature about the targeted treatment of metaplastic carcinomas.

Materials and methods:

Hemotoxylin-eosine stained tissue sections of 30 MC patients and 30 IDC patients of similar stage were selected from our pathology archieve, diagnosed between 1994 and 2014, and retrospectively evaluated. Appropriate paraffin blocks containing tumor tissue were selected, and immunohistochemical staining (ER, PR, c erb-b2 , P63, EGFR, CK5/6, e-kaderin, Snail, CD24 and CD44) was performed. In MC cases, triple negativity and basal-like phenotype ratio was determined. Statistical analysis was performed using prognostic and predictive parameters of the data.

Results:

Of 60 patients with invasive breast carcinoma included in the study, 59 were female and 1 was male. Mean age was 54,8 years in MC and 56,7 years in IDC patients. Mean tumor size was 28,3 mm in MC and 21,5 mm in IDC patients. Of 30 MC patients, 14 (46,6 %) had squamous, 4 (13,4%) had chondroid, 3 (10,0 %) had adenosquamous differentiation, 2 (6,6%) were carcinosarcoma, 1 (3,3%) had osteoclastic and 1 (3,3%) had sarcomatous and neuroendocrine differentiation. In 5 (16,6%) patients no differentiation was noted. Most of the cases with MC (83,3%) were grade 3 and most IDC cases (60,0%) were either grade 1 or 2. Lymph node metastases was observed in 9 (30,0%) cases in both MC and IDC groups. 16 (53,3%) of MC cases and 17 (56,7%) of IDC cases had lymphatic invasion and 11 (36,7%) of MC cases and 7 (23,3%) of IDC cases had vascular invasion. 16 (53,3%) of MC cases were ER, PR and c erb-B2 negative (triple negative). Basal-like phenotype (EGFR and/or CK5/6 positivity) was observed in 26 (86,6%) of cases with MC. Of 30 MC cases, 19 (63,3%) showed p63 staining, 16 (53,3%) showed CD24 staining. All MC cases were stained with CD44, while all cases of IDC were stained with CD24. E-cadherin staining was present in most MC (90,0%) and most IDC (96,7%) cases. No staining with Snail was displayed in both groups. Statistically significant difference was observed with respect to tumor grade ($p=0,001$), ER, PR, P63, EGFR, CK5/6, CD24 and CD44 expressions ($p<0,001$) between MC and IDC groups.There was no statistically significant correlation with respect to tumor size, lymphovascular and perineural invasion, lymph node involvement, cerb b2 and e-cadherin expression. Of the 23 MC cases which had regular follow-up data, after a mean follow-up of 58,3 months, exitus was observed in 33,3%, while in 23 IDC cases, after a mean follow-up of 42,2 months exitus was observed in 13,3%. Statistically significant difference was found between MC and IDC groups with respect to overall survival rate ($p=0,036$).

Conclusion:

In our MC cases, basal-like phenotype was observed in 86,6%, and triple-negativity in 53,3% of the cases. CD44+/CD24- phenotype was observed in 46,7% of MC cases compared to none in IDC cases, which was statistically significant. This difference in CD44+/CD24- immunophenotype, as well as high rate of P63 positivity in MC cases, support both the roles of stem cells and myoepithelial cells in the pathogenesis of metaplastic carcinomas. High rates of e-cadherin positivity in most of the cases and Snail negativity in all cases may be due to the small patient population of our study. Therefore, our patient population may not be

ideal to evaluate the epithelial mesenchymal transition theory. Statistically significant difference between MC and IDC groups with respect to overall survival, supports more agressive behaviour and clinical progress of metaplastic carcinomas, when compared to invasive ductal carcinomas.

Key Words: Metaplastic carcinoma, triple-negative breast carcinoma, pathogenesis, epithelial- mesenchymal transition, cancer stem cell.

I. GİRİŞ

İnvaziv meme kanserleri kadınlarda en sık görülen malignitelerdir. Kadınlarda görülen bütün kanserlerin %23'ünü oluştururlar. Gelişmiş ülkelerde bu oran %27'ye ulaşmaktadır. Meme kanseri, 45 yaş ve üstü kadınlarda kanserden ölümlerin en sık nedenidir[1].

Riskin yüksek olduğu Avustralya, Avrupa ve Kuzey Amerika'da, kadınların %6'sında 75 yaşından önce meme karsinomu gelişir. Bu oran Afrika, Güney ve Doğu Asya gibi gelişmekte olan ülkelerde gelişmiş ülkelerin 1/3'ü kadardır. Bu bölgelerdeki ülkelerden sadece Japonya gelişmiş bir ülke olmasına karşın buradaki insidans düşük seviyededir[2].

II. GENEL BİLGİLER

2.1 Etyoloji

Meme kanseri gelişimi multifaktöriyel olup, temelde beslenme, reprodüktif faktörler ve hormonal faktörler sorumlu tutulur. Özellikle yüksek kalorili, hayvansal yağ ve proteinden zengin batı tarzı beslenme, fiziksel egzersiz yetersizliğiyanı sıra genetik faktörlerde riski artırmaktadır[3].BRCA1, BRCA2 mutasyonu olan ve aile öyküsü bulunan kadınlarda risk daha fazladır.

Multiparite, geç menarş, gebelik yaşının erken olması ve emzirmenin meme kanserine karşı koruyucu olduğu belirtilmektedir [4].

Kombine oral kontraseptif kullanımı özellikle de 10 yıldan fazla kullanılır ise meme karsinomu gelişme riskini artırır[5]. Hormon replasman tedavisi de koroner arter hastalıkları ve osteoporoz riskini azaltmakla birlikte, meme karsinomu riskini artırır. Tek başına östrojen kullanımına göre kombine olarak östrojen ve progesteron kullanımında risk daha yüksektir[6].

2.2 Meme karsinomunda patolojik prognostik ve prediktif faktörler:

Meme karsinomlarında gidişi ve tedaviye yanıtı belirleyebilmek için biyolojik, moleküler ve genetik belirteçler bulmaya yönelik çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Klinikte prognostik ve prediktif amaçlı kullanılan bilgilerin çoğu histolojik inceleme sonucu belirlenen parametrelerdir. Bunlar tümörün boyutu, histolojik tip ve derecesi, lenfovasküler invazyon durumu, aksiller lenf nodları ve deri tutulumu gibi histopatolojik parametreler yanı sıra hormon reseptörleri ve HER2 durumudur. Sayılan bu prognostik ve prediktif parametreler CAP (Collage of American Pathologists) tarafından ideal bir patoloji raporunda bulunması gereken parametreler olarak bildirilmektedir [7]. Ayrıca meme karsinomlarında bireysel tedaviye yönelik moleküler sınıflandırmalar ve testler de önerilmektedir.

Prognostik faktörlersağ kalımı ve hastalığın gidişatını belirleyen, prediktif faktörler ise tedaviye yanıtı etkileyen parametrelerdir.

2.2.1 Aksiller Lenf Düğümü Durumu: Meme karsinomunda en önemli prognostik faktör aksiller lenf düğümü metastazı olup olmadığıdır. Hastalıksız ve toplam sağ kalım, tutulan lenf düğümü sayısı ile ters orantılı olarak değişmektedir [7]. Makrometastazların prognostik önemi ispatlanmıştır. Mikrometastazların ve izole tümör hücrelerinin prognostik önemi ise henüz net olarak bilinmemektedir[8, 9].

2.2.2 Tümör boyutu:İkinci en önemli prognostik faktördür. Tümör boyutu ile tutulan lenf düğümü sayısı doğru orantılıdır ancak her ikisi de bağımsız prognostik faktörlerdir. Meme karsinomunda tümör boyutu arttıkça aksiller metastaz ihtimali artar. 1cm'den küçük boyuttaki tümörlerde 5 yıllık sağ kalım %99 iken, 1-3 cm arasındaki tümörlerde bu oran %89, 3-5 cm boyutundaki tümörlerde ise %86'dır[10, 11]. Tümör boyutu en doğru makroskopik ve mikroskopik ölçümlerin korelasyonu ile hesaplanır. Ancak tümör boyutunun hesaplanmasında dikkate alınması gereken bazı noktalar da vardır: mikroinvazyonun ya da multifokal tümörlerin değerlendirilmesi özelliklidir. Çalışmalar, mikroinvaziv odağın eşlik ettiği duktal karsinoma in situ (DKİS) ile sadece DKİS olguları arasında prognozun benzer olduğunu göstermektedir [12, 13]. Bugünkü bilgiler doğrultusunda multifokal tümörlerde tümör boyutunun evrelemesi, en büyük tümör odağı dikkate alınarak yapılmaktadır. Multifokalite ile lenf nodu metastazının ilişkili olduğunu bildiren çalışmalar da vardır[14].

2.2.3Histolojik tür: Tübüler, müsinöz, invaziv kribriform ve adenoid kistik karsinom türleri diğerlerine göre daha iyi prognoza sahiptir.

2.2.4 Derece: Meme kanserlerinde patologlar arasındaki uyumu arttırmak için farklı derecelendirme sistemleri geliştirilmiştir. En yaygın kullanılanı Scarff-Bloom-Richardson sınıflamasıdır. Bu sınıflama sisteminde tubul formasyonu, nükleer pleomorfizm ve mitotik aktivite 1-3 puan arasında skorlanır. Tubul formasyonu %75'in üzerindeyse 1 puan, %10-%75 arasındaysa 2 puan, %10' un altındaysa 3 puan verilir. Nükleer derecelendirmede, düzgün sınırlı, üniform kromatinlinükleuslar 1 puan, orta derecede boyut ve şekil farkı olan, veziküler nükleuslu, belirgin nükleollü hücreler 2 puan, belirgin pleomorfizm gösteren nükleuslar ise 3 puanla skorlanır. Mitotik aktiviteyi değerlendirmek için mitozun en yoğun olduğu alanlarda mitoz sayılır. 10 BBA'da 0-9 mitoz 1 puan, 10-19 mitoz 2 puan, 20 ve üzeri mitoz ise 3 puan olarak skorlanır. Her üç parametreden gelen puanlar toplandığında 3-5 puan Derece 1, 6-7 puan Derece 2, 8-9 puan Derece 3 olarak değerlendirilir[15, 16]. Histolojik derecenin lenf nodu tutulumu ve tümör boyutundan bağımsız olarak sağ kalım ile ilişkisi gösterilmiştir.

2.2.5 Lenfovasküler invazyon: Meme karsinomunda peritümöral lenfatik ve vasküler invazyon,lokal rekkürrens ve uzak metastaz açısından prognostik olarak anlamlıdır. Birçok çalışma, lenfatik invazyonun lenf nodu negatif hastalarda kötü prognostik faktör olduğunu göstermektedir[17, 18].

2.2.6 Yaş: Tanı anında 50 yaş altında olan hastalar iyi prognoza sahiptir. Sağ kalımsüresi göreceli olarak 50 yaş üzerinde düşer ve özellikle daha ileri yaşlarda düşüktür.

2.2.7 Deri tutulumu: pT4 olarak sınıflandırılan deri tutulumu ve göğüs duvarı tutulumu kötü prognostik faktörlerdir[19].

2.2.8 Östrojen Reseptörü/Progesteron Reseptörü Durumu:Östrojen (ER) ve progesteron (PR) reseptörleri, invaziv meme karsinomlarında hem prognostik hem de prediktif değeri olan parametrelerdir. Östrojen reseptörü pozitif olan hastaların hastalıksız 5 yıllık sağ kalımları %74 iken, östrojen reseptörü negatif olan hastalarda bu oran %66'dır. Östrojen reseptör pozitifliği meme karsinomunda güçlü bir predikitif faktördür. 5 yıllık adjuvan tamoksifen (östrojen reseptör blokörü) kullanımı sonrasında meme karsinomu rekürrens riski %47, mortalite riski ise %26 azalmaktadır [20].

2.2.9 Her2/neu: Her2/neu, kromozom 17q21'de lokalize bir proto-onkogendir. İntrensek tirozin kinaz aktivitesine sahip epidermal büyüme faktörü benzeri bir transmembran glikoproteini kodlar. Genin aşırı ekspresyonu tümörün daha agresif davranışı ile ilişkilidir[20]. HER2 durumunu belirlemenin amacı hedef tedavi (trastuzumab) adayı hasta grubunu saptamaktır.

2.2.10 Ki-67:Tümör hücre proliferasyonu, meme kanserinde hem prognostik hem de prediktif bir faktördür. Tümör hücre proliferasyonu, immunhistokimyasal olarak nükleer Ki-67 boyanması ile saptanabilir. Ki-67 nükleer ekspresyonu yüksek olan hastalarda prognoz kötü olmakla birlikte, bu hastalarkemoterapiye daha iyi yanıt verir.

2.2.11 Tümör nekrozu:Kötü klinik gidiş ile ilişkilendirilmişsede, tümör boyutu ve histolojik dereceden bağımsız değildir.

2.2.12 Perinöral invazyon: Lenfovasküler invazyon ile birlikte olup, bağımsız prognostik faktör değildir.

Ayrıca ploidi, çeşitli onkogen ve tümör süpresör genler (örneğin p53), anjiyogenez, proteaz ve proteaz inhibitörleri gibi faktörlerin prognostik önemi araştırılmakla birlikte, bunların hiçbiri henüz rutin pratikte kullanılmamaktadır.

2.3.1 WHO 2012 TNM Klasifikasyonu:

Tx: Primer tümör değerlendirilemiyor

T0: Primer tümöre ait kanıt yok

Tis:Karsinoma in situ

Tis (DCIS):Duktal karsinoma in situ

Tis (LCIS):Lobüler karsinoma in situ

Tis (Paget):Meme başının, altta yatan invaziv meme karsinomu ve/veya DKİS ve/veya LKİS tanısıyla ilişkili olmayan Paget hastalığı

Not: Parenkimin Paget hastalığı ile ilişkili karsinomları boyuta göre sınıflandırılmalı, ancak Paget hastalığının varlığı bildirilmelidir .

T1: Tümörün en büyük çapı≤ 20mm

T1mi: Tümörün en büyük çapı≤1mm

T1a: Tümörün en büyük çapı>1mm ancak ≤5mm

T1b: Tümörün en büyük çapı >5mm ancak≤10mm

T1c: Tümörün en büyük çapı>10mm ancak ≤20mm

T2: Tümörün en büyük çapı>20mm ancak ≤50mm

T3: Tümörün en büyük çapı> 50mm

T4: Herhangi bir boyuttaki tümörün direkt göğüs duvarı ve/veya cilt tutulumu (ülserasyon veya cilt nodülleri şeklinde) göstermesi

Not: Tek başına dermis invazyonu T4 olarak nitelendirilmez. Göğüs duvarı; kostalar, interkostal kaslar ve serratus anterior kasını kapsar.

T4a: Yalnızca pektoral kas yapışıklığı/invazyonunu içermeyen göğüs duvarı tutulumu

T4b: Ciltte ülserasyon ve/veya ipsilateral satellit nodüller ve/veya ödem (peau d'orange dahil) izlenmesi (inflamatuar karsinom kriterlerini karşılamamalı)

T4c: T4a ve T4b' nin her ikisi

T4d: İnflamatuar karsinom

pNX: Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor (örneğin önceden çıkarılmış)

pN0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok

PN0(i-): Histolojik olarak bölgesel lenf nodu metastazı yok, immünhistokimya negatif

PN0(i+): Bölgesel lenf nodlarında 0,2 mm'yi aşmayan malign hücreler (H&E ya da immünhistokimya ile saptanan)

pN1: Mikrometastaz; veya 1-3 adet aksiller lenf nodu metastazı ve/veya sentinel lenf nodu biyopsisi ile saptanmış ancak klinik olarak saptanmamış internal mammarian lenf nodu metastazı

pN1mi: Mikrometastaz (0.2mm'den büyük ve/veya hiçbiri 2mm'den büyük olmayan 200'den fazla hücre)

pN1a: 1-3 adet aksiller lenf nodu metastazı (en az bir metastazı 2mm'den büyük)

pN1b: Sentinel lenf nodu biyopsisi ile saptanmış ancak klinik olarak saptanmamış mikrometastaz veya makrometastaz içeren internal mammarian lenf nodları

pN1c: 1-3 adet aksiller lenf nodu metastazı ve sentinel lenf nodu biyopsisi ile saptanmış ancak klinik olarak saptanmamış mikrometastaz veya makrometastaz içeren internal mammarian lenf nodları

pN2: 4-9 adet aksiller lenf nodu metastazı veya aksiller lenf nodu yokluğunda klinik olarak saptanmış internal mammarian lenf nodu metastazı

pN2a: 4-9 adet aksiller lenf nodu metastazı (en az bir tümör depoziti 2mm'den büyük)

pN2b: Aksiller lenf nodu metastazı yokluğunda, klinik olarak saptanmış internal mammarian lenf nodu metastazı

pN3: Aşağıda tanımlanmıştır.

pN3a: 10 veya daha fazla aksiller lenf nodunda metastaz(en az bir tümör depoziti 2mm'den büyük);veya infraklavikuler (level III aksiller lenf nodu) metastazı

pN3b: Bir veya daha fazla pozitif aksiller lenf nodu varlığında, klinik olarak saptanmış ipsilateral internal mammarian lenf nodlarındametastaz;veya 3'ten fazla aksiller lenf nodunda ve sentinel lenf nodu ile saptanmış fakat klinik olarak saptanmamış, mikrometastaz veya makrometastaz içeren internal mammarian lenf nodları

pN3c: İpsilateral supraklavikuler lenf nodlarında metastaz

2.3.2 Meme karsinomlarında 2012 WHO klasifikasyonu:

Epiteliyal tümörler

Mikroinvaziv karsinom

İnvaziv meme karsinomları

İnvaziv meme karsinomu spesifik olmayan tip (NST)

- Pleomorfik karsinom
- Osteoklastik dev hücreli karsinom
- Koryokarsinomatöz özellikleri olan karsinom
- Melanotik özellikleri olan karsinom

İnvaziv lobüler karsinom

- Klasik lobüler karsinom
- Solid lobüler karsinom
- Alveoler lobüler karsinom
- Pleomorfik lobüler karsinom
- Tübülolobüler karsinom
- Mikst lobüler karsinom

Tübüler karsinom

Kribriform karsinom

Müsinöz karsinom

Medüller özellikleri olan karsinom

- Meduller karsinom
- Atipik medüller karsinom
- Medüller özellikleri olan invaziv meme karsinomu spesifik olmayan tip

Apokrin diferansiyasyon gösteren karsinom
Taşlı yüzük hücreli diferansiyasyon gösteren karsinom
İnvaziv mikropapiller karsinom

Metaplastik karsinom spesifik olmayan tip
- Düşük dereceli adenoskuamöz karsinom
- Fibromatozis benzeri metaplastik karsinom
- Skuamöz hücreli karsinom
- İğsi hücreli karsinom
- Mezenkimal diferansiyasyon gösteren metaplastik karsinom
Kondroid diferansiyasyon
Osseöz diferansiyasyon

Diğer tip mezenkimal diferansiyasyonlar
- Mikst metaplastik karsinom
- Mypepiteliyal karsinom

Nadir tipler
Nöroendokrin özellikler gösteren karsinom
- İyi diferansiye nöroendokrin tümör
- Az diferansiye nöroendokrin karsinom (küçük hücreli karsinom)
- Nöroendokrin diferansiyasyon gösteren karsinom

Sekretuar karsinom
İnvaziv papiller karsinom
Asinik hücreli karsinom
Mukoepidermoid karsinom
Onkositik karsinom
Lipitten zengin karsinom
Glikojenden zengin berrak hücreli karsinom
Sebaseöz karsinom
Tükrük bezi/deri adeneksiyel tip tümörler
- Silindroma
- Berrak hücreli hidradenom

Epiteliyal-myoepiteliyal tümörler

Pleomorfik adenom

Adenomyoepiteliyoma

Adenoid kistik karsinom

Prekürsör lezyonlar

Duktal karsinoma insitu

Lobüler neoplazi

-Lobüler karsinoma insitu

-Atipik lobüler hiperplazi

İntraduktal proliferatif lezyonlar

Atipisiz duktal epiteliyal hiperplazi

Flat epiteliyal atipi içeren kolumnar hücre değişiklikleri

Atipik duktal hiperplazi

Papiller lezyonlar

İntraduktal papillom

- Atipik hiperplazili intraduktal papillom
- Duktal karsinoma insitulu intraduktal papillom
- Lobüler karsinoma insitulu intraduktal papillom

İntraduktal papiller karsinom

Enkapsüle papiller karsinom

Solid papiller karsinom (in situ-invaziv tür)

Benign epiteliyal proliferasyonlar

Skleroze adenozis

Apokrin adenozis

Mikroglandüler adenozis

Radial skar/kompleks sklerozan lezyon

Adenomlar

- Tübüler adenom
- Laktasyon adenomu
- Apokrin adenom
- Duktal adenom

Mezenkimal tümörler

Nodüler fasiit

Myofibroblastom

Desmoid tip fibromatozis

İnflamatuar myofibroblastik tümör

Benign vasküler lezyonlar

- Hemanjiom

- Anjiomatozis

- Atipik vasküler lezyonlar

Psödoanjiyamatöz stromal hiperplazi

Granüler hücreli tümör

Benign periferal sinir kılıfı tümörleri

- Nörofibrom

- Schwannom

Lipom

-Anjiolipom

Liposarkom

Anjiosarkom

Rabdomyosarkom

Osteosarkom

Leyomyom

Leiyomyosarkom

Fibroepiteliyal tümörler

Fibroadenom

Filloid tümör

- Benign

- Borderline

- Malign

- Düşük dereceli periduktal stromal tümör

Hamartom

Meme başı tümörleri

Meme başı adenomu

Syringomatöz tümör

Paget hastalığı

Malign lenfoma

Diffüz büyük B hücreli lenfoma

Burkitt lenfoma

T hücreli lenfoma

-Anaplastik büyük hücreli lenfoma, ALK negatif

Ektranodal marjinal zon B hücreli lenfoma

Foliküler lenfoma

Metastatik tümörleri

Klinik paternler

İnflamatuar karsinom

Bilateral meme karsinomu

2.3.2.1 İnvaziv duktal karsinom

İnvaziv meme karsinomları içersinde en sık görülen türdür. İnfiltratif duktal karsinom ya da başka türlü sınıflandırılamayan invaziv duktal karsinom olarak da isimlendirilir. Tümörü oluşturan hücreler, adalar ya da kordonlar şeklinde epitelyal yanaşma gösterirler. Tümör hücrelerinin görünümü çok çeşitli olmakla birlikte, genellikle geniş eozinofilik sitoplazmalı, bir veya birden fazla nükleol içeren pleomorfik nükleuslardan oluşmaktadır. Mitoz değişken sayılardadır. Olguların yaklaşık %80'ine DKİS odakları eşlik eder. Stromal komponent değişkendir; fibroblastik proliferasyondan zengin sellüler görünüm, damarlar çevresinde elastozis odakları olabileceği gibi, belirgin hyalinizasyon da görülebilmektedir.Fokal nekroz odakları bulunabilir. Az sayıda olguda lenfoplazmositer hücre infiltrasyonu görülebilir[21]. Bir tümörün invaziv duktal karsinom olarak isimlendirilmesi için, tümörün %50'den fazlasının spesifiye edilemeyen paternde olması gerekir. Eğer duktal komponent tümörün %10-49'unuoluşturuyor ve geri kalanı belli bir tip invaziv karsinom özellikleri gösteriyor ise mikst tipteinvaziv meme karsinomu olarak isimlendirilmelidir [1] .

2.3.2.2 İnvaziv lobüler karsinom

Tüm invaziv meme tümörlerinin %5-15'ini oluşturmaktadır [22]. Solid, alveoler, pleomorfik,histiositoid, tübülolobüler alt tipleri tanımlanmış olmakla birlikte, en sık klasik türde görülmektedir. Klasik invaziv lobüler karsinom küçük, yuvarlak ya da oval nukleuslu, plazmositoid görünümlü, nükleolü belirsiz, intrasitoplazmik lümen içeren hücrelerden oluşmaktadır. Mitoz sık olmayıp, hücreler kollajen fasikülleri arasında tek sıralı kordonlar oluşturmakta, duktus ve damarlar çevresinde hedefe benzer şekilde targetoid dizilim göstermektedir. İnvaziv lobüler karsinomlar %70-80 ER, % 60-70 PR pozitif immünprofile sahiptir. HER2 aşırı ekspresyonu ve amplifikasyonu nadirdir.Benzer şekilde p53, bazal ve myoepiteliyal belirteçlerin ekspresyonu da nadir olarak izlenir. Ki-67 proliferasyon indeksi genellikle düşüktür[23]. Klasik lobüler karsinomda, hücrelerin diskoheziv görünümünden sorumlu e-kaderin ekspresyon kaybı genellikle izlenir[24].

Solid tür, klasik lobüler karsinom morfolojisine benzeyen diskoheziv küçük hücrelerden oluşmasına karşın, hücreler daha pleomorfik olup daha fazla sayıda mitoz izlenmektedir. Diskoheziv tümör hücreleri solid, diffüz dağılım gösterirler. Alveoler türde,tümör hücreleri en az 20 hücreden oluşan globülertopluluklar şeklinde dizilim göstermektedir[25]. Pleomorfik invaziv loüler karsinomda tümörü oluşturan hücrelerde belirgin nükleer atipi,pleomorfizm ve yüksek mitoz sayısı nedeniyle yüksekhistolojik derece saptanmaktadır [26]. Tübülolobüler tipte, klasik invaziv lobüler karsinom alanlarına eşlik eden, küçük tübüllerden oluşan tübüler karsinom alanları mevcuttur. Meme tümörleri içersinde en iyi prognoza sahip olanların, invaziv tübülolobüler karsinom olduğu düşünülmektedir[27].

2.3.2.3 Tübüler karsinom

Pür tübüler karsinom, invaziv meme karsinomlarının yaklaşık %2' sini oluşturur[28-30]. Bu tümörler invaziv duktal karsinoma göre daha küçük boyutta olup, daha az lenf nodu tulumu ve lenfovasküler aralık invazyonu göstermektedir. Klinik gidişleri de invaziv duktal karsinoma göre daha iyidir[29, 31, 32]. Yaklaşık %10-20 oranında multifokal olabilecekleri rapor edilmiştir[33, 34].Tipik olarak tek tabakalı epitel ile döşeli, lümeni açık, oval ya da köşeli tübül yapılarından oluşan tümörlerdir. Tübüler karsinom tanısı için, bu tübül yapılarınıntümörün en az % 90'ını oluşturması gerekmektedir. Tümör hücreleri küçük veya orta boyutta, düzgün sınırlı olup, hafif pleomorfizm ve az sayıda mitoz izlenebilir. Nükleoller belirsizdir. Olguların yaklaşık 1/3'ünde apikal snoutlar görülebilmekle birlikte patognomonik

değildir. Tübüllerin myoepitelyal hücre içermemesi, tübül çevresinde devamlılık göstermeyen bazal membran bulunması, skleroze adenozis yanı sıra mikroglandüler adenozis ve radial skardan ayırımda yardımcı olur. Bu tümörler hemen her zaman ER ve PR pozitif olup HER-2 ve EGFR negatiftir. Aksiller lenf düğümü tutulumu nadirdir. Saf tübüler karsinomlar iyi prognoza sahiptir[35].

2.3.2.4 İnvaziv kribriform karsinom

Bu tümörler, %90' dan fazlası elek benzeri paternde belirgin kribriform boşluklar oluşturan adalar şeklinde dizilim gösteren tümörlerdir. Oldukça iyi prognozlu olan bu tümörlertüm invaziv meme kanserlerinin %0,3-0,8'ini oluştururlar[36].İnvaziv kribriform karsinomlarda, ER ve PR yüksek oranda pozitif olup, HER2 aşırı ekspresyonu izlenmez. Ayırıcı tanıda adenoid kistik karsinom, iyi diferansiye nöroendokrin tümörler ve yaygın kribriform patern gösteren in situ duktal karsinom yer almaktadır [37, 38].

2.3.2.5 İnvaziv medüller karsinom

BRCA1 germline mutasyonu içeren hastalarda %13 oranındamedüller karsinom varlığı bildirilmektedir [39, 40]. Düzgün sınırlı olan bu tümörler, sinsityal büyüme paterni ve belirgin lenfoid infiltrasyon gösteren, yüksek nükleer dereceli tümörlerdir. Medüller karsinom, tümmeme karsinomlarının %1'den azını oluşturur. Görülme yaşı ortalama 45-52 yaş arasındadır. Bununla birlikteolguların %26'sı 35 yaş altında tanı alır[41-44]. Tanı kriterleri; sinsityal büyüme paterninin tümörün %75'inden fazlasında görülmesi, tümörün sınırlarının belirgin veya itici özelliklere sahip olması, tubuler diferansiasyonunolmaması, belirgin ve diffüz lenfoplazmasitik stroma infiltrasyonu, bir veya birkaç nükleoliçeren yüksek dereceye sahip veziküler nükleuslu, geniş sitoplazmalı pleomorfik tümör hücrelerinden oluşmasıdır. Mitoz çok sayıdadır ve atipik dev hücreler bulunabilir. Nekroz ve hemoraji sıktır. Bu tanı kriterlerinin tamamını karşılamıyor ise atipik medüller karsinom olarak adlandırılır[45, 46].Bu tümörler sıklıkla ER, PR, HER2 negatiftir [47-49].

2.3.2.6 Apokrin Karsinom

Apokrin karsinom tüm meme karsinomları içersinde % 4 oranında görülür[50]. Mikroskopik olaraktümör hücreleri geniş eozinofilik, granüler veya köpüksü sitoplazmalı olup nükleolleri belirgindir.Hücreler d-PAS pozitiftir. İmmünhistokimyasal olarak ER ve PR sıklıkla negatif olup, HER2 pozitif veya negatif olabilir. GCDFP15 ve androjen reseptör pozitifliği, BCL-2 negatifliği de izlenebilir[51].Sağ kalım oranları ve klinik gidişatları invaziv duktal karsinom ile benzerlik göstermektedir [52, 53].

2.3.2.7 Müsinöz Karsinom

Saf müsinöz karsinom tüm meme karsinomlarının %2'sini oluşturmaktadır. Sıklıkla 55 yaş üzeri hastalarda görülür. Fibröz septalar ile bölünmüş mukus gölcüğü içinde yüzen dar eozinofilik sitoplazmalı, tekdüze yuvarlak nükleuslu tümör hücre gruplarından oluşurlar. Nükleer atipi beklenmez. Nöroendokrin farklılaşma gösterebilirler. Müsinöz karsinomlar yüksek oranlarda ER ve PR pozitiftir[54]. Pür müsinöz karsinomların rekürrens oranı düşük olup, on yıllık sağ kalım oranları %80-100 civarındadır[55].

2.3.2.8 Taşlı Yüzük Hücreli Karsinom

Bu tümörler,nükleusu kenara iten, intrasellüler müsin içeren taşlı yüzük hücreli morfoloji ile karakterize olan tümörlerdir. Yaygın ya da dominant taşlı yüzük hücreli morfoloji nadir olup, sıklıkla fokal taşlı yüzük hücreli diferansiyasyon izlenir.

2.3.2.9 İnvaziv papiller karsinom

İnvaziv komponentte %90'ın üzerinde düzensiz papiller morfolojinin izlendiği tümörlerdir. Mikroskopik olarak fibrovasküler kor içeren papiller yapılar izlenir. Gerçek invaziv papiller karsinomlar oldukça nadirdir. Diğer organların papiller karsinom metastazları da ayırıcı tanıda akılda tutulmalıdır[1]. Bununla birlikte, solid papiller karsinom, enkapsüle papiller karsinom gibi tümörler de invaziv papiller karsinom ayırıcı tanısında yer almaktadır.

2.3.2.10 İnvaziv mikropapiller karsinom

İnvaziv meme karsinomları içersinde pür invaziv mikropapiller karsinom oranı %0,9-2,0'dir[56-58]. Santral fibrovasküler kor içermeyen, stromada boş lakünler içerisinde yer alan, küçük mikropapiller topluluklardan oluşan tümörlerdir. Nükleer pleomorfizm orta derecede, mitotik aktivite düşüktür. Nekroz ve lenfositik infiltrat nadirdir. İnvaziv mikropapiller karsinomlar yaygın lenfovasküler invazyon ve lenf nodu metastazı yapma eğiliminde olan tümörlerdir ve genel sağ kalım oranları düşüktür[1, 59-61].

2.3.2.11 Nöroendokrin diferansiyasyon gösteren karsinomlar

İnvaziv meme karsinomlarının %1'den azını oluştururlar. En sık 6. ve 7. dekadlarda görülürler[62]. Nöroendokrin karsinom tanısı için tümör hücrelerinin nöroendokrin belirteçler ile pozitif olması gerekir. Memenin primer nöroendokrin tümörleri gastrointestinal sistem ve akciğerdeki nöroendokrin tümörlere benzer morfolojidedir[1].

2.4 Metaplastik karsinomlar

Metaplastik meme karsinomları, tüm meme kanserlerinin %1'den azını oluşturan heterojen bir grup malign tümördür [63]. Epitelyal veya mikst epitelyal, mezenkimal komponentleri içerirler. Tümör hücreleriskuamoid ya da iğsi hücreli morfolojiye sahip olabileceği gibi, kondroid, osseöz, rabdoid gibi mezenkimal diferansiasyon da gösterebilirler[1].

Metaplastik meme karsinomlarının %90'dan fazlası ER, PR, HER2/neu negatif iken [4, 7-9], bazal benzeri belirteçler olan CK5/6, CK14, epidermal growth faktör reseptör (EGFR) ile sıklıkla pozitif boyanma gösterirler [64-67]. p63 immunhistokimyasal belirteci, metaplastik meme karsinomlarının %90'dan fazlasında pozitif olarak rapor edilmiştir, ki bu da diğer iğsi hücreli ve mezenkimal tümörlerin ayırıcı tanısında yararlı olabilir [66, 68, 69].

Metaplastik meme karsinomlarında görülen fenotipik değişiklikler, memenin normal myoepitelyal hücreleri veya glandüler epitelyal hücrelerinde görülmeyen genotipik özelliklerin ekspresyonunu temsil eder. Bugün için metaplastik meme karsinomlarının patogenezi henüz aydınlatılamamış olmakla birlikte, bu tümörlerdeki intratümöral fenotipik çeşitliliği açıklamaya yönelik bazı teoriler vardır. Bunlar; epitelyal-mezenkimal geçiş teorisi, meme kanseri kök hücre teorisi ve myoepitelyal hücre orijini teorisidir. Bu teoriler genetik ve

non-genetik mekanizmalarla, karsinomatöz komponentin sarkomatöz komponente transformasyonunu içerir[70].

1) Epitelyal-mezenkimal geçiş teorisi: Bu teoriye göre her iki komponent de kanser kök hücre/multipotent progenitor hücre, myoepitelyal hücre ya da myoepitelyal progenitor hücrelerden kaynaklanabilir [71, 72]. Hücreler e-kaderin kaybı, epitelyal belirteçlerin baskılanması ve mezenkimal belirteçlerin (vimentin, düz kas aktini gibi) upregülasyonu sonucu fibroblast benzeri iğsi hücre morfolojisi kazanırlar, metastaz ve invazyon potansiyelleri artar [73]. Snail, hücre siklusu blokajında rol alan bir transkripsiyon faktörü olup, ekspresyon artışı hücrelerin ölüme direnç kazanmasına yol açar[74]. Snail nükleer ekspresyonu ve bununla ilişkili olarak e kaderin kaybı, metaplastik meme karsinomlarında izlenmektedir. Snail, sensivitesi yüksek bir belirteç olmasına karşın metaplastik meme karsinomlarına spesifik değildir. Memenin myofibroblastom, filloid tümör ve psödoanjiomatöz stromal hiperplazi gibi diğer iğsi hücreli lezyonlarında pozitif saptanabilir [75]. Meme kanserlerinde ayrıca, invazyon ve metastaz gelişiminde rolü olan bir transkripsiyon faktörü, Twist'in aşırı ekspresyonu söz konusudur. Twist'in tümör invazyon ve metastazında e-kaderin ilişkili hücre adezyon kaybını indüklediği ve epitelyal hücrelerde epitelyal mezenkimal dönüşümü sağladığı öne sürülmektedir[76].

2) Meme kanseri kök hücre teorisi: Kök hücreler kendi kendini yenileme kapasitesine, çoklu hücre tiplerine farklılaşma, sınırsız bölünebilme özelliğine sahip olan hücrelerdir. Üç tür kök hücre vardır: totipotent, pluripotent ve multipotent kök hücreler. Totipotent kök hücreler,bütün vücudun tüm organ ve dokularına dönüşebilme özelliğine sahip olan hücrelerdir. Bu hücreler ileri evrelerde pluripotent hücrelere dönüşürler. Pluripotent hücreler, totipotentler gibi tüm vücut hücrelerine dönüşmezler. Ancak endoderm, ektoderm ve mezodermden farklılaşan vücudun birçok hücresine dönüşebilecek yeteneğe sahiptirler.

Multipotent hücreler ise gelişimin daha ileri evresine ait hücrelerdir ve özelleşmiş hücre tiplerine farklılaşabilirler. Mezenkimal kök hücreler ve yetişkin kök hücrelerin çoğu bu gruptandır. Yetişkin kök hücreleri, yetişkinlerde farklılaşmış dokularda bulunan ve ölen ya da hasar gören hücreleri yenileme kapasitesine sahip farklılaşmamış hücre grubudur.Kök hücreler çeşitli değişim aşamalarından geçerek diferansiye hücrelere köken oluştururlar. Normal kök hücreler,spesifik dokularda az miktarda bulunur ve izole edilebilen yüzey belirteçlerini (CD44+/CD24-) eksprese ederler.

Kök hücreler, kendini yenileyebilme veya farklılaşma özelliklerini kontrol etmek için birçok sinyal yolağını kullanırlar. Bu yolaklar kök hücrelerde sıkı bir şekilde kontrol altında tutulur. Bu yolakların olağan dışı etkinlik kazanması, kanser kök hücrelerinin ortaya çıkışına neden olur. Bu yolaklar Wnt/β-catenin, Sonic Hedgehog, Notch, PI3K/Akt/mTOR'dur.

Kök hücre hipotezine göre; kanserler onkogenik transformasyona uğrayan normal kök hücreler, progenitör kök hücreler ya da diferansiye olmuş kök hücreden meydana gelirler. Tümörü oluşturan küçük odak ortaya çıktıktan sonra, bunu izleyen mutasyonlar, genetik ve epigenetik değişiklikler ile yeni hücre klonları gelişir ve tümör odağı büyür.

Meme kanseri kök hücre hipotezine göre ise bu tümörler, CD24 (negatif), CD44 (pozitif) fenotipe sahiptir (16). Snail, Twist, TGF-beta gibi transkripsiyon faktörleri, meme epitelyal hücrelerinin mezenkimal karakter kazanmasına ve kök hücre belirteçlerini (CD44+/CD24-) eksprese etmesine neden olur, buna bağlı olarak da hücreler immortal özellik kazanırlar[77].

3) Myoepitelyal hücre orijini teorisi: Metaplastik meme karsinomlarında myoepitelyal hücre orijini teorisi, duktusların çevresindeki myoepitelyal hücrelerin proliferasyonu ve metaplastik değişikliklerini içerir[69]. CD10, p63, S100, SMA, mapsin normal memedeki myoepiteliyal belirteçler olup, metaplastik meme karsinomlarında ekspresyonları artmış olarak saptanır.

Bu hipotezlerin herbirini destekleyen çeşitli veriler olmakla birlikte, herhangi birinin metaplastik meme karsinomunun altta yatan nedeni olduğuna ilişkin bir görüş birliği yoktur. Metaplastik meme kanserleri, konvansiyonel adjuvan kemoterapiye daha az yanıt veren ve diğer üçlü-negatif meme kanserlerinden daha kötü klinik gidiş gösteren tümörlerdir[70]. Bu hastalar için potansiyel hedef tedavilerin saptanması son derece önemlidir. Günümüzde optimal bir tedavi rejimi bulunmayan metaplastik karsinomlar, benzer evredeki invaziv duktal karsinomlardan daha kötü prognoza sahiptirler [78].

Metaplastik meme kanserlerinde moleküler özellikler

PI3K/Akt yolağı hücresel metabolizmanın kontrolünde, özellikle glukoz transportu ve kullanımı, hücre büyümesinin regülasyonu, protein biyosentezi ve apoptozu önlemede fonksiyon görür. PTEN, tümör baskılayıcı gendir ve 10. kromozom üzerinde yer almaktadır. PTEN inaktivasyonu, PI3K/Akt yolağında genetik değişiklikler, insan kanserlerinde sıkça görülmektedir. Meme kanserlerinde PIK3CA somatik mutasyonları tanımlanmış olup, bu mutasyonlar kolon adenokarsinomları, endometrial adenokarsinomlar ve glioblastomda da tarif edilmiştir. Bu mutasyonlar, büyüme faktörleri yokluğunda PI3K/Akt yolağında sinyal

oluşmasına neden olur. Mutant PIK3CA ekspresyonu, meme epiteliyal hücrelerinde büyüme faktörlerinden bağımsız proliferasyona ve apoptoz direncine yol açar[79]. Hennessy ve arkadaşları, metaplastik meme karsinomlarının %47'sinde PI3K/Akt yolağında mutasyon bulmuşlardır, ki bu da metaplastik meme karsinomlarında PI3K/Akt yolağındaki değişikliklerin önemli rol oynadığını göstermektedir[80].

P53,kromozom 17p13.1'de lokalize tümör supresör gendir. DNA onarımı, hücre siklusunun kontrolü ve apoptozda rol oynar. p53 genindeki mutasyon ve delesyonlar, insan kanserlerinde en sık rastlanan değişiklikler olup, %50' den fazla oranda görülürler[81, 82].P53 hücre siklusunun durdurulmasına ve apoptoza aracılık eden çeşitli genlerin transkripsiyonunu uyarır. Tüm meme karsinomlarının yaklaşık %20-40'ında, özellikle de üçlü-negatif meme karsinomlarında, p53 değişiklikleri izlenir.İmmünhistokimyasal analiz ile p53 aşırı ekspresyonu saptanabilir; metaplastik meme karsinomlarından skuamöz diferansiyasyon gösterenlerin %66'sında görülmüştür[83]. Lien ve arkadaşları, 14 metaplastik meme karsinomlu olgunun %71'inde aşırı ekspresyon saptamakla birlikte, p53 mutasyonunu,“direct-sequencing” yöntemi ile 10 olgunun sadece 4'ünde tespit edebilmişlerdir. Bu araştırmacılar, aynı p53 mutasyonunu, sarkomatöz ve karsinomatöz komponentlerde ve bir in situ karsinom olgusunda da bulmuşlardır. Bu da, erken p53 mutasyonunun, tümör progresyonunun baştan sona sürdürülmesinde rolünü ortaya koymaktadır[84]. Geyer ve arkadaşlarıda benzer sonuçlar bulmuşlardır; metaplastik meme karsinomlu 6 olgunun 3'ünde p53 aşırı ekspresyonunu immünhistokimyasal analiz ile tespit etmişler, ancak sadece 2 olguda p53 mutasyonunu "direct-sequencing" yöntemi ilegöstermişlerdir[71]. Hennessy ve arkadaşları da 19 metaplastik meme kanseri vakasının %32'sinde p53 mutasyonu bulmuşlardır [80].

Wnt sinyal yolağı, embriyolojiik gelişim, hücre proliferasyonu, hücre adezyonu, hücre polaritesinin korunması, apoptoz ve tümörogeneziste önemli role sahiptir[85, 86].Kromozom 5q21’de lokalizeAPC proteini,Wnt sinyal iletim ara yolunda yer alır. APC geninin önemli bir fonksiyonu,β-katenini downregüle etmesidir. APC, Wnt sinyalinin olmaması durumunda β-kateninin degradasyonuna yol açarak sitoplazmada birikmesini önler.APC geninin inaktivasyonu, β-kateninin hücrede birikmesine ve nükleusa transloke olmasına neden olur.APC kaybında, hücre sürekli Wnt sinyali varmış gibi davranır ve serbest β-kateninin fazlalığı ortaya çıkar.β-katenin hücre siklusunda c-MYC, SİKLİND1 ve diğer genlerin transkripsiyonunu artırır.Hücresel proliferasyonu uyaran bir transkripsiyon faktörü olan TCF ile kompleks oluşturur.

Wnt /β-katenin yolağındaki hiperaktivasyon, birçok insan kanserinde tanımlanmış olmakla birlikte[87]meme kanserlerinde nadirdir[86]. Hayvan çalışmaları, endojen β-kateninin gen mutasyonunun meme bezlerinde skuamöz metaplaziye neden olduğunu göstermektedir[88]. Aynı zamanda Wnt yolağındaki aktivasyon, epiteliyal mezenkimal geçişte rol oynar[89]. Meme kanserlerinde β-katenin ekspresyonunun artması, SiklinD1 aşırı ekspresyonu ve kötü klinik gidişat ile korele bulunmuştur[86, 90].

Epidermal growth faktör reseptör (EGFR),kromozom 7p11.2'de lokalize bir transmembran tirozin kinaz reseptörüdür.EGFR, proliferasyon ve apoptozisi düzenleyen sinyallerin iletim yollarını kontrol eden hücre yüzey reseptörü tirozin kinazlarınErbB familyasının bir üyesidir. EGFR gen mutasyonu, liganddan bağımsız tirozin kinaz aktivitesine, hücre proliferasyonuna ve hücrelerde neoplastik transformasyona neden olur[91]. EGFR aşırı ekspresyonu metaplastik meme karsinomlarının %80'inde görülmektedir. Bu olguların %23-37'sinde EGFR amplifikasyonu in situ hibridizasyon yöntemi ile saptanmıştır[67, 92]. Özellikle skuamoid ve iğsi hücreli diferansiyasyon gösteren tümörlerde EGFR amplifikasyonu bulunmuştur[67, 93]. Bu bulgu, hedefe yönelik tedavide tirozin kinaz inhibitörlerinin kullanımı açısından önemlidir. EGFR aşırı ekspresyonunun mekanizması hala net olarak bilinmemektedir[67, 92].

2.5 Moleküler sınıflama

Luminal A: Östrojen ve progestron reseptörü pozitif, HER2 negatif tümörlerdir. Bu tümörlerde, normal luminal hücrelere özgü olduğu düşünülen transkripsiyon genlerinde artış görülmektedir. Bu gruptaki tümörler sıklıkla postmenapozal kadınlarda izlenmekte olup, çoğu iyi-orta derecede diferansiye olan, genellikle yavaş büyüyen ve hormonal tedaviye iyi yanıt veren tümörlerdir[94].

Luminal B: Östrojen reseptörü, progestron reseptörüve HER2 pozitif tümörlerdir. Genellikle, Luminal A tümörlere göre daha yüksek dereceli, agresif klinik gidişli ve daha kötü prognozludurlar. Proliferasyon oranı ve kemoterapiye yanıt verme olasılığı Luminal A tümörlere göre daha yüksektir. Lenf nodu metastazı yapmaya eğilimlidirler[94].

Her2 pozitif: Östrojen ve progestron reseptörleri negatif, HER2 pozitif olan tümörlerdir. Genellikle az diferansiye tümörler olup, daha agresif klinik gidişlidirler ve kötü prognozgösterirler. Yüksek proliferasyon oranına sahiptirler, multipl lenf nodu tutulumu ve beyin metastazı yapabilirler. Trastuzumab tedavisine ve kemoterapiye iyi yanıt verirler[94].

Bazal benzeri: Bu grup tümörler, tüm meme tümörlerinin %15-20'sini oluşturmaktadır. Daha genç yaşta ve premenapozal kadınlarda görülen bu tümörler genellikleER, PR, HER2 negatif olup 'üçlü-negatif fenotip' olarak isimlendirilirler. Bazal benzeri karsinomların tümü üçlü-negatif olmadığı gibi, tüm üçlü-negatif karsinomların da bazal benzeri alt tipinde olmadığı saptanmıştır[95, 96]. Bazal benzeri fenotipteki meme karsinomlarının en fazla %85'inde üçlü-negatiflik izlenmektedir. Medüller karsinomların %95'inin, BRCA1 ilişkili tümörlerin ise %88'inin bazal benzeri gen profiline sahip olduğu gösterilmiştir[97]. Bu tümörler, EGFR (HER1) aşırı ekspresyonu/gen amplifikasyonu gösterebilirler. Diğer subtiplere göre daha yüksek BRCA1 ve p53 mutasyon oranları ile ilişkilidirler. Genellikle yüksek dereceli, agresif klinik gidişli olan bu tümörlerde visseral ve beyin metastazları sık olarak izlenir. BRCA1 mutasyonu olan kadınların çoğunda gelişen karsinomlar, bazal benzeri alt tiptedir. Bu grup içersindeki tümörler;başka türlü spesifiye edilemeyen invaziv duktal karsinom, medüller/atipik medüller karsinom, metaplastik karsinom, sekretuar karsinom, myoepitelyal karsinom ve adenoid kistik karsinomdur[98, 99]. Bazal benzeri meme karsinomları bir veya daha fazla bazal sitokeratin eksprese etmektedir. Sitokeratin 5/6 ve sitokeratin 14 pozitif saptanabilir. Bazal benzeri meme karsinomlarının bir kısmında luminal keratinler (sitokeratin 7 ve sitokeratin 8/18, sitokeratin 19) ile de pozitiflik görülmektedir[98, 100, 101]. Bazılarında SMA, p63 veya CD10 ekspresyonunun olduğu myoepitelyal farklılaşma saptanmaktadır[102]. Çoğu çalışma, bazal benzeri meme karsinomlarının kötü prognoz ile ilişkili olarak, başta beyin ve akciğer olmak üzere uzak organ metastazlarının sık olduğunu ve relapsların daha erken görüldüğünü bildirmektedir [99, 103].

III. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Araştırmanın şekli

Bu çalışma, bölümümüzde metaplastik meme kanseri tanısı almış olgularımızda, hembazal benzeri fenotip ve üçlü-negatif oranını belirlemeye, hem de immunhistokimyasal analiz ile patogenezi aydınlatmaya yönelik,retrospektifklinikopatolojik bir çalışmadır.

3.2 Hastaların Seçimi

Bu çalışmada, 1994-2014 yılları arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı alan ve Genel Cerrahi, Radyasyon Onkolojisi ve Tıbbi Onkoloji Anabilim Dalları'nda takibi olan, 30 metaplastik meme karsinomu olgusu ile kontrol grubu olarak benzer evrede 30 invaziv duktal karsinom olgusu ele alındı. Olgular yeniden değerlendirilerek tanıları doğrulandı.

3.3 Verilerin Toplanması

Hastalara ait demografik verilere (yaş, cinsiyet)patoloji raporlarından; patolojik verilere (tümör boyutu, histolojik tür ve derecesi, lenfovasküler ve perinöral invazyon, aksiller lenf nodu metastazı, perikapsüler invazyon durumu, hormon reseptörleri ve HER2 durumu) patoloji raporları ile birlikte preparat revizyonundan; klinik bilgilere (lokal/uzak nüks bilgisi, tanı anındaki ve takipteki metastaz, hastalıksız ve genel sağkalım süreleri, hastalığa bağlı ölüm) ise Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi ve Tıbbi Onkoloji Anabilim Dalları'na ait verilerden ulaşıldı.

3.4 İmmünhistokimyasal Yöntem

Tüm olguların %10'luk formaldehit ile tesbit edilenparafin blok kesitleri yeniden değerlendirilerek, herbir olguya ait tümörü en iyi temsil eden bir adet parafin blok seçildi. Bu bloklardan hazırlanan 4 mikron kalınlığındaki kesitler poly-l-lysine kaplı lam üzerine alınarak oda ısısında en az 24 saat bekletildi.

Tümör dokusu içeren kesitlere, aşağıdaki immunhistokimyasal boyalar uygulandı (Tablo 1):

1) Östrojen reseptör (Dako ER-α, Clone EP1)

2) Progesteron reseptör (Dako PR, Clone PgR 636)

3) CERB-B2 (HER2/neu) (Dako Polyclonal Rabbit c-erbB2 oncoprotein kiti; 1/600 dilüsyon)

4) EGFR (Spring Rb Anti EGFR PAb (E18172) kiti; 1/50 dilüsyon)

5) CK5/6 (Dako Clone D5/16 B4)

6) P63 (Dako Clone DAK p63)

7) CD44 (Spring Anti CD44 std mAb (E17362) kiti; 1/50 dilüsyon)

8) CD24 (Abcam ab 31622 mAb to CD24 kiti; 1/25 dilüsyon)

9) E-kaderin (Dako Clone NCH-38)

10) Snail (Abcam Ab 180714 Rb pAb to Snail kiti; 1/200 dilüsyon)

Pozitif kontrol olarak ER, PR, c erb-B2 ve e-kaderin için meme dokusu, EGFR için plasenta, CK5/6 için deri, p63 için prostat dokuları, CD44 için özofagus karsinomu, CD24 için kolon karsinomu, Snail için ise böbrek dokusu kullanıldı.

ER, PR, CK5/6, p63 ve e-kaderin immunboyaları için kullanıma hazır kitler (Ready to Use Link kitleri) kullanıldı; diğer immunboyalarda ise yukarıda belirtilen oranlarda dilüsyon uygulandı.

Tüm immunboyalar Ventana otomotik cihazında, BenchMark XT IHC/ISH Boyama modülü ile XT ultra View DAB v3 prosedürü uygulanarak yapıldı.

İmmunhistokimya boyama protokolü şu aşamaları içermektedir:

1. 75^0C' ye kadar ısıtılıp 4 dakika inkübe edildi.
2. EZPrep hacim ayarı uygulandı, lam çalkalandı.
3. 95^0C'ye kadar ısıtılıp 8 dakika süreyle inkübe edildi.
4. CC orta lamel No BB uygulandı.
5. Isıtıcı devreden çıkartılıp 8 dakika süre ile inkübe edildi.
6. Reaksiyon tamponu ile çalkalandı.
7. Lamel hacmi reaksiyon tamponu ile ayarlandı, kapatıcı uygulandı.
8. 37^0C' ye kadar ısıtılıp 4 dakika süre ile inkübe edildi.
9. Reaksiyon tamponu ile çalkalandı.
10. Lamel hacmi reaksiyon tamponu ile ayarlandı.
11. Bir damla UV inhibitör uygulandı, kapatıcı uygulandı ve 4 dakika süre ile inkübe edildi.
12. Reaksiyon tamponu ile çalkalandı.

13. Lamel hacmi reaksiyon tamponu ile ayarlandı, kapatıcı uygulandı.
14. 37^0C' ye kadar ısıtılıp 4 dakika süre ile inkübe edildi.
15. Reaksiyon tamponu ile çalkalandı.
16. Lamel hacmi reaksiyon tamponu ile ayarlandı.
17. Ana antikor uygulandı, 32 dakika süre ile inkübe edildi. (CD24 için 48 dakika)
18. Reaksiyon tamponu ile çalkalandı.
19. Lamel hacmi reaksiyon tamponu ile ayarlandı.
20. Bir damla UV HRP UNIV MULT uygulandı, kapatıldı ve 8 dakika inkübe edildi.
21. Reaksiyon tamponu ile çalkalandı.
22. Lamel hacmi reaksiyon tamponu ile ayarlandı, kapatıcı uygulandı.
23. Bir damla UV diaminobenzidine (DAB) ve bir damla UV DAB H2O2 uygulandı, kapatıcı uygulandı, 8 dakika süre ile inkübe edildi.
24. Reaksiyon tamponu ile çalkalandı.
25. Lamel hacmi reaksiyon tamponu ile ayarlandı, kapatıcı uygulandı.
26. Bir damla UV COPPER uygulandı, kapatıcı uygulandı, 4 dakika süre ile inkübe edildi.
27. Reaksiyon tamponu ile çalkalandı.
28. Lamel hacmi reaksiyon tamponu ile ayarlandı, kapatıcı uygulandı.
29. Bir damla hematoksilen uygulanarak zemin boyaması yapıldı, kapatıcı uygulandı, 8 dakika süre ile inkübe edildi.
30. Reaksiyon tamponu ile çalkalandı.
31. Lamel hacmi reaksiyon tamponu ile ayarlandı, kapatıcı uygulandı.
32. Reaksiyon tamponu ile çalkalandı.
33. Bir damla bluing reagent (mavi belirteç) uygulandı, kapatıcı uygulandı, 4 dakika süre ile inkübe edildi.
34. Reaksiyon tamponu ile çalkalandı, kapatıcı uygulandı.

3.5 İmmunhistokimyasal Boyamanın Değerlendirilmesi

İmmunhistokimyasal boya uygulanan preparatlar, olguların klinik özellikleri bilinmeden, iki gözlemci (MGD, YŞ) tarafından değerlendirildi. Ekspresyon, tüm tümör alanındaki hücreler dikkate alınarak incelendi. EGFR, CK5/6, E-kaderin, CD24, CD44, Snail ve p63 için, literatürdeki çalışmalara benzer şekilde, %5 ve üzeri hücre boyanması pozitif olarak değerlendirildi. Pozitif boyanma yaygınlığı daha sonra kendi içinde, %5-50 hücrede boyanma

varsa 1+, %50'den fazla hücrede boyanma varsa 2+ olarak kabul edildi. Buna göre olgular hiç boyanmamışsa ya da <%5 zayıf boyanma varsa negatif olarak değerlendirildi.

ER, PR için >%1 hücrede nükleer boyanma pozitif kabul edildi. Boyanma yoğunluğuna göre 1+, 2+, 3+ olarak değerlendirme yapıldı.

HER2/neu ekspresyonunu değerlendirmede, sitoplazmik membran boyanması esas alındı. 2013 ASCO/CAP HER2 değerlendirme klavuzu kullanılarak değerlendirmeler yapıldı [104]:

- Boyanma yok veya ≤%10 tümör hücresinde inkomplet zayıf membran boyanması: negatif

- >% 10 tümör hücresinde inkomplet zayıf membran boyanması: 1(+)

- ≤%10 tümör hücresinde komplet kuvvetli veya >%10 tümör hücresinde inkomplet zayıf/orta düzeyde membran boyanması: 2(+)

->%10 tümör hücresinde komplet kuvvetli membran boyanması: 3(+)

Tablo 1. İmmunhistokimyasal olarak kullanılan antikorların özellikleri

Antikor	Kullanılan Klon	Dilüsyon Oranı	Kontrol Dokusu	Boyanma Paterni
ER	Dako ER-α,clone EP1		Meme	Nükleer
PR	Dako PR, clone PgR 636		Meme	Nükleer
C erb-B2	Dako Polyclonal Rabbit Anti Human c-erbB-2 Oncoprotein	1/600	Meme	Membranöz
EGFR	Spring Bioscience Rb Anti EGFR PAb (E18172)	1/50	Plasenta	Membranöz
CK5/6	Dako cloneD5/16 B4		Deri	Sitoplazmik
p63	Dako clone DAK-p63		Prostat	Nükleer
CD44	Spring Bioscience Anti CD44 std mAb (E17362)	1/50	Özofagus karsinomu	Membranöz
CD24	Abcam ab31622 mAb	1/25	Kolon karsinomu	Sitoplazmik
e-kaderin	Dakoclone NCH-38		Meme	Membranöz
Snail	Abcam ab180714 Rb pAb	1/200	Böbrek	Nükleer yada sitoplazmik

3.6 Verilerin Değerlendirilmesi

Veriler bilgisayar ortamına aktarıldıktan sonra SPSS 15.0 paket programı ile değerlendirildi. Gruplar arasında,immunhistokimyasal belirteçlerin boyanma yaygınlığı yönünden farkın önemliliği, bağımsız grup sayısı iki olduğu için Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi. Belirteçlerin hem birbiriyle,hem de yaş, cinsiyet, tümör boyutu, lenf nodu metastazı,perikapsüler invazyon, lenfovasküler ve perinöral invazyon gibi klinik ve patolojik parametrelerile arasında anlamlı korelasyon olup olmadığı ki-kareve Fisher Kesin testiyle (sayımla belirtilen değişkenler için) araştırıldı. Ölçümle belirtilen değişkenler için, iki grubun ortalamasını karşılaştıran T-testi kullanıldı ve p değeri <0,05 ise, sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

IV. BULGULAR

4.1 Klinik ve patolojik bulgular

Çalışmaya, retrospektif olarak patoloji arşivinden taranarak seçilen, 59'u (%98,3) kadın, 1'i(%1,7) erkek olmak üzere toplam 60 hasta dahil edildi. Bu hastaların 30'u metaplastik karsinom, 30'u invaziv duktal karsinom tanısı almıştı. Hastaların yaş aralığı34-82 olup, yaş ortalaması metaplastik karsinom olgularında 54,8, invaziv duktal karsinom olgularında 56,7'dir. Olguların histopatolojik özellikleri, Tablo II'de özetlenmektedir.

Tümör boyutu 8 mm ile 75 mm arasında değişmekte olup, ortalama tümör boyutu metaplastik karsinom olgularında 28,3 mm, invaziv duktal karsinom olgularında 21,5 mm'dir. Metaplastik karsinom tanısı alan olguların 14'ü (%46,6) skuamöz diferansiyasyon gösteren tür, 4'ü (%13,4) kondroid diferansiyasyon gösteren tür, 3'ü (%10,0) adenoskuamöz tür, 2'si (%6,6) karsinosarkom, 1'i (%3,3) osteoklastik diferansiyasyon gösteren tür, 1'i ise (%3,3) sarkomatöz ve nöroendokrin diferansiyasyon gösteren tür olup, 5'inde (%16,6) alttiplendirme yapılamamıştır (Tablo III). Metaplastik karsinom olgularının çoğu (%83,3) derece III olup, invaziv duktal karsinom olgularının çoğu ise (%60,0) derece I veya II'dir.

Duktal karsinoma insitu, metaplastik karsinom olgularının 13'üne (%43,3) eşlik etmekte olup, çoğunun nükleer derecesi 3'tür. İnvaziv duktal karsinom olgularının ise 26'sına (%86,6) nükleer derece 3 duktal karsinoma insitu eşlik etmektedir. Hem metaplastik karsinom hem de invaziv duktal karsinom olgularının 9'unda (%30,0) lenf nodu metastazı izlenmekte olup, perikapsüler invazyon sırasıyla, 4 ve 7 olguda bulunmaktadır. Her iki grupta da 6'şar hastanın aksiller diseksiyon materyali mevcut değildir. Lenfatik invazyon, vasküler invazyon ve perinöral invazyon, metaplastik karsinom olgularının sırasıyla, 16 (%53,3), 11 (%36,7) ve 3'ünde (%10,0) izlenirken, bu değerler invaziv duktal karsinom olguları için sırasıyla, 17 (%56,7), 7 (%23,3) ve 5 (%16,7) olgudur.

Metaplastik karsinom olgularının 16'sı (%53,3) hem ER ve PR negatif, hem de cerb-B2 negatif/1(+) olup, bu tümörler üçlü-negatif olarak değerlendirildi. İnvaziv duktal karsinom olgularında ise üçlü-negatif hasta sayısı 1 (%3,3) dir. Metaplastik karsinom olgularının 26'sında (%86,6) bazal benzeri fenotip (EGFR ve/veya CK5/6 pozitifliği) izlenmiştir. Tüm hastaların immunhistokimyasal boya sonuçları Tablo IV'te özetlenmektedir.

Metaplastik karsinom tanısı alan hastaların 26'sı, invaziv duktal karsinom tanılı hastaların ise 29'unda takip verilerine ve/veya sağ kalım bilgilerine ulaşılabilmiştir. Düzenli takip verisi

bulunan 23 metaplastik karsinom olgusunda izlem süresi ortalama 58,3 aydır (5-180 ay). Metaplastik karsinom hastalarının 16'sı (%53,3) yaşamakta olup, 10'u (%33,3) ex olmuştur. Bu hastaların 1' inde uzak metastaz (karaciğere) saptanmıştır. Düzenli takip verisi bulunan 23 invaziv duktal karsinom hastasının ortalama izlem süresi 42,2 aydır (10-84 ay). Bu hastaların 25'i (%83,3) yaşamakta olup, 4'ü (%13,3) ex olmuştur ve 2 hastada uzak metastaz (kemik ve plevraya) gelişmiştir. Genel sağ kalım açısından, metaplastik karsinom ve invaziv duktal karsinom olgularımız arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmiştir (p=0,036).

4.2 İstatistiksel bulgular:

Hastalarda tümörün boyutu, histolojik tip ve derecesi, lenf nodu tutulumu, perikapsüler invazyon varlığı, lenfatik ve vasküler damar invazyonu, hormon reseptörlerinin durumu, cerb-B2, p63, CK5/6, EGFR, CD24, CD44, Snail ve e-kaderin immunfenotipleri göz önüne alınarak, herbir parametre iki grup (metaplastik karsinom ve invaziv duktal karsinom) arasında değerlendirildi. Oluşturulan herbir grubun verileri açısından istatistiksel yönden fark bulunup bulunmadığını tespit etmek üzere, istatistiksel analiz yöntemlerinden ki-kare, Mann-Whitney U, FisherKesin testleri ile, ölçümle belirtilen değişkenler için iki grubun ortalamasını karşılaştıran T-testi uygulandı.

Klinik ve patolojik parametreler ile immunhistokimyasal belirteçlere bakıldığında;

- **Histolojik dereceye göre;** Metaplastik meme karsinomu olan hastaların 25'i (%83,3) derece III olup, yalnızca 2'si (%6,7) derece I idi. İnvaziv duktal karsinomu olan hastaların ise 15'i (%50,0) derece II, 12'si (%40,0) derece III olup, 3'ü (%10,0) derece I olarak belirlendi. İki grup arasında histolojik derece yönünden istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunduğu saptandı(p=0,001).
- **Lenf nodu tutulumuna göre;** Hem metaplastik meme karsinomu hem de invaziv duktal karsinomu olan hastaların 15'inde (%50,0) metastaz izlenmezken, iki grupta da 9'ar (%30,0) hastada metastaz belirlendi. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı(p=1,000). Perikapsüler invazyon, metaplastik karsinom olgularında 4 (%13,3), invaziv duktal karsinom olgularında 7 (%23,3) hastada saptanmış olup, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı(p=0,253). Her iki grupta da 6' şar hastanın aksiller lenf nodu mevcut değildi.
- **Lenf damarı invazyonuna göre;** Metaplastik meme karsinomu olan hastaların 16'sında (%53,3), invaziv duktal karsinomu olan hastaların ise 17'sinde (%56,7)

lenfatik invazyon belirlenmiş olup, bu sonuçlara göre iki grup arasında lenf damarı invazyonu yönünden anlamlı ilişki bulunmadı(p=0,795).

- **Vasküler invazyona göre;** Metaplastik meme karsinomu hastalarının 11'inde (%36,7), invaziv duktal karsinomhastalarının ise 7'sinde (%23,3) vasküler invazyon belirlenmiş olup, bu sonuçlara göre iki grup arasında vasküler invazyon yönündenanlamlı ilişki bulunmadı(p=0,260).
- **Perinöral invazyona göre;** Metaplastik meme karsinomu hastalarının 3'ünde (%10,0), invaziv duktal karsinomhastalarının ise 5'inde (%16,7) perinöral invazyon belirlenmiş olup, bu sonuçlara göre de iki grup arasında anlamlı ilişki bulunmadı(p=0,706).
- **DKİS varlığına ve derecesine göre**; Metaplastik meme karsinomu hastalarının 17'sine (%56,7) DKİS eşlik etmezken, invaziv duktal karsinom hastalarının 26'sında (%86,6) eşlik eden DKİS saptanmıştır. Bu durum, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki göstermektedir(p=0,030). DKİS'nun eşlik ettiği metaplastik karsinom olgularının çoğunun (%76,9) nükleer derecesi III iken, invaziv duktal karsinomu olan hastaların çoğu (%53,8) nükleer derece I veya II idi (p=0,033).
- **Östrojen reseptör durumuna göre;** Metaplastik meme karsinomu olan hastaların 26'sında (%86,7), invaziv duktal karsinomu olan hastaların ise 3'ünde (%10,0) ER ile boyanma izlenmemiş olup, iki grup arasında anlamlı ilişki bulunduğu saptandı(p<0,001).
- **Progesteron reseptör durumuna göre;** Metaplastik meme karsinomu olan hastaların 22'sinde (%73,3), invaziv duktal karsinomu olan hastaların ise 8'inde (%26,7) PR ile boyanma izlenmemiştir. PR durumuna göre de iki grup arasında anlamlı ilişki saptandı(p<0,001).
- **CERB-B2 durumuna göre;** Metaplastik meme karsinomu olan hastaların 26'sında (%86,6), invaziv duktal karsinomu olan hastaların ise 22'sinde (%76,3) cerb-B2 negatif veya 1(+) saptanmıştır. İki grup arasında cerb-B2 durumuna göre anlamlı ilişki yoktur(p=0,405).
- **EGFR durumuna göre;** Metaplastik meme karsinomu olan hastaların 21'inde (%70,0) EGFR fokal ya da diffüz pozitif, invaziv duktal karsinomu olan hastaların ise 29'unda (%96,7) EGFR negatif saptanmıştır. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki vardır (p<0,001).

- **CK5/6 durumuna göre;** Metaplastik meme karsinomu olan hastaların 19'unda (%63,3) CK5/6 fokal ya da diffüz pozitif iken, invaziv duktal karsinomu olan hastaların 29' unda (%96,7) CK5/6 negatif saptanmıştır. Bu sonuçlara göre de iki grup arasında anlamlı ilişki vardır ($p<0,001$).
- **p63 durumuna göre;** Metaplastik meme karsinomu olan hastaların 19'unda (%63,3) p63 ile fokal ya da diffüz boyanma izlenirken, invaziv duktal karsinomu olan hastaların 28'inde (%93,3) p63 negatif saptanmıştır. Bu bulgu da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$).
- **CD44 durumuna göre;** Metaplastik meme karsinomu olan hastaların tümünde CD44 ile fokal ya da diffüz pozitiflik izlenirken, invaziv duktal karsinomlu hastaların 7'sinde (%23,3) CD44 ile boyanma olmamıştır. Bu sonuçlara göre iki grup arasında anlamlı ilişki bulunduğu saptanmıştır($p<0,001$).
- **CD24 durumuna göre;** Metaplastik meme karsinomu olan hastaların 14'ünde (%46,7) CD24 ile boyanma izlenmezken, invaziv duktal karsinomlu olguların tümünde CD24 fokal ya da diffüz pozitiftir. Bu sonuçlara göre iki grup arasında anlamlı ilişki bulunduğu saptanmıştır($p<0,001$).
- **E-kaderin durumuna göre;** Hem metaplastik meme karsinomu hem de invaziv duktal karsinomu olan hastaların çoğunda, sırasıyla %90,0 ve %96,7, e-kaderin ile fokal ya da diffüz pozitiflik izlenmiş olup, bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0,170$).
- İncelenen diğer parametreler olan cinsiyet, tümör boyutu, snail ekspresyonu açısından iki grup arasında anlamlı ilişki görülmedi.

Tablo 2. Tüm olgulardaki histopatolojik bulguların özeti

	MK n=30 (%)	İDK, NOS n=30 (%)
Tümör derecesi		
Derece 1	2 (6,7)	3 (10,0)
Derece 2	3(10,0)	15 (50,0)
Derece 3	25 (83,3)	12 (40,0)
Lenf nodu metastazı		
Yok	15 (50,0)	15 (50,0)
Var	9 (30,0)	9 (30,0)
N/A	6 (20,0)	6 (20,0)
Perikapsüler invazyon		
Yok	20 (66,7)	17 (56,7)
Var	4 (13,3)	7 (23,3)
N/A	6 (20,0)	6 (20,0)
Lenfatik invazyon		
Yok	14 (46,7)	13 (43,3)
Var	16 (53,3)	17 (56,7)
Vasküler invazyon		
Yok	19 (63,3)	23 (76,7)
Var	11 (36,7)	7 (23,3)
Perinöral invazyon		
Yok	27 (90,0)	25 (83,3)
Var	3 (10,0)	5 (16,7)
DKİS		
Yok	17 (56,7)	4 (13,3)
Var	13 (43,3)	26 (86,6)
*Derece 1	0 (0)	4 (13,3)
*Derece 2	3 (10,0)	10 (33,3)
*Derece 3	10 (33,3)	12 (40,0)

Kısaltmalar: MK: metaplastik karsinom, İDK NOS: başka türlü spesifiye edilemeyen invaziv duktal karsinom, N/A: belirlenemeyen, DKİS: duktal karsinoma insitu.

Tablo 3. Metaplastik karsinom olgularının histolojik alttürleri

Histolojik alttür	n (%)
Skuamöz diferansiyasyon gösteren	14 (46,6)
Spesifik olmayan tür	5 (16,6)
Kondroid diferansiyasyon gösteren	4 (13,4)
Adenoskuamöz	3 (10,0)
Karsinosarkom	2 (6,6)
Sarkomatöz ve nöroendokrin diferansiyasyon gösteren	1 (3,3)
Osteoklastik diferansiyasyon gösteren	1 (3,3)

Tablo 4. Tüm olgulardaki immunhistokimyasal bulguların özeti

	MK n=30 (%)	İDK, NOS n=30 (%)
ER		
Negatif	26 (86,7)	3 (10,0)
Pozitif	4 (13,3)	27 (90,0)
1+	3 (10,0)	3 (10,0)
2+	0 (0)	2 (6,7)
3+	1 (3,3)	22 (73,3)
PR		
Negatif	22 (73,3)	8 (26,7)
Pozitif	8 (26,7)	22 (%3,3)
1+	4 (13,3)	0 (0)
2+	2 (6,7)	7 (23,3)
3+	2 (6,7)	15 (50,0)
HER2		
Negatif	22 (73,3)	19 (66,3)
Pozitif	8 (26,7)	11 (36,7)
1+	4 (13,3)	3 (10,0)
2+	3 (10,0)	3 (10,0)
3+	1 (3,3)	5 (16,7)
EGFR		
Negatif	9 (%30)	29 (%96,7)
Fokal pozitif	8 (%26,7)	1 (%3,3)
Diffüz pozitif	13 (%43,3)	0 (0)
CK5/6		
Negatif	11 (36,7)	29 (96,7)
Fokal pozitif	10 (33,3)	1 (3,3)
Diffüz pozitif	9 (30,0)	0 (0)
p63		
Negatif	11 (36,7)	28 (93,3)
Fokal pozitif	7 (23,3)	2 (6,7)
Diffüz pozitif	12 (40,0)	0 (0)
CD44		
Negatif	0 (0)	7 (23,3)
Fokal pozitif	3 (10,0)	2 (6,7)
Diffüz pozitif	27 (90,0)	21 (70,0)
CD24		
Negatif	14 (46,7)	0 (0)
Fokal pozitif	7 (23,3)	2 (6,7)
Diffüz pozitif	9 (30,0)	28 (93,3)
E-kaderin		
Negatif	3 (10,0)	1 (3,3)
Fokal pozitif	1(3,3)	0 (0)
Diffüz pozitif	26 (86,7)	29 (96,7)

Kısaltmalar: MK: metaplastik karsinom, İDK NOS: başka türlü spesifiğe edilemeyen invaziv duktal karsinom, ER: östrojen reseptör, PR: progesteron reseptör, EGFR: epidermal büyüme faktör reseptörü, CK5/6: sitokeratin 5/6.

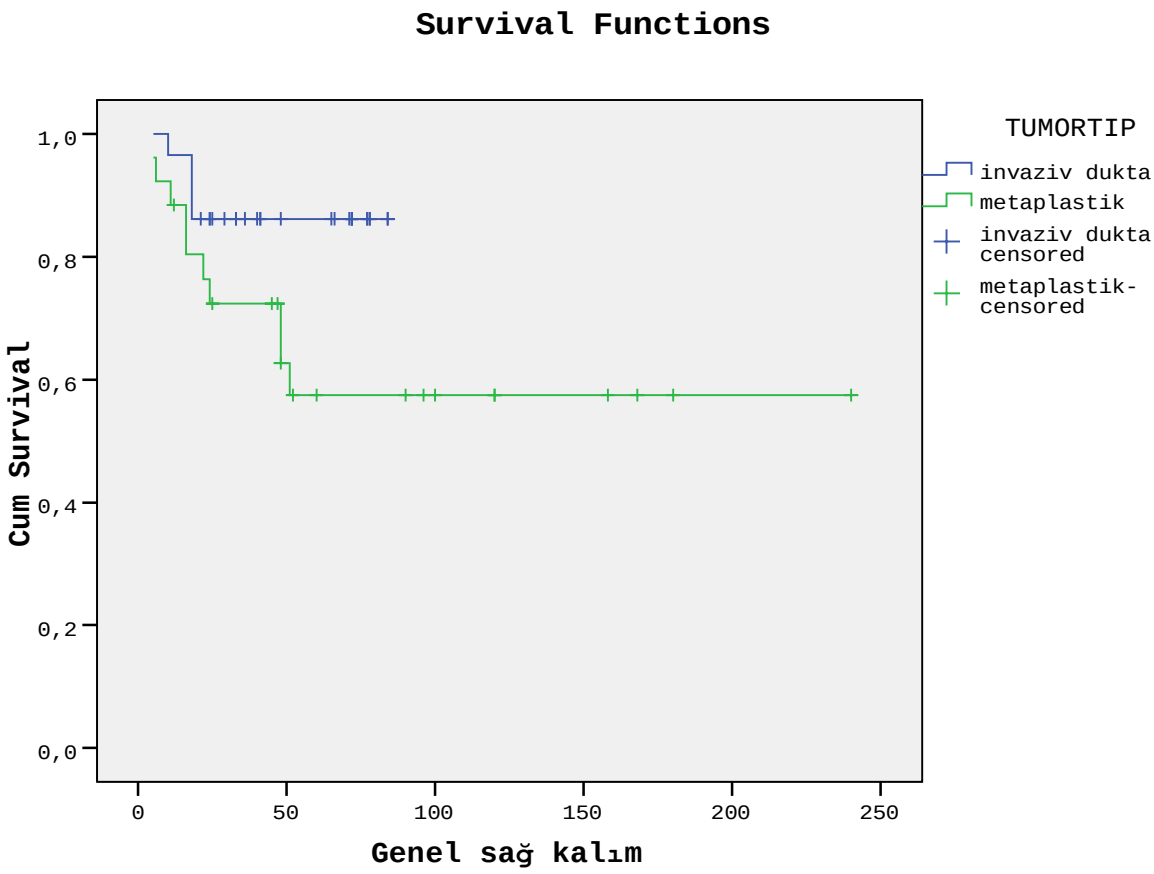
Tablo 5. İstatistiksel olarak anlamlı histopatolojik ve immunhistokimyasal parametrelerin özeti

	MK n=30 (%)	İDK, NOS n=30 (%)	*P* değeri
Tümör derecesi			
Derece 1	2 (6,7)	3 (10,0)	
Derece 2	3(10,0)	15 (50,0)	P=0,001*
Derece 3	25 (83,3)	12 (40,0)	
ER			
Negatif	26 (86,7)	3 (10,0)	p<0,001**
Pozitif	4 (13,3)	27 (90,0)	
PR			
Negatif	22 (73,3)	8 (26,7)	p<0,001**
Pozitif	8 (26,7)	22 (73,3)	
EGFR			
Negatif	9 (30,0)	29 (96,7)	p<0,001**
Pozitif	21 (70,0)	1 (3,3)	
CK5/6			
Negatif	11 (36,7)	29 (96,7)	p<0,001**
Pozitif	19 (63,3)	1 (3,3)	
P63			
Negatif	11 (36,7)	28 (93,3)	p<0,001**
Pozitif	19 (63,3)	2 (6,7)	
CD44			
Negatif	0 (0)	7 (23,3)	p<0,001**
Pozitif	30 (100,0)	23 (76,7)	
CD24			
Negatif	14 (46,7)	0 (0)	p<0,001**
Pozitif	16 (53,3)	30 (100,0)	

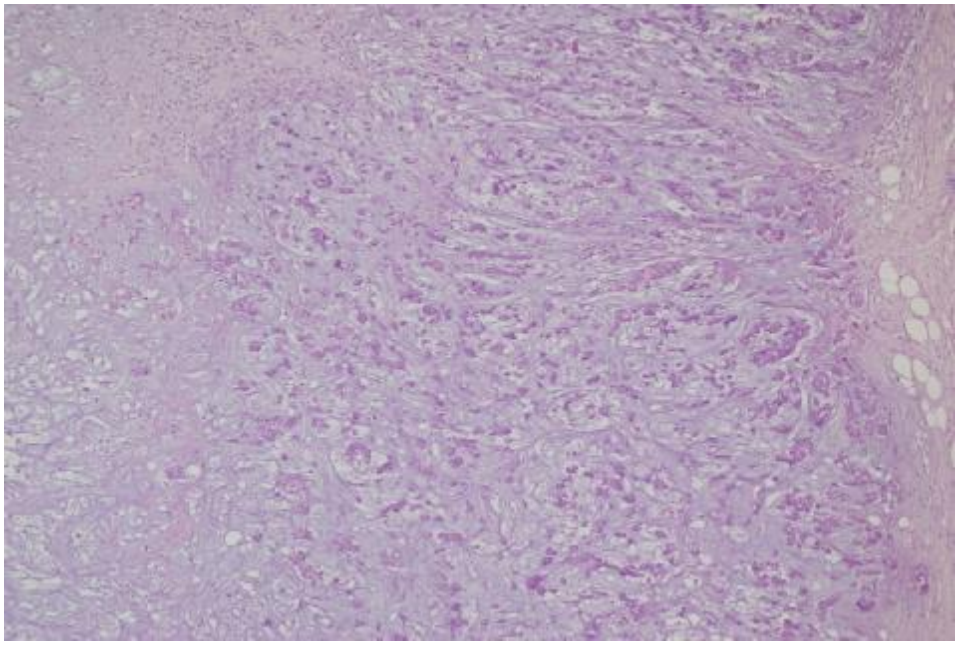
* Mann-Whitney U testi ile hesaplanan değer

** Ki kare testi ile hesaplanan değerler

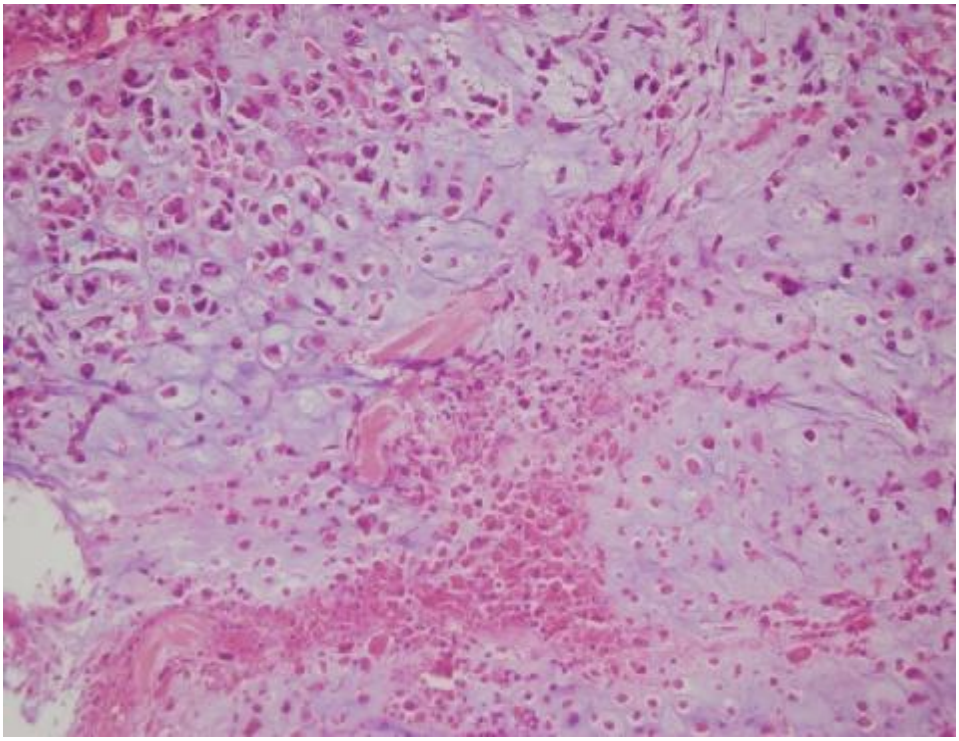
Kısaltmalar: MK: metaplastik karsinom, İDK NOS: başka türlü spesifiğe edilemeyen invaziv duktal karsinom, ER: östrojen reseptör, PR: progesteron reseptör, EGFR: epidermal büyüme faktör reseptörü, CK5/6: sitokeratin 5/6.



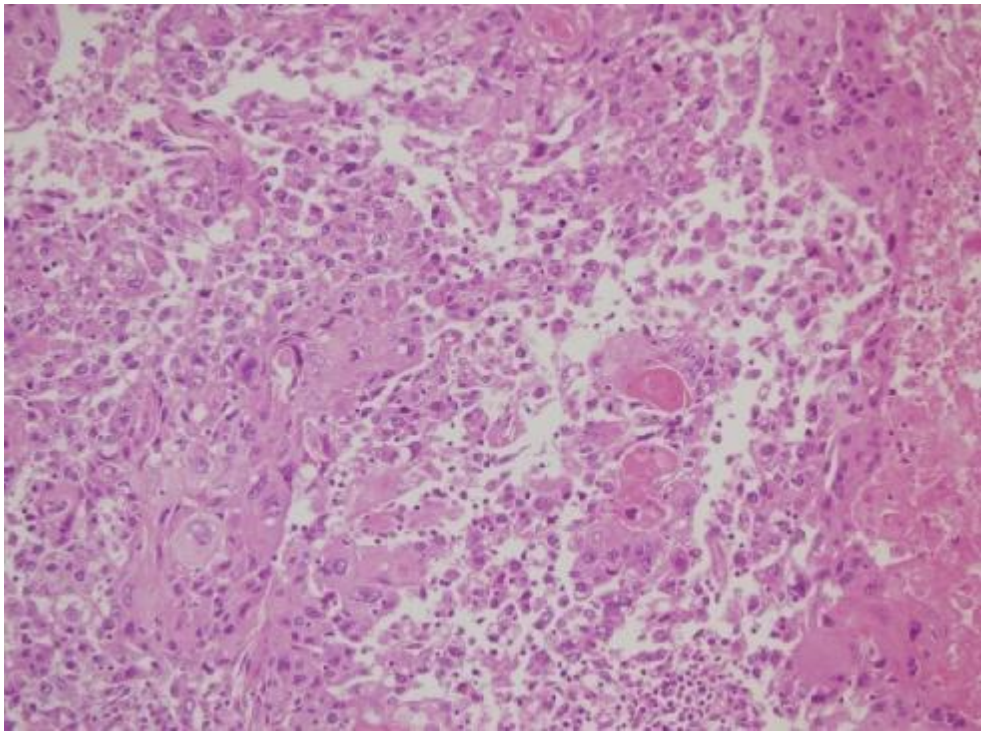
ŞEKİL 1. Kaplan Meier genel sağ kalım eğrisi



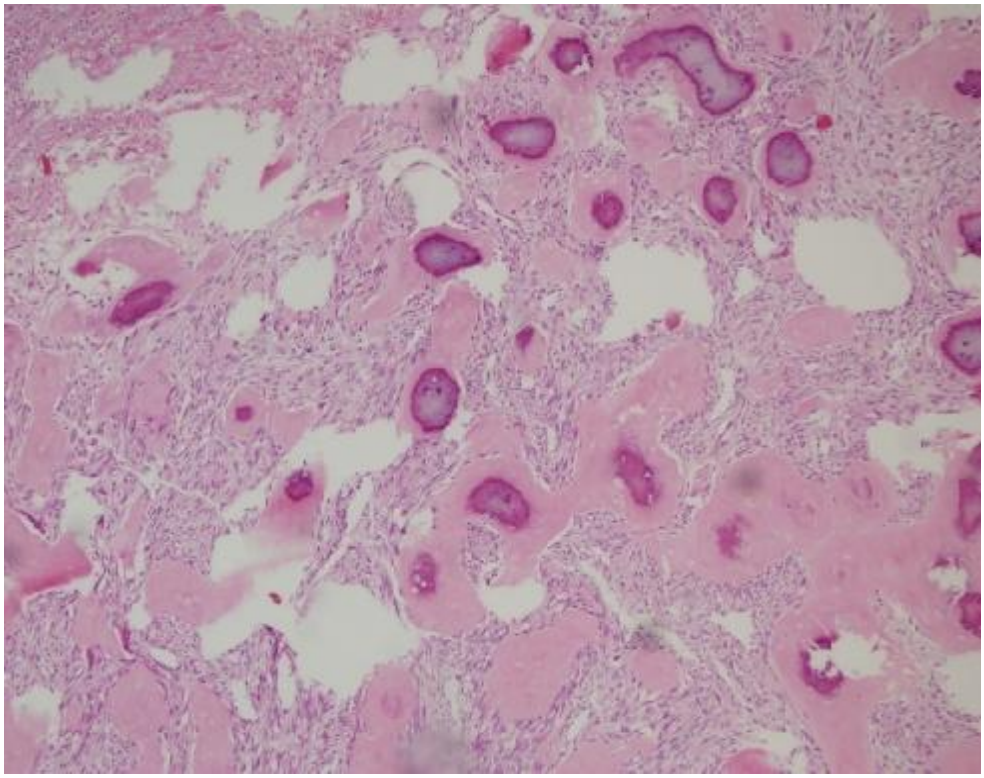
ŞEKİL 2. Kondroid diferansiyasyon gösteren metaplastik karsinom(H&E, X100).



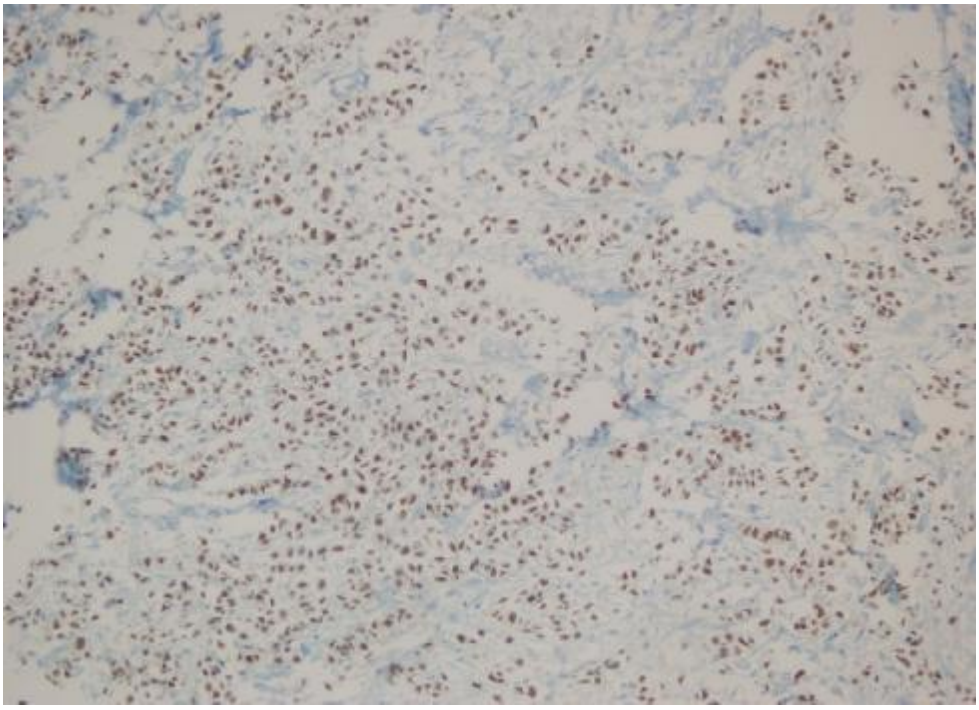
ŞEKİL 3. Kondroid diferansiyasyon gösteren metaplastik karsinom(H&E, X200).



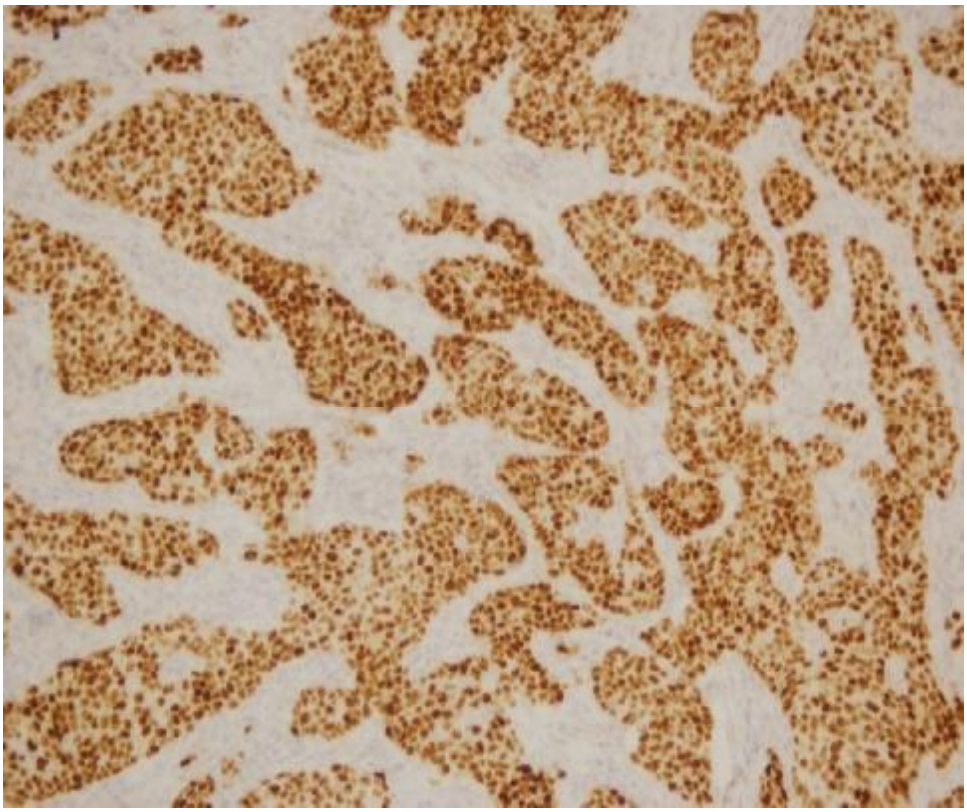
ŞEKİL 4. Skuamöz diferansiyasyon gösteren metaplastik karsinom(H&E, X200).



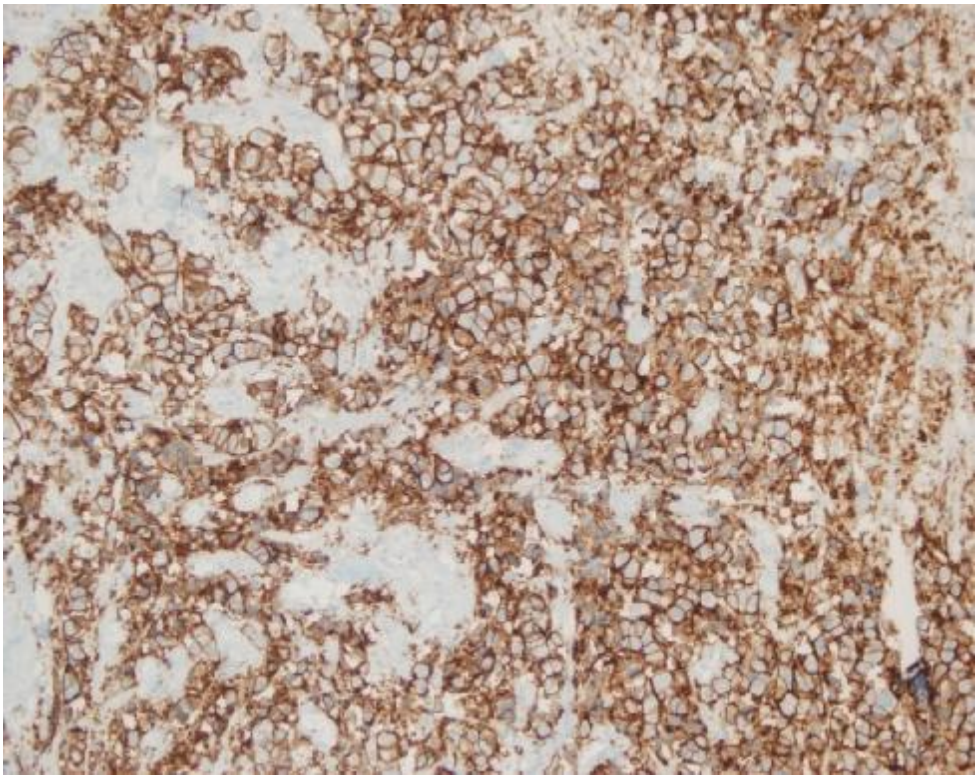
ŞEKİL 5. Osseöz diferansiyasyon gösteren metaplastik karsinom(H&E, X100).



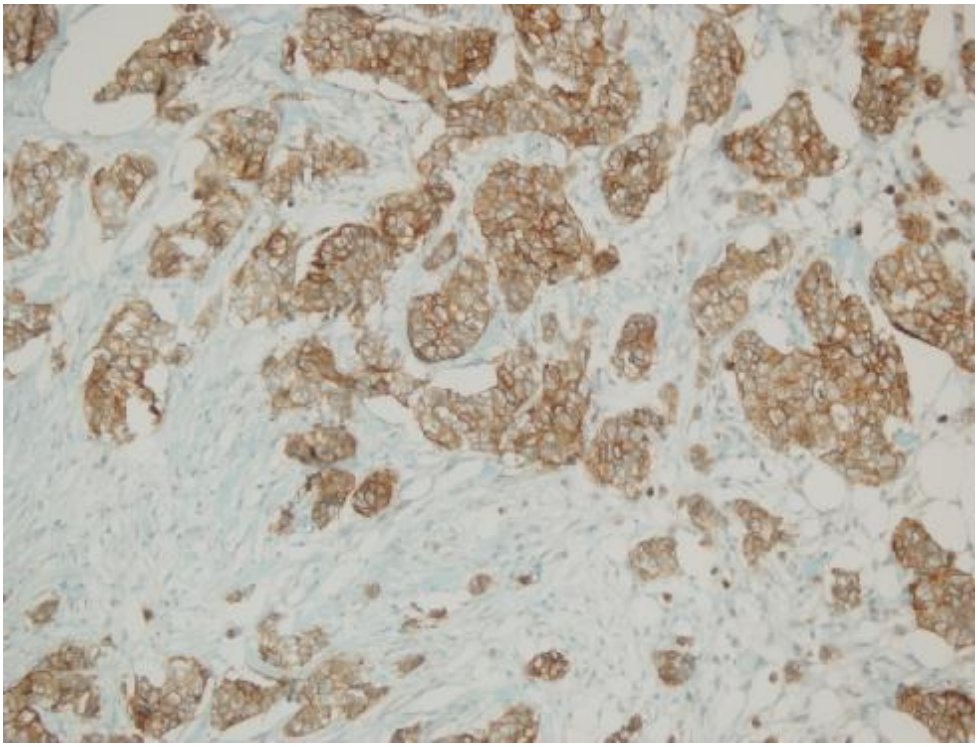
ŞEKİL 6. Metaplastik karsinom olgusunda diffüz ER pozitifliği (ER, X100).



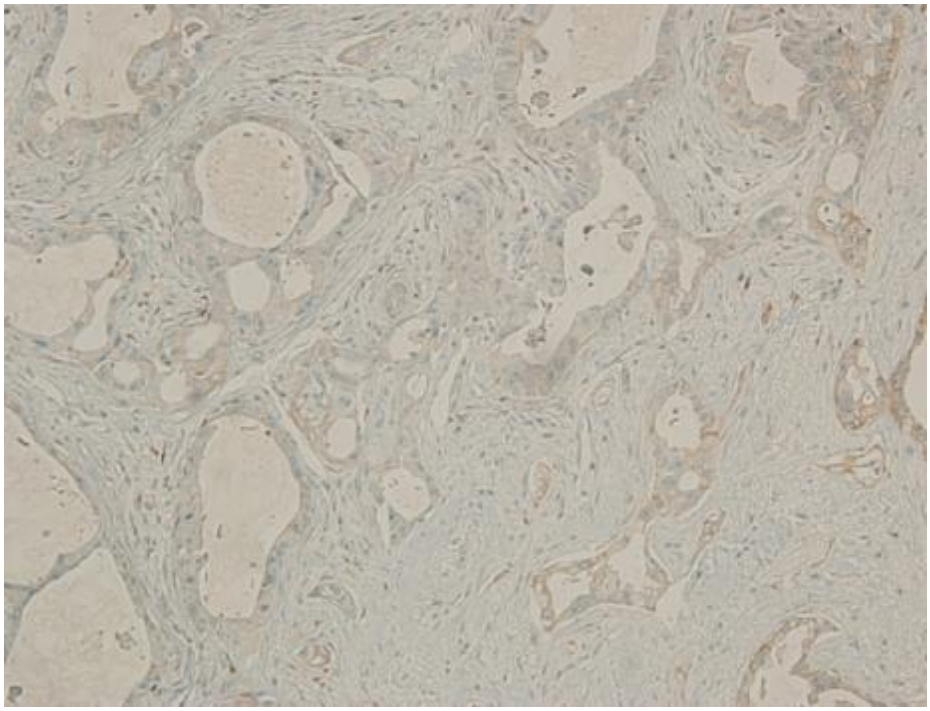
ŞEKİL 7. Metaplastik karsinom olgusunda diffüz PR pozitifliği (PR, X200).



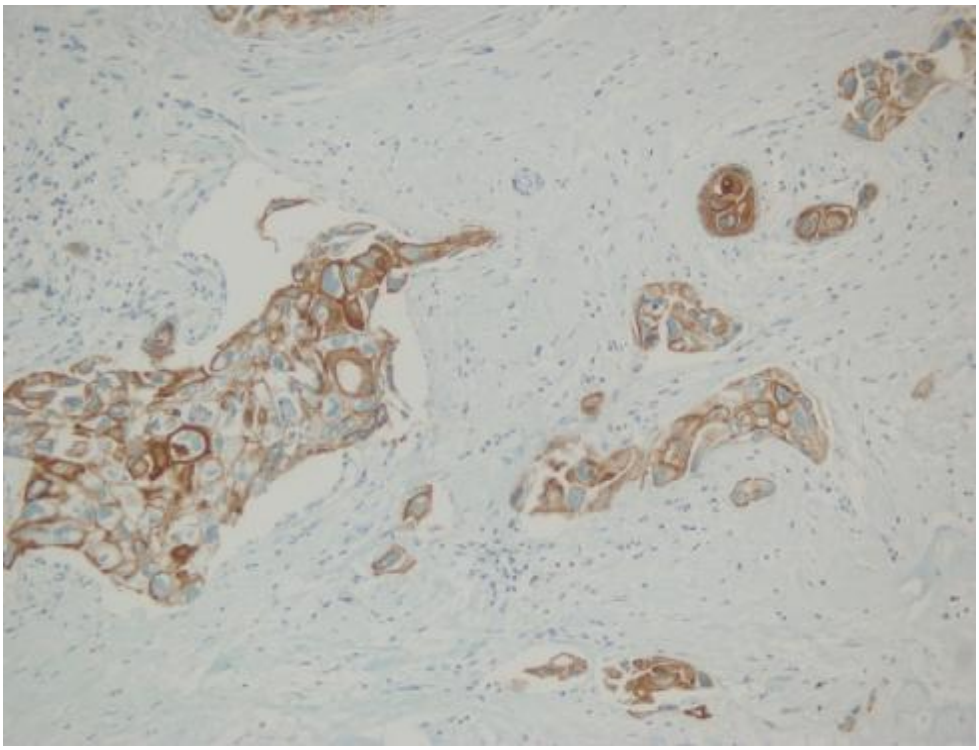
ŞEKİL 8. Metaplastik karsinom olgusunda C-erbB2 ile 3+ boyanma(Cerb-B2, X200).



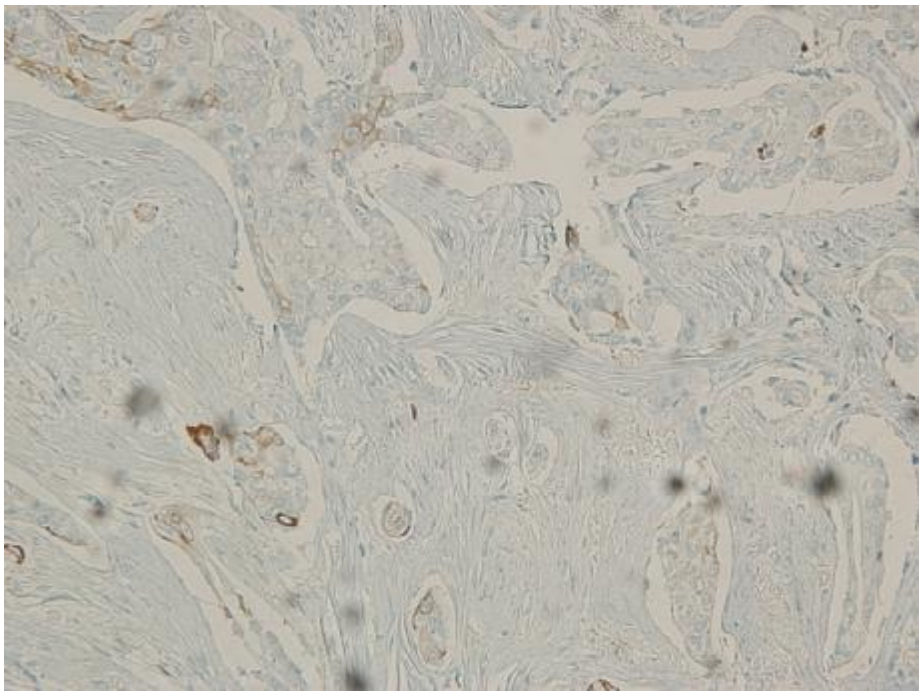
ŞEKİL 9. Metaplastik karsinom olgusunda diffüz EGFR pozitifliği (EGFR,X200).



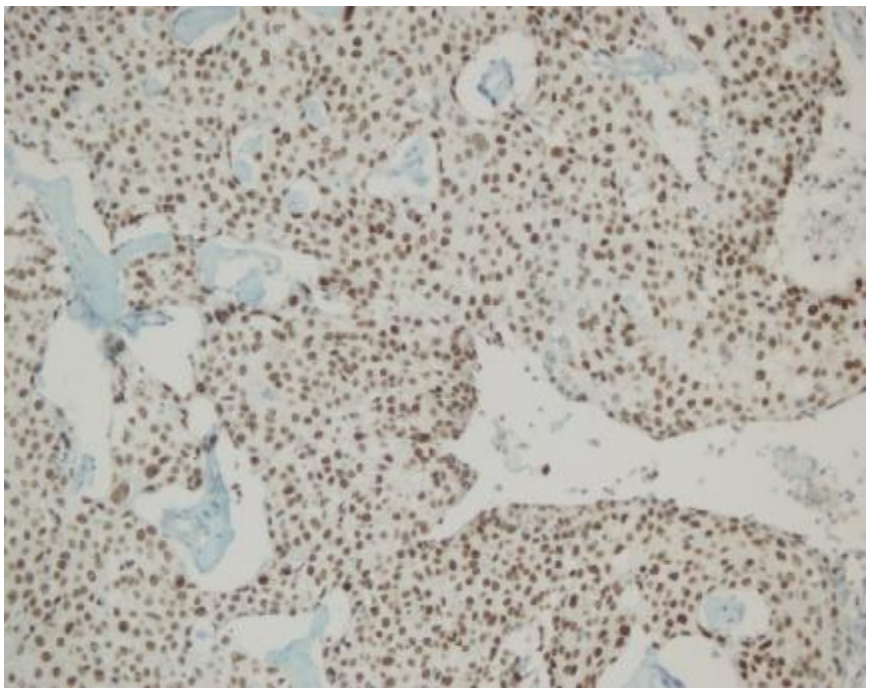
ŞEKİL 10. Metaplastik karsinom olgusunda fokal EGFR pozitifliği (EGFR, X200).



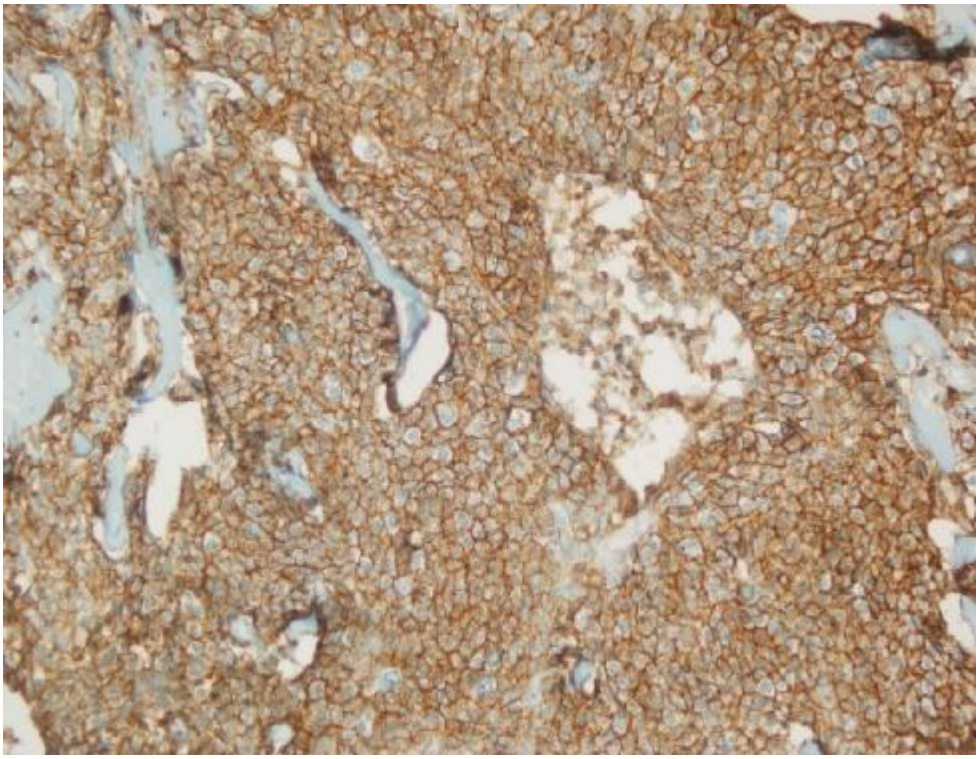
ŞEKİL 11. Metaplastik karsinom olgusunda diffüz CK5/6 pozitifliği (CK5/6, X200).



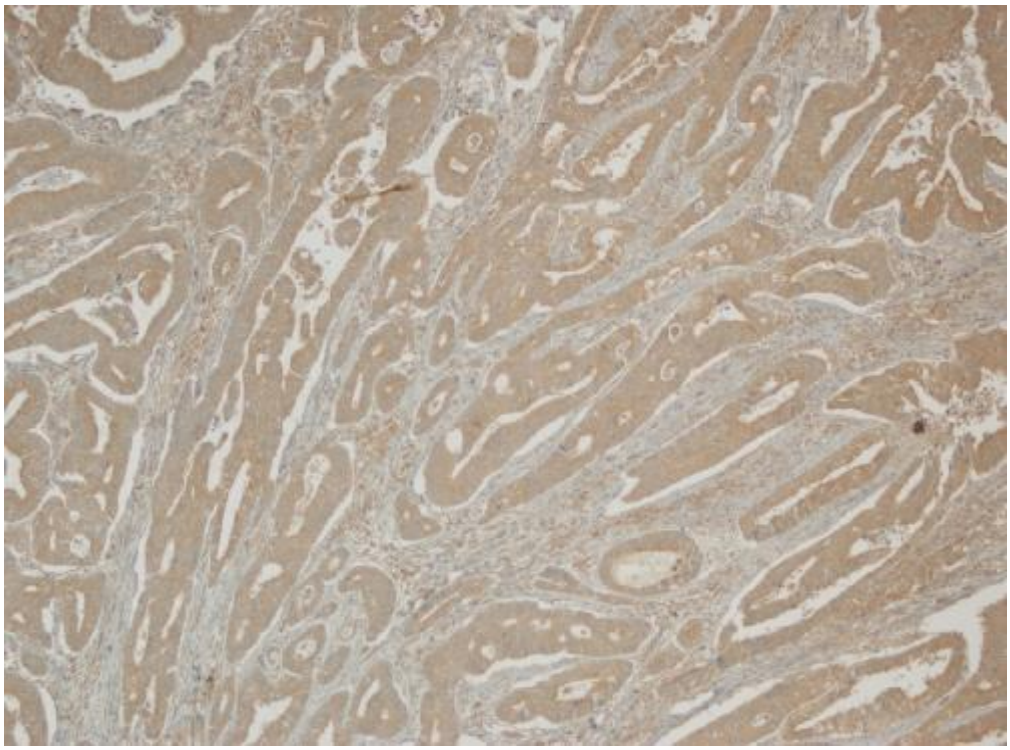
ŞEKİL 12. Metaplastik karsinom olgusunda fokal CK5/6 pozitifliği (CK5/6, X200).



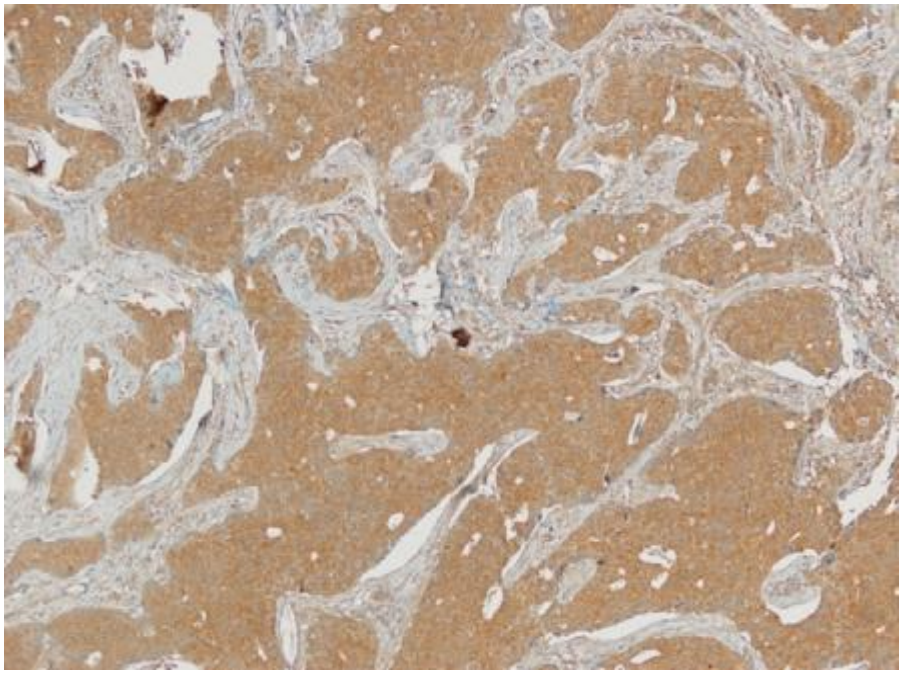
ŞEKİL 13. Metaplastik karsinom olgusunda diffüz p63 pozitifliği (p63, X200).



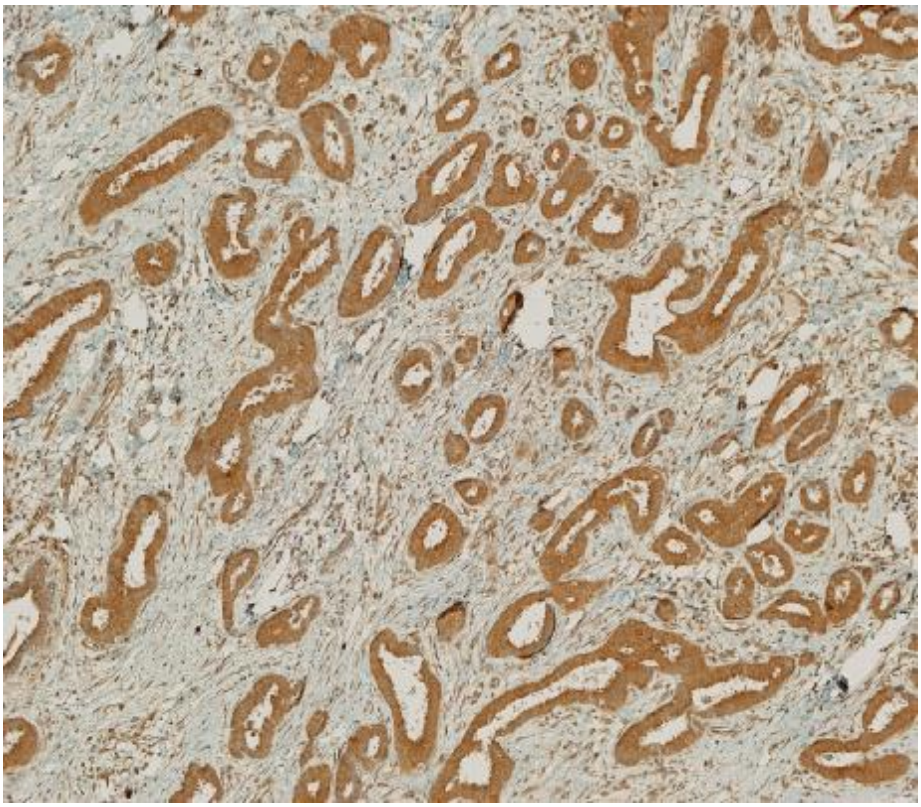
ŞEKİL 14. Metaplastik karsinom olgusunda diffüz CD44 pozitifliği (CD44,X200).



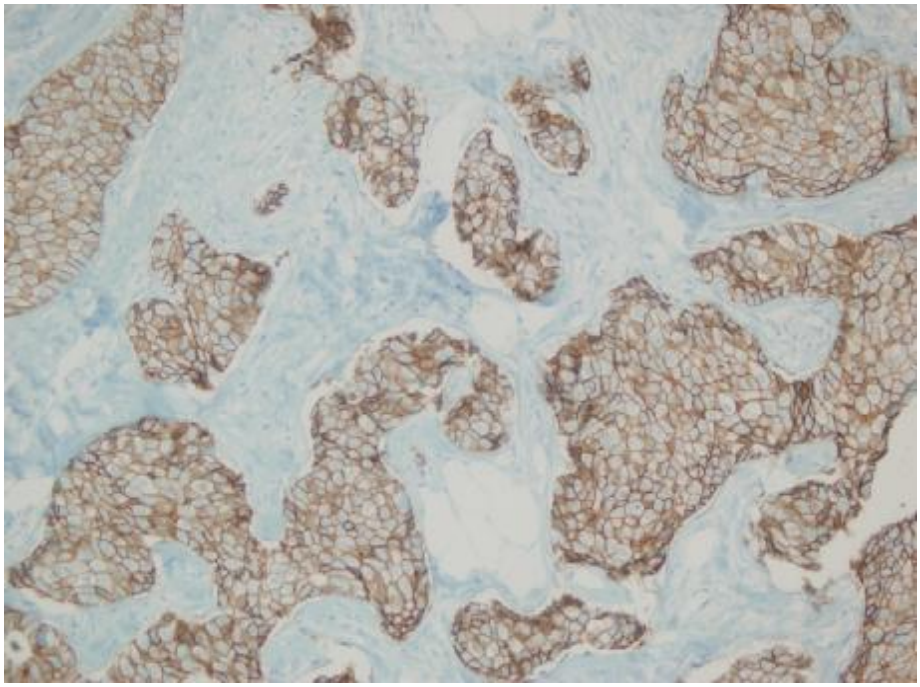
ŞEKİL 15.CD24 immunhistokimyasal boyası için pozitif kontrol olarak kullanılan kolon adenokarsinomu (CD24, X200).



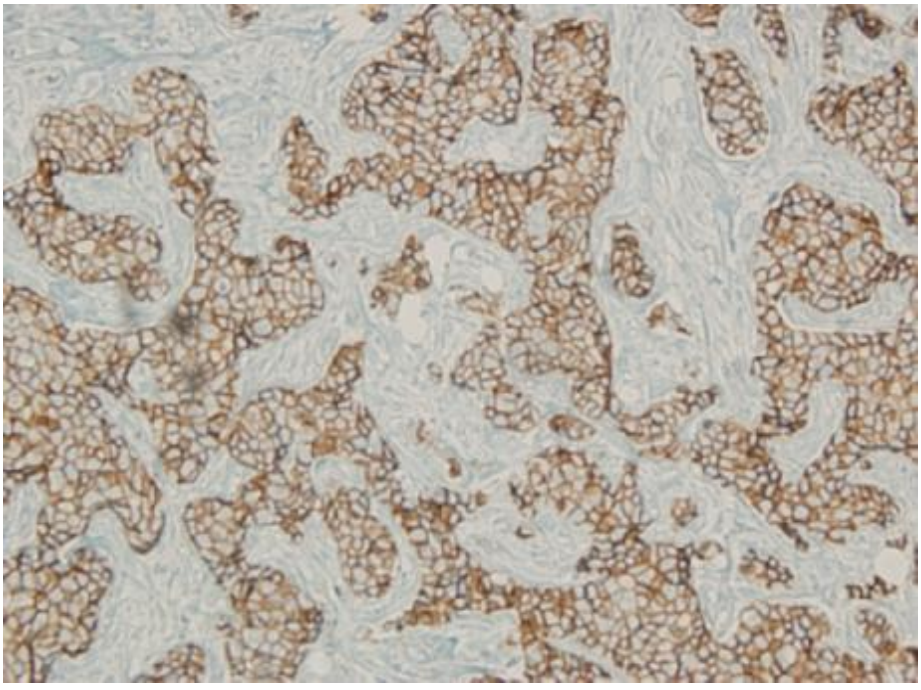
ŞEKİL 16. Metaplastik karsinom olgusunda diffüz CD24 pozitifliği (CD24, X200).



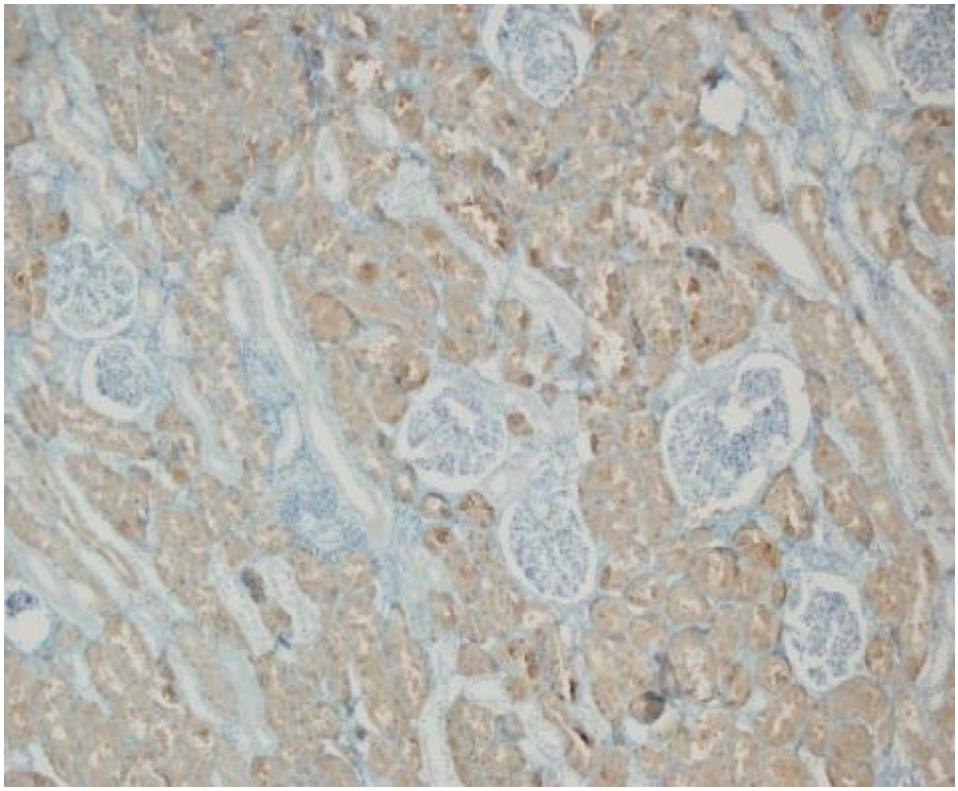
ŞEKİL 17. İnvaziv duktal karsinom olgusunda diffüz CD24 pozitifliği (CD24, X100).



ŞEKİL 18. Metaplastik karsinom olgusunda diffüz e-kaderin pozitifliği (e-kaderin, X200).



ŞEKİL 19. İnvaziv duktal karsinom olgusunda diffüz e-kaderin pozitifliği (e-kaderin, X200).



ŞEKİL 20. Snail immunhistokimyasal boyası için pozitif kontrol olarak kullanılan böbrek dokusu (Snail, X100).

V. TARTIŞMA

Metaplastik meme karsinomları, tüm meme kanserlerinin %1'den azını oluşturan heterojen bir grup malign tümördür[63]. Metaplastik karsinomların bir kısmı tamamen metaplastik elemanlardan oluşurken, bir kısmı hem karsinom alanları hem de metaplastik alanları bir arada içerebilir. Memenin metaplastik karsinomlarında görülen bu fenotipik değişiklikler, memenin normal myoepiteliyal hücreleri veya glandüler epiteliyal hücrelerinde görülmeyen genotipik özelliklerin ekspresyonunu temsil eder[70].

Metaplastik karsinomlar WHO 2012 klasifikasyonuna göre, morfolojik olarak; düşük dereceli adenoskuamöz karsinom, fibromatozis benzeri metaplastik karsinom, skuamöz hücreli karsinom, iğsi hücreli karsinom, mezenkimal diferansiasyon gösteren karsinom (kondroid diferansiasyon, osseöz diferansiasyon, diğer mezenkimal diferansiasyon türleri) ve mikst metaplastik karsinom olarak sınıflandırılmaktadır [1].

Metaplastik karsinomlar genellikle ER, PR, HER2 negatif tümörlerdir [64-66]. Çoğunda CK5/6, CK14, EGFR gibi bazal belirteçlerden biri ya da birden fazlasında pozitiflik izlenmektedir. Meme kanserleri gen ekspresyon profillerine göre; luminal A, luminal B, HER2 pozitif ve bazal benzeri olmak üzere alttiplere ayrılmaktadır. Bu alttipler içersinde en agresif seyreden bazal benzeri meme kanseri olup, bunlar çoğunlukla üçlü-negatif immunfenotipe sahip tümörlerdir. Metaplastik meme kanserleri, genellikle üçlü-negatif olmaları ile luminal ve HER2 pozitif tümörlerden ayrılırlar. Bu tümörler, EGFR, CK5/6 gibi bazal belirteçlerle sıklıkla pozitif oldukları için de, bazal benzeri meme karsinomları içerisinde değerlendirilirler. Bazal benzeri immunfenotipe sahip olan tümörler, morfolojik olarak genellikle yüksek dereceli, itici sınırları olan, santral nekroz ve belirgin lenfositik infiltrasyon içeren tümörler olup, metaplastik elemanlar da sıklıkla eşlik edebilir [105].

Çalışmamızda, metaplastik karsinom olgularının 16'sı (%53,3), invaziv duktal karsinom olgularının ise 1'i (%3,3) üçlü-negatif olarak saptanmıştır. Bazal benzeri fenotip oranını belirlemek üzere immunhistokimyasal olarak uyguladığımız CK5/6 ve/veya EGFR boyanması, metaplastik karsinom olgularımızın %86,6'sında izlenmiştir. İnvaziv duktal karsinom tanısı alan olgulardaki bazal-benzeri fenotip oranı ise %3,3'tür. İstatistiksel olarak bakıldığında, iki grup arasında hem CK5/6 ($n=19$, $p<0,001$), hem de EGFR ($n=21$, $p<0,001$) pozitifliği yönünden anlamlı fark izlenmektedir.

Hai ve ark., metaplastik karsinomlu 12 olgunun tümünde de immunhistokimyasal olarak ER, PR, HER2 negatifliği saptamışlar, daha sonra in situ hibridizasyon yöntemiyle de HER2 gen amplifikasyonu olmadığını konfirme etmişlerdir. CK5/6 ile olguların tümünde, EGFR ile ise %83,3 olguda immünpozitiflik saptayıp, olguların tümünü bazal benzeri fenotiple uyumlu bulmuşlardır. Ayrıca, metaplastik karsinom olgularında bazal/myoepiteliyal belirteçler olan CK14 (%75,0) ve p63 (%66,7) ile saptadıkları pozitifliği, bu tümörlerin karsinom ve sarkoma transformasyon gösteren bazal/myoepiteliyal hücrelerden kaynaklanmış olabileceği yönünde yorumlamışlardır. Metaplastik karsinom tanısında CK5/6, CK14, P63 ve EGFR'nin yararlı olduğunu, CK5/6'nın, CK14 ve p63'e göre daha sensitif olabileceğini bildirmişlerdir[106].

Abd El-Rehim ve ark. metaplastik meme karsinomlarında bazal belirteçlerin ekspresyonunu kötü prognozla ilişkili bulmuşlardır [107]. Rakha ve ark. ise, çalışmalarında bazal fenotipin kötü prognozla ilişkili olduğunu göstermiş ve bazal fenotipin derece III tümörlerde prognostik değeri yüksek bir belirteç olduğunu bildirmişlerdir [103].

Çalışmamızda, metaplastik meme karsinomu olan olguların 26'sında (%86,7) ER negatif iken, invaziv duktal karsinomlu olguların 27'sinde (%90,0) ER ile boyanma izlenmiştir ($p<0,001$). Benzer şekilde, metaplastik karsinom olgularının çoğunda (%73,3) PR negatif iken, invaziv duktal karsinomu olan hastaların çoğunda (%73,3) PR ile boyanma izlenmiştir ($p<0,001$). Cerb-B2 durumuna göre ise, iki grup arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p=0,405$). ER ve PR pozitifliğinin invaziv duktal karsinomda, negatifliğinin ise metaplastik karsinomda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek izlenmesi, literatür ile uyumlu bir bulgudur [65, 108].

Lee ve ark., metaplastik ve invaziv duktal karsinom olgularını karşılaştırdıkları çalışmalarında, metaplastik karsinomların daha büyük boyutta tümörler olduğunu ve tanı sırasında invaziv duktal karsinomlara göre daha sık uzak metastaz saptandığını bildirmişlerdir. Ancak, lenf nodu tutulumu açısından iki grup arasında anlamlı fark bulamamışlardır. Üçlü-negatif invaziv duktal karsinom olguları ile karşılaştırdıklarında ise, metaplastik karsinomların daha kötü prognozlu olduğunu ve sık rekürrens izlenebileceğini bildirmişlerdir [109]. Çalışmamızda, metaplastik karsinom ile benzer evredeki invaziv duktal karsinom olguları arasında, tümör boyutu ($p=0,062$), lenf nodu tutulumu ($p=1,000$), lenfatik ($p=0,795$), vasküler ($p=0,260$) ve perinöral invazyon ($p=0,706$) açısından istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır.

Bugün için metaplastik meme karsinomlarının patogenezi henüz aydınlatılamamış olmakla birlikte, bu tümörlerdeki intratümöral fenotipik çeşitliliği açıklamaya yönelik bazı teoriler vardır. Bunlar; epitelyal-mezenkimal geçiş teorisi, meme kanseri kök hücre teorisi ve myoepitelyal hücre orijini teorisidir. Bu teoriler genetik ve non-genetik mekanizmalarla, karsinomatöz komponentin sarkomatöz komponente transformasyonunu içerir[70].

Bu hipotezlerin herbirini destekleyen çeşitli veriler olmakla birlikte, herhangi birinin metaplastik meme karsinomunun altta yatan nedeni olduğuna ilişkin bir görüş birliği yoktur. Metaplastik meme kanserleri, konvansiyonel adjuvan kemoterapiye daha az yanıt veren ve diğer üçlü-negatif meme kanserlerinden daha kötü klinik gidiş gösteren tümörlerdir. Bu hastalar için potansiyel hedef tedavilerin saptanması son derece önemlidir. Günümüzde optimal bir tedavi rejimi bulunmayan metaplastik karsinomlar, benzer evredeki invaziv duktal karsinomlardan daha kötü prognoza sahiptirler.

Epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT) teorisine göre, her iki komponentde kanser kök hücre/multipotent progenitor hücre, myoepitelyal hücre ya da myoepitelyal progenitor hücrelerden kaynaklanabilir[71, 72, 78]. Hücreler e-kaderin kaybı, epitelyal belirteçlerin baskılanması ve mezenkimal belirteçlerin (vimentin, düz kas aktini gibi) upregülasyonu sonucu fibroblast benzeri iğsi hücre morfolojisi kazanırlar, metastaz ve invazyon potansiyelleri artar[73, 110]. Snail, hücre siklusu blokajında rol alan bir transkripsiyon faktörü olup, hücrelerin ölüme direnç kazanmasında rolü bulunmaktadır [74]. Transkripsiyonel baskılayıcı snail'in artması yanı sıra epiteliyal adezyon molekülü e-kaderinin kaybı, EMT ile ilişkilidir. Metaplastik meme karsinomlarında, Snail nükleer ekspresyonu ve bununla ilişkili olarak e-kaderin kaybı izlenmektedir.

Snail, immunhistokimyasal olarak metaplastik meme kanserleri için sensitif bir belirteç olmakla birlikte, spesifik değildir. Myofibroblastom, filloid tümör ve psödoanjiyomatöz stromal hiperplazi gibi diğer iğsi hücreli lezyonlarda da Snail ekspresyonu görülebilir. Nassar ve ark., 34 metaplastik karsinom olgularının tümünde de Snail ekspresyonu saptamışlardır [75]. Metaplastik karsinomların yüksek dereceli, üçlü-negatif, genel sağkalım oranları düşük olan tümörler olduğunu bildirmişler ve meme kanserinde yüksek Snail ekspresyonu izlenmesinin, metaplastik olmayan meme karsinomlarında daha düşük hastalıksız sağkalım oranı ile bağlantılı olduğunu saptamışlardır. Bu çalışmada ayrıca, Snail ekspresyonunun, lenf nodu tutulumu ve tümör boyutundan bağımsız olarak hastalıksız sağkalım oranını belirlediği de bildirilmektedir[111].

Blanco ve ark. Snail ekspresyonunu histolojik tür, yüksek tümör derecesi, lenf nodu durumu ile ilişkili bulmamışlardır[112]. Benzer şekilde Nassar ve ark.da, diğer klinikopatolojik parametreler (yaş, tümör boyutu, tümör derecesi, lenf nodu, hormon reseptör ve HER2 durumu) ile Snail ekspresyonu arasında ilişki bulamamışlardır[75].

Çalışmamızda, Snail ile metaplastik ve invaziv duktal karsinomların hiçbirinde boyanma izlenmemiş olup, istatistiksel değerlendirme yapılamamıştır. Pozitif kontrol amacıyla kullanılan dokuda boyanma olmasına karşın tümörlü bloklarda boyanma olmaması, seçilen olgu grubu ve sayının az olmasına bağlı olabileceği gibi, eski parafin bloklardaki antijen kaybı sonucu da izlenmiş olabilir.

E-kaderin, epiteliyal hücre adezyonunda önemli role sahip bir transmembran glikoproteindir. Fibronektin ise hücre-matriks ve hücre-hücre adezyonu, hücre migrasyon, diferansiyasyon ve onkojenik transformasyonda rol oynayan, büyük heterodimerik bir glikoproteindir. E-kaderin ekspresyon kaybı, EMT'de vurgulanmaktadır. Çeşitli benign ve malign epiteliyal ve mezenkimal hücreler, fibronektin üretebilirler. Epiteliyal tümörlerde EMT sürecinde fibronektin artışı söz konusudur. E- kaderin ve fibronektin, insan kanserlerinde EMT fenotipinin saptanmasında kullanılabilir[113].

Bae ve ark., EMT fenotipinin genç yaş, ileri evre pT ve pN, yüksek histolojik derece, lenfovasküler invazyon ve üçlü negatiflikle ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Aynı zamanda genel sağ kalım ve hastalıksız sağ kalım oranının da bu olgularda düşük olduğunu bildirmişlerdir [114].

EMT ile e-kaderin baskılanması, daha agresif klinik gidiş ile ilişkilidir. Hollestelle ve ark., e-kaderin mutasyonunu lobüler karsinomlardaki gibi yuvarlak hücreli morfoloji ve luminal/ERBB2 subtipi ile, e-kaderin promoter hipermetilasyonunu ise iğsi hücreli morfoloji ve bazal subtip ile ilişkili saptamışlardır. Ancak, meme kanser dokusunda e-kaderin kaybını EMT'nin nedeni olarak gösterememişlerdir [115].

Çalışmamızda, metaplastik karsinom olgularının 27’si, invaziv duktal karsinom olgularının ise 29' unda e-kaderin pozitif saptanmıştır(p=0,612). Metaplastik karsinom olgularının yalnızca 3’ünde (%10,0) e-kaderin ekspresyon kaybı izlenmiştir.

Son zamanlarda, meme kanseri moleküler profiline dayalı tedaviler için klinik çalışmalar yapılmaktadır [70]. Bu çalışmalarda, kanserlerin bazı tiplerinde kemoterapi ve radyoterapiye direnç olduğu gözlenmektedir [116, 117]. Bu durum, sınırsız kendi kendini yenileme ve farklılaşma yeteneğine sahip kök hücreler ile açıklanmaya çalışılmıştır. Kanser kök hücre (KKH) hipotezine göre; bu hücreler tümörün başlangıç, ilerleme, tümör göçü, tedaviye direnç ve nüksünden sorumlu olup, hücre çeşitliliğine ve tümör heterojenitesine yol açmaktadır. KKH'lerinin ortak yüzey belirteçleri olarak CD44+, CD24- ve ALDH1 tanımlanmıştır.

Meme kanseri kök hücre hipotezine göre, metaplastik karsinomlar CD24 (negatif), CD44 (pozitif) fenotipe sahiptir. Snail, Twist, TGF-beta gibi transkripsiyon faktörleri, meme epitelyal hücrelerinin mezenkimal karakter kazanmasına ve kök hücre belirteçlerini (CD44+/CD24-) eksprese etmesine neden olur, buna bağlı olarak da hücreler immortal özellik kazanırlar.

Ginestier ve ark., normal meme epiteliyal hücreleri ile kanser hücrelerinde aldehit dehidrogenaz (ALDH) aktivitesinde artış olduğunu saptamışlardır. ALDH1+ CD44+/CD24- fenotipinin yüksek tümörojenik kapasiteye sahip olduğunu ve ALDH1- CD44+/CD24- olan hücrelerin tümörojenik olmadığını göstermişlerdir[118].

Ricardao ve ark., CD44 ekspresyonunun lenf nodu metastazı ve bazal belirteçlerin ekspresyonu ile ilişkili olduğunu, CD24 ekspresyonunun ise meme kanseri moleküler subtipleri ile ilişkili olmadığını saptamışlardır. Aynı zamanda, CD44+/CD24- fenotipin nod negatif tümörler olduğunu bildirmişlerdir. CD44 pozitifliğinin bazal benzeri tümörlerle ve kötü prognozla ilişkili olduğunu, CD44 pozitif hücrelerin mezenkimal kök hücre benzeri profil gösterdiklerini, sağ kalımda azalmaya neden olduklarını bildirmişlerdir. CD24 pozitif olan tümörlerin ise luminal A tümörler olduğunu, bazal benzeri tümörlerin çoğunun CD24 negatif olduğunu göstermişlerdir [119].

De Beca ve ark., bazal benzeri fenotipe sahip, medüller ve metaplastik karsinom gibi spesifik türde olan, yüksek dereceli karsinomlarda, KKH fenotipini "CD44+/CD24-/ALDH1+" şeklinde saptamışlardır [120].

Çalışmamızda, metaplastik meme karsinomlu olguların tümünde CD44, 16'sında (%53,3) CD24 pozitifliği saptanmıştır. Buna karşılık, invaziv duktal karsinom olgularının 23'ü

(%76,7) CD44 pozitif iken, tümü CD24 ile pozitif boyanma göstermiştir (p<0,001). Literatürde yer alan çalışmalara benzer şekilde, bazal benzeri fenotipe sahip metaplastik karsinom olgularımızın yarısında (%50) CD44+, CD24- immunfenotip izlenmiştir.

İnsan meme kök hücresinden zenginleştirilmiş popülasyonların ER, PR ve HER2 ekspresyonu göstermediği, bunlarda EGFR, CK5/6 ve p63'ün yüksek düzeyde eksprese olduğu gösterilmiştir [116, 121]. KKH'nin CD44+/CD24- fenotipi, meme kanseri moleküler subtipleri göz önüne alındığında, bu fenotipin bazal-benzeri tümörlerde yüksek, luminal tip ve HER2 pozitif tümörlerde düşük oranlarda olduğu dikkati çekmektedir [122]. Bu bilgiler, meme kök hücresinin, bazal-benzeri meme kanserleri için bir köken olabileceğini desteklemektedir.

Literatürde ER, PR ve CD24 ekspresyonunun azlığı veya yokluğu, CD44 ve ALDH1 ekspresyonunun ise yüksekliğini içeren, meme kök hücreleri ile ilgili fenotipik özellikler tanımlanmasına karşın, bu konuda çalışmalar halen devam etmektedir. Özellikle kötü prognozlu ve agresif klinik gidiş gösteren tümörlerde CD44+/CD24- fenotipin bulunması nedeniyle, KKH ile ilişkili tümörlerin daha kötü prognozlu ve tedaviye dirençli oldukları söylenebilir.

Metaplastik meme karsinomlarında myoepitelyal hücre orijini teorisi, duktusların çevresindeki myoepitelyal hücrelerin proliferasyonu ve metaplastik değişikliklerini içerir.

Nassar ve ark., p63'ün metaplastik karsinomlarda oldukça spesifik olmakla birlikte, Snail ve EGFR ile karşılaştırıldığında düşük sensivitede (%67,6) olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmalarında ayrıca, EGFR'nin sensitif bir belirteç olmasına karşın spesifik olmadığını, hastalarının %81,8'inin üçlü-negatif, %76'sının yüksek dereceli olduğunu, %15 olguda lenf nodu metastazı bulunduğunu belirtip, sağkalım oranlarının hasta yaşı, tümör boyutu, derece, lenf nodu durumu, hormon reseptörleri, HER2 durumu ve tedavi yöntemleri ile ilişkili olmadığı sonucuna varmışlardır. [75]. Reis-Filho ve ark. ise p63 ile %90'dan fazla metaplastik karsinom olgusunda pozitiflik bildirmiştir [66].

Çalışmamızda, p63 ile metaplastik karsinomlu olguların 19'unda (%63,3) fokal veya diffüz pozitiflik izlenmiş olup, bu oran invaziv duktal karsinom için %6,7'dir (p<0,001). Bu bulgu da literatür ile uyumlu şekilde, metaplastik karsinomların patogenezinde myoepitelyal hücrelerin rol oynayabileceği hipotezini desteklemektedir.

Metaplastik karsinom tanısı alan hastaların 26'sı, invaziv duktal karsinom tanılı hastaların ise 29'unda takip verilerine ve/veya sağ kalım bilgilerine ulaşılabilmiştir. Düzenli takip verisi bulunan 23 metaplastik karsinom olgusunda izlem süresi ortalama 58,3 aydır (5-180 ay). Metaplastik karsinom hastalarının 16'sı (%53,3) yaşamakta olup, 10'u (%33,3) ex olmuştur. Bu hastaların 1' inde uzak metastaz (karaciğere) saptanmıştır. Düzenli takip verisi bulunan 23 invaziv duktal karsinom hastasının ortalama izlem süresi 42,2 aydır (10-84 ay). Bu hastaların 25'i (%83,3) yaşamakta olup, 4'ü (%13,3) ex olmuştur ve 2 hastada uzak metastaz (kemik ve plevraya) gelişmiştir. Genel sağ kalım açısından, metaplastik karsinom ve invaziv duktal karsinom olgularımız arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmiştir (p=0,036). Metaplastik karsinom olgularımızın kötü klinik gidişat göstermesi ve genel sağkalım oranlarının düşüklüğü, literatürdeki veriler ile benzer sonuçlar göstermektedir.

VI. SONUÇLAR

1. Çalışmaya, 1 erkek (%1,7) ve 59 kadın (%98.3) olmak üzere toplam 60 hasta retrospektif olarak seçilerek dahil edilmiştir. Bu hastaların 30'u metaplastik karsinom, 30' u invaziv duktal karsinom tanısı almıştır.

2. Hastaların yaş aralığı34-82, ortalamaları 55,7'dir.

3. Tümör boyutu 8-75 mm olup, ortalama 24,9' dur.

4. Metaplastik karsinom olguları içersinde; 14 (%23,3) skuamöz diferansiyasyon gösteren tür, 5 (%8,3) spesifik olmayan tür, 4 (%6,7) kondroid diferansiyasyon gösteren tür, 3 (%5,0) adenoskuamöz tür, 2 (%3,3) karsinosarkom, 1 (%1,7) osteoklastik diferansiyasyon gösteren tür ve 1 (%1,7) sarkomatöz ve nöroendokrin diferansiyasyon gösteren tür yer almaktadır.

5. Metaplastik karsinom olgularının 25' i (%83,3) yüksek dereceli (derece III) iken, invaziv duktal karsinom olgularının 18'i (%60,0) derece I veya II'dir. İki grup arasında anlamlı ilişki vardır (p=0,001).

6. DKİS, invaziv duktal karsinom olgularının 26'sına (%86,6) eşlik ederken, bu oran metaplastik karsinom olguları için 13 (%43,3) tür. İki grup arasında anlamlı ilişki bulunmuştur(p=0,033).

7. Metaplastik karsinom ve invaziv duktal karsinom olgularının 9'unda lenf nodu metastazı mevcuttur. Metaplastik karsinom olgularının 4'ünde (%13,3), invaziv duktal karsinom olgularının 7' sinde (%23,3) perikapsüler invazyon vardır. İki grup arasında anlamlı ilişki yoktur (p=1,000).

8. Metaplastik karsinom olgularının 16'sında (%53,3), ve invaziv duktal karsinom olgularının 17'sinde (%56,7) lenfatik invazyon belirlenmiş olup, iki grup arasında anlamlı ilişki yoktur (p=0,795).

9. Metaplastik karsinom olgularının 11'inde (%36,7), invaziv duktal karsinom olgularının ise 7'sinde (%23,3) vasküler invazyon belirlenmiş olup, iki grup arasında anlamlı ilişki yoktur (p=0,260).

10. Metaplastik karsinom olgularının 3'ünde (%10,0), invaziv duktal karsinom olgularının ise 5'inde (%16,7) perinöral invazyon belirlenmiş olup, iki grup arasında anlamlı ilişki yoktur (p=0,706).

11. Metaplastik karsinom olgularının 26’sında (%86,7), invaziv duktal karsinom olgularının ise 3’ünde (%10,0) ER ile boyanma izlenmemiş olup, iki grup arasında anlamlı ilişki bulunduğu saptanmıştır($p<0,001$).

12. Metaplastik karsinom olgularının 22’sinde (%73,3), invaziv duktal karsinom olgularının ise 8’inde (%26,7) PR ile boyanma izlenmemiştir. İki grup arasında anlamlı ilişki vardır ($p<0,001$).

13. Metaplastik karsinom olgularının 26’sında (%86,6), invaziv duktal karsinom olgularının ise 22’sinde (%76,3) CerbB2 ile boyanma izlenmemiştir. İki grup arasında anlamlı ilişki yoktur ($p=0,405$).

14. Metaplastik karsinomların 21'inde (%70,0) EGFR pozitif olup, invaziv duktal karsinom olgularının sadece 1'inde (%3,3) pozitiflik izlenmiştir. İki grup arasında anlamlı ilişki bulunduğu saptanmıştır($p<0,001$).

15. Metaplastik karsinomların 19'unda (%63,3) CK5/6 pozitif olup, invaziv duktal karsinom olgularının sadece 1'inde (%3,3) pozitiflik izlenmiştir. İki grup arasında anlamlı ilişki bulunduğu saptanmıştır($p<0,001$).

16. Metaplastik karsinomların 26'sında (%86,6) bazal benzeri fenotip saptanmıştır. Olguların 16' sı (%53,3) üçlü-negatiftir.

17. Metaplastik karsinomların 19'unda (%63,3), invaziv duktal karsinom olgularının ise 2’sinde (%6,7) p63 pozitiftir. İki grup arasında anlamlı ilişki bulunduğu saptanmıştır($p<0,001$).

18. CD44 ile metaplastik karsinom olgularının tümü, invaziv duktal karsinom olgularının ise 23' ü (%76,7) pozitiftir.İki grup arasında anlamlı ilişki bulunduğu saptanmıştır($p=0,033$).

19. Metaplastik karsinomların 16'sı (%53,3) CD24 pozitif olup, invaziv duktal karsinom olgularının tümü CD24 ile pozitiftir. İki grup arasında anlamlı ilişki bulunduğu saptanmıştır($p<0,001$).

20. E-kaderin boyanması yönünden iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır($p=0,170$).

21. Snail ile her iki grupta da boyanma izlenmemiş olup, istatistiksel değerlendirme yapılamamıştır.

22. İncelenen diğer parametreler (cinsiyet, tümör boyutu)açısından, iki grup arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

23. Takipleri olan metaplastik karsinomlu olgular içersinde, ortalama 58,3 aylık izlem sonrası 10' u (%38,4) ex olmuştur. İnvaziv duktal karsinomlu hastalarda ise ortalama 42,2 aylık izlem süresi sonunda %13,7 ex görülmüştür. Elimizdeki kısıtlı verilere göre değerlendirildiğinde; metaplastik karsinomlar daha agresif seyir göstermektedir ve genel sağ kalım oranları invaziv duktal karsinomlardan daha azdır.

24. Literatürde yer alan çalışmalara benzer şekilde, bazal benzeri fenotipe sahip metaplastik karsinom olgularımızın yarısında (%50) CD44+, CD24- immunfenotip izlenmiştir. Bu bulgular, meme kök hücresinin, bazal-benzeri meme kanserleri için bir köken olabileceğini desteklemektedir.

25. Çalışmamızda, p63 ile metaplastik karsinomlu olguların 19'unda (%63,3) pozitiflik izlenmiş olup, bu bulgu da literatür ile uyumlu şekilde, metaplastik karsinomların patogenezinde myoepitelyal hücrelerin rol oynayabileceği hipotezini desteklemektedir.

KAYNAKLAR

1. Ellis IO, S.S., Tan PH, van de Vijver MJ *WHO classification of tumours of the breast*. 4th edition ed. 2012: IARC Lyon Cedex 08, France.
2. Lakhani, S.R., International Agency for Research on Cancer., and World Health Organization., *WHO classification of tumours of the breast*. 4th ed. World Health Organization classification of tumours. 2012, Lyon: International Agency for Research on Cancer. 240 p.
3. Lee, E., et al., *Effect of reproductive factors and oral contraceptives on breast cancer risk in BRCA1/2 mutation carriers and noncarriers: results from a population-based study.* Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2008. 17(11): p. 3170-8.
4. Kelsey, J.L., M.D. Gammon, and E.M. John, *Reproductive factors and breast cancer.* Epidemiol Rev, 1993. 15(1): p. 36-47.
5. *Breast cancer and hormonal contraceptives: further results. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer.* Contraception, 1996. 54(3 Suppl): p. 1S-106S.
6. Beral, V. and C. Million Women Study, *Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study.* Lancet, 2003. 362(9382): p. 419-27.
7. Fitzgibbons, P.L., et al., *Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999.* Arch Pathol Lab Med, 2000. 124(7): p. 966-78.
8. Dowlatshahi, K., et al., *Lymph node micrometastases from breast carcinoma: reviewing the dilemma.* Cancer, 1997. 80(7): p. 1188-97.
9. Liberman, L., *Pathologic analysis of sentinel lymph nodes in breast carcinoma.* Cancer, 2000. 88(5): p. 971-7.
10. Michels, J.J., et al., *Proliferative activity in primary breast carcinomas is a salient prognostic factor.* Cancer, 2004. 100(3): p. 455-64.
11. Carter, C.L., C. Allen, and D.E. Henson, *Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases.* Cancer, 1989. 63(1): p. 181-7.
12. de Mascarel, I., et al., *Breast ductal carcinoma in situ with microinvasion: a definition supported by a long-term study of 1248 serially sectioned ductal carcinomas.* Cancer, 2002. 94(8): p. 2134-42.
13. Padmore, R.F., et al., *Microinvasive breast carcinoma: clinicopathologic analysis of a single institution experience.* Cancer, 2000. 88(6): p. 1403-9.
14. Coombs, N.J. and J. Boyages, *Multifocal and multicentric breast cancer: does each focus matter?* J Clin Oncol, 2005. 23(30): p. 7497-502.
15. Le Doussal, V., et al., *Prognostic value of histologic grade nuclear components of Scarff-Bloom-Richardson (SBR). An improved score modification based on a multivariate analysis of 1262 invasive ductal breast carcinomas.* Cancer, 1989. 64(9): p. 1914-21.
16. Elston, C.W. and I.O. Ellis, *Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up.* Histopathology, 1991. 19(5): p. 403-10.
17. Bettelheim, R., et al., *Prognostic significance of peritumoral vascular invasion in breast cancer.* Br J Cancer, 1984. 50(6): p. 771-7.
18. Pinder, S.E., et al., *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(1): p. 41-7.
19. Guth, U., et al., *Noninflammatory breast carcinoma with skin involvement.* Cancer, 2004. 100(3): p. 470-8.
20. Cianfrocca, M. and L.J. Goldstein, *Prognostic and predictive factors in early-stage breast cancer.* Oncologist, 2004. 9(6): p. 606-16.
21. Azzopardi, J.G. and R.N. Laurini, *Elastosis in breast cancer.* Cancer, 1974. 33(1): p. 174-83.

22. Li, C.I., et al., *Trends in incidence rates of invasive lobular and ductal breast carcinoma.* JAMA, 2003. 289(11): p. 1421-4.
23. Orvieto, E., et al., *Clinicopathologic characteristics of invasive lobular carcinoma of the breast: results of an analysis of 530 cases from a single institution.* Cancer, 2008. 113(7): p. 1511-20.
24. Da Silva, L., et al., *Aberrant expression of E-cadherin in lobular carcinomas of the breast.* Am J Surg Pathol, 2008. 32(5): p. 773-83.
25. Shousha, S., et al., *Alveolar variant of invasive lobular carcinoma of the breast. A tumor rich in estrogen receptors.* Am J Clin Pathol, 1986. 85(1): p. 1-5.
26. Eusebi, V., F. Magalhaes, and J.G. Azzopardi, *Pleomorphic lobular carcinoma of the breast: an aggressive tumor showing apocrine differentiation.* Hum Pathol, 1992. 23(6): p. 655-62.
27. Fisher, E.R., et al., *Tubulolobular invasive breast cancer: a variant of lobular invasive cancer.* Hum Pathol, 1977. 8(6): p. 679-83.
28. Rakha, E.A., et al., *Tubular carcinoma of the breast: further evidence to support its excellent prognosis.* J Clin Oncol, 2010. 28(1): p. 99-104.
29. Kader, H.A., et al., *Tubular carcinoma of the breast: a population-based study of nodal metastases at presentation and of patterns of relapse.* Breast J, 2001. 7(1): p. 8-13.
30. Liu, G.F., et al., *Clinical-pathologic features and long-term outcomes of tubular carcinoma of the breast compared with invasive ductal carcinoma treated with breast conservation therapy.* Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2009. 75(5): p. 1304-8.
31. Fedko, M.G., et al., *Pure tubular carcinoma and axillary nodal metastases.* Ann Surg Oncol, 2010. 17 Suppl 3: p. 338-42.
32. Leikola, J., et al., *The prevalence of axillary lymph-node metastases in patients with pure tubular carcinoma of the breast and sentinel node biopsy.* Eur J Surg Oncol, 2006. 32(5): p. 488-91.
33. Green, I., et al., *A comparative study of pure tubular and tubulolobular carcinoma of the breast.* Am J Surg Pathol, 1997. 21(6): p. 653-7.
34. Mitnick, J.S., et al., *Tubular carcinoma of the breast: sensitivity of diagnostic techniques and correlation with histopathology.* AJR Am J Roentgenol, 1999. 172(2): p. 319-23.
35. Papadatos, G., et al., *Probability of axillary node involvement in patients with tubular carcinoma of the breast.* Br J Surg, 2001. 88(6): p. 860-4.
36. Page, D.L., et al., *Invasive cribriform carcinoma of the breast.* Histopathology, 1983. 7(4): p. 525-36.
37. Weigelt, B., et al., *Refinement of breast cancer classification by molecular characterization of histological special types.* J Pathol, 2008. 216(2): p. 141-50.
38. Wells, C.A. and D.J. Ferguson, *Ultrastructural and immunocytochemical study of a case of invasive cribriform breast carcinoma.* J Clin Pathol, 1988. 41(1): p. 17-20.
39. Eisinger, F., et al., *Mutations at BRCA1: the medullary breast carcinoma revisited.* Cancer Res, 1998. 58(8): p. 1588-92.
40. Vargas, A.C., L. Da Silva, and S.R. Lakhani, *The contribution of breast cancer pathology to statistical models to predict mutation risk in BRCA carriers.* Fam Cancer, 2010. 9(4): p. 545-53.
41. Anderson, W.F., et al., *Comparison of age distribution patterns for different histopathologic types of breast carcinoma.* Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2006. 15(10): p. 1899-905.
42. Chaiwun, B., et al., *A study of high-nuclear-grade breast cancer in Thailand: subclassification and correlation with prognostic factors and immunohistochemical study.* Breast Cancer, 2010. 17(1): p. 35-41.
43. Martinez, S.R., et al., *Medullary carcinoma of the breast: a population-based perspective.* Med Oncol, 2011. 28(3): p. 738-44.
44. Vu-Nishino, H., et al., *Clinicopathologic features and long-term outcome of patients with medullary breast carcinoma managed with breast-conserving therapy (BCT).* Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2005. 62(4): p. 1040-7.

45. Pedersen, L., et al., *Prognostic comparison of three classifications for medullary carcinoma of the breast.* Histopathology, 1999. 34(2): p. 175-8.
46. Ridolfi, R.L., et al., *Medullary carcinoma of the breast: a clinicopathologic study with 10 year follow-up.* Cancer, 1977. 40(4): p. 1365-85.
47. Guo, X., et al., *Tumor infiltrating lymphocytes differ in invasive micropapillary carcinoma and medullary carcinoma of breast.* Mod Pathol, 2008. 21(9): p. 1101-7.
48. Kuroda, H., et al., *Immunophenotype of lymphocytic infiltration in medullary carcinoma of the breast.* Virchows Arch, 2005. 446(1): p. 10-4.
49. Orlando, L., et al., *Are all high-grade breast cancers with no steroid receptor hormone expression alike? The special case of the medullary phenotype.* Ann Oncol, 2005. 16(7): p. 1094-9.
50. Eusebi, V., et al., *Apocrine carcinoma of the breast. A morphologic and immunocytochemical study.* Am J Pathol, 1986. 123(3): p. 532-41.
51. Vranic, S., et al., *ER-alpha36, a novel isoform of ER-alpha66, is commonly over-expressed in apocrine and adenoid cystic carcinomas of the breast.* J Clin Pathol, 2011. 64(1): p. 54-7.
52. Abati, A.D., M. Kimmel, and P.P. Rosen, *Apocrine mammary carcinoma. A clinicopathologic study of 72 cases.* Am J Clin Pathol, 1990. 94(4): p. 371-7.
53. d'Amore, E.S., et al., *Invasive apocrine carcinoma of the breast: a long term follow-up study of 34 cases.* Breast Cancer Res Treat, 1988. 12(1): p. 37-44.
54. Barkley, C.R., et al., *Mucinous breast carcinoma: a large contemporary series.* Am J Surg, 2008. 196(4): p. 549-51.
55. Komaki, K., et al., *Mucinous carcinoma of the breast in Japan. A prognostic analysis based on morphologic features.* Cancer, 1988. 61(5): p. 989-96.
56. Gunhan-Bilgen, I., et al., *Invasive micropapillary carcinoma of the breast: clinical, mammographic, and sonographic findings with histopathologic correlation.* AJR Am J Roentgenol, 2002. 179(4): p. 927-31.
57. Paterakos, M., et al., *Invasive micropapillary carcinoma of the breast: a prognostic study.* Hum Pathol, 1999. 30(12): p. 1459-63.
58. Siriaunkgul, S. and F.A. Tavassoli, *Invasive micropapillary carcinoma of the breast.* Mod Pathol, 1993. 6(6): p. 660-2.
59. Kim, M.J., et al., *Immunohistochemical and clinicopathologic characteristics of invasive ductal carcinoma of breast with micropapillary carcinoma component.* Arch Pathol Lab Med, 2005. 129(10): p. 1277-82.
60. Nassar, H., *Carcinomas with micropapillary morphology: clinical significance and current concepts.* Adv Anat Pathol, 2004. 11(6): p. 297-303.
61. Yu, J.I., et al., *Differences in prognostic factors and patterns of failure between invasive micropapillary carcinoma and invasive ductal carcinoma of the breast: matched case-control study.* Breast, 2010. 19(3): p. 231-7.
62. Sapino, A., et al., *Expression of apocrine differentiation markers in neuroendocrine breast carcinomas of aged women.* Mod Pathol, 2001. 14(8): p. 768-76.
63. Luini, A., et al., *Metaplastic carcinoma of the breast, an unusual disease with worse prognosis: the experience of the European Institute of Oncology and review of the literature.* Breast Cancer Res Treat, 2007. 101(3): p. 349-53.
64. Al Sayed, A.D., et al., *Metaplastic carcinoma of the breast clinical presentation, treatment results and prognostic factors.* Acta Oncol, 2006. 45(2): p. 188-95.
65. Tse, G.M., et al., *Metaplastic carcinoma of the breast: a clinicopathological review.* J Clin Pathol, 2006. 59(10): p. 1079-83.
66. Reis-Filho, J.S., et al., *Metaplastic breast carcinomas are basal-like tumours.* Histopathology, 2006. 49(1): p. 10-21.
67. Reis-Filho, J.S., et al., *EGFR amplification and lack of activating mutations in metaplastic breast carcinomas.* J Pathol, 2006. 209(4): p. 445-53.

68. Tse, G.M., et al., *p63 is useful in the diagnosis of mammary metaplastic carcinomas.* Pathology, 2006. 38(1): p. 16-20.
69. Reis-Filho, J.S., et al., *Novel and classic myoepithelial/stem cell markers in metaplastic carcinomas of the breast.* Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2003. 11(1): p. 1-8.
70. Cooper, C.L., et al., *Molecular alterations in metaplastic breast carcinoma.* J Clin Pathol, 2013. 66(6): p. 522-8.
71. Geyer, F.C., et al., *Molecular analysis reveals a genetic basis for the phenotypic diversity of metaplastic breast carcinomas.* J Pathol, 2010. 220(5): p. 562-73.
72. Lien, H.C., et al., *Molecular signatures of metaplastic carcinoma of the breast by large-scale transcriptional profiling: identification of genes potentially related to epithelial-mesenchymal transition.* Oncogene, 2007. 26(57): p. 7859-71.
73. Sarrio, D., et al., *Epithelial-mesenchymal transition in breast cancer relates to the basal-like phenotype.* Cancer Res, 2008. 68(4): p. 989-97.
74. Vega, S., et al., *Snail blocks the cell cycle and confers resistance to cell death.* Genes Dev, 2004. 18(10): p. 1131-43.
75. Nassar, A., et al., *Diagnostic utility of snail in metaplastic breast carcinoma.* Diagn Pathol, 2010. 5: p. 76.
76. Puisieux, A., S. Valsesia-Wittmann, and S. Ansieau, *A twist for survival and cancer progression.* Br J Cancer, 2006. 94(1): p. 13-7.
77. Mani, S.A., et al., *The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells.* Cell, 2008. 133(4): p. 704-15.
78. Weigelt, B., B. Kreike, and J.S. Reis-Filho, *Metaplastic breast carcinomas are basal-like breast cancers: a genomic profiling analysis.* Breast Cancer Res Treat, 2009. 117(2): p. 273-80.
79. Isakoff, S.J., et al., *Breast cancer-associated PIK3CA mutations are oncogenic in mammary epithelial cells.* Cancer Res, 2005. 65(23): p. 10992-1000.
80. Hennessy, B.T., et al., *Characterization of a naturally occurring breast cancer subset enriched in epithelial-to-mesenchymal transition and stem cell characteristics.* Cancer Res, 2009. 69(10): p. 4116-24.
81. Borresen-Dale, A.L., *TP53 and breast cancer.* Hum Mutat, 2003. 21(3): p. 292-300.
82. Norberg, T., et al., *Comparison between p53 protein measurements using the luminometric immunoassay and immunohistochemistry with detection of p53 gene mutations using cDNA sequencing in human breast tumors.* Int J Cancer, 1998. 79(4): p. 376-83.
83. Kochhar, R., et al., *Metaplastic breast carcinoma with squamous differentiation: molecular and clinical analysis of six cases.* Breast J, 2005. 11(5): p. 367-9.
84. Lien, H.C., et al., *p53 overexpression and mutation in metaplastic carcinoma of the breast: genetic evidence for a monoclonal origin of both the carcinomatous and the heterogeneous sarcomatous components.* J Pathol, 2004. 204(2): p. 131-9.
85. Karim, R., et al., *The significance of the Wnt pathway in the pathology of human cancers.* Pathology, 2004. 36(2): p. 120-8.
86. Brennan, K.R. and A.M. Brown, *Wnt proteins in mammary development and cancer.* J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2004. 9(2): p. 119-31.
87. Hayes, M.J., et al., *Genetic changes of Wnt pathway genes are common events in metaplastic carcinomas of the breast.* Clin Cancer Res, 2008. 14(13): p. 4038-44.
88. Miyoshi, K., et al., *Activation of beta -catenin signaling in differentiated mammary secretory cells induces transdifferentiation into epidermis and squamous metaplasias.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2002. 99(1): p. 219-24.
89. Yook, J.I., et al., *Wnt-dependent regulation of the E-cadherin repressor snail.* J Biol Chem, 2005. 280(12): p. 11740-8.
90. Lin, S.Y., et al., *Beta-catenin, a novel prognostic marker for breast cancer: its roles in cyclin D1 expression and cancer progression.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2000. 97(8): p. 4262-6.
91. Zandi, R., et al., *Mechanisms for oncogenic activation of the epidermal growth factor receptor.* Cell Signal, 2007. 19(10): p. 2013-23.

92. Reis-Filho, J.S., et al., *Metaplastic breast carcinomas exhibit EGFR, but not HER2, gene amplification and overexpression: immunohistochemical and chromogenic in situ hybridization analysis.* Breast Cancer Res, 2005. 7(6): p. R1028-35.
93. Gilbert, J.A., et al., *Molecular analysis of metaplastic breast carcinoma: high EGFR copy number via aneusomy.* Mol Cancer Ther, 2008. 7(4): p. 944-51.
94. Tang, P., K.A. Skinner, and D.G. Hicks, *Molecular classification of breast carcinomas by immunohistochemical analysis: are we ready?* Diagn Mol Pathol, 2009. 18(3): p. 125-32.
95. Sorlie, T., et al., *Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2001. 98(19): p. 10869-74.
96. Nielsen, T.O., et al., *Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma.* Clin Cancer Res, 2004. 10(16): p. 5367-74.
97. Haupt, B., J.Y. Ro, and M.R. Schwartz, *Basal-like breast carcinoma: a phenotypically distinct entity.* Arch Pathol Lab Med, 2010. 134(1): p. 130-3.
98. Livasy, C.A., et al., *Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma.* Mod Pathol, 2006. 19(2): p. 264-71.
99. Kreike, B., et al., *Gene expression profiling and histopathological characterization of triple-negative/basal-like breast carcinomas.* Breast Cancer Res, 2007. 9(5): p. R65.
100. Kim, M.J., et al., *Clinicopathologic significance of the basal-like subtype of breast cancer: a comparison with hormone receptor and Her2/neu-overexpressing phenotypes.* Hum Pathol, 2006. 37(9): p. 1217-26.
101. Laakso, M., et al., *Cytokeratin 5/14-positive breast cancer: true basal phenotype confined to BRCA1 tumors.* Mod Pathol, 2005. 18(10): p. 1321-8.
102. Dabbs, D.J., et al., *Basal phenotype of ductal carcinoma in situ: recognition and immunohistologic profile.* Mod Pathol, 2006. 19(11): p. 1506-11.
103. Rakha, E.A., et al., *Morphological and immunophenotypic analysis of breast carcinomas with basal and myoepithelial differentiation.* J Pathol, 2006. 208(4): p. 495-506.
104. Varga, Z. and A. Noske, *Impact of Modified 2013 ASCO/CAP Guidelines on HER2 Testing in Breast Cancer. One Year Experience.* PLoS One, 2015. 10(10): p. e0140652.
105. Jacquemier, J., et al., *Typical medullary breast carcinomas have a basal/myoepithelial phenotype.* J Pathol, 2005. 207(3): p. 260-8.
106. Wang, H., et al., *May metaplastic breast carcinomas be actually basal-like carcinoma? Further evidence study with its ultrastructure and survival analysis.* Med Oncol, 2011. 28(1): p. 42-50.
107. Abd El-Rehim, D.M., et al., *Expression of luminal and basal cytokeratins in human breast carcinoma.* J Pathol, 2004. 203(2): p. 661-71.
108. Azizun, N., et al., *Comparison of ER, PR and HER-2/neu (C-erb B 2) reactivity pattern with histologic grade, tumor size and lymph node status in breast cancer.* Asian Pac J Cancer Prev, 2008. 9(4): p. 553-6.
109. Lee, H., et al., *Metaplastic breast cancer: clinicopathological features and its prognosis.* J Clin Pathol, 2012. 65(5): p. 441-6.
110. Gwin, K., et al., *Epithelial-to-mesenchymal transition in metaplastic breast carcinomas with chondroid differentiation: expression of the E-cadherin repressor Snail.* Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2010. 18(6): p. 526-31.
111. Moody, S.E., et al., *The transcriptional repressor Snail promotes mammary tumor recurrence.* Cancer Cell, 2005. 8(3): p. 197-209.
112. Blanco, M.J., et al., *Correlation of Snail expression with histological grade and lymph node status in breast carcinomas.* Oncogene, 2002. 21(20): p. 3241-6.
113. Foroni, C., et al., *Epithelial-mesenchymal transition and breast cancer: role, molecular mechanisms and clinical impact.* Cancer Treat Rev, 2012. 38(6): p. 689-97.
114. Bae, Y.K., et al., *Epithelial-Mesenchymal Transition Phenotype Is Associated with Clinicopathological Factors That Indicate Aggressive Biological Behavior and Poor Clinical Outcomes in Invasive Breast Cancer.* J Breast Cancer, 2015. 18(3): p. 256-63.

115. Hollestelle, A., et al., *Loss of E-cadherin is not a necessity for epithelial to mesenchymal transition in human breast cancer.* Breast Cancer Res Treat, 2013. 138(1): p. 47-57.
116. Carey, L.A., et al., *The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes.* Clin Cancer Res, 2007. 13(8): p. 2329-34.
117. Gibson, G.R., et al., *Metaplastic breast cancer: clinical features and outcomes.* Am Surg, 2005. 71(9): p. 725-30.
118. Ginestier, C., et al., *ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome.* Cell Stem Cell, 2007. 1(5): p. 555-67.
119. Ricardo, S., et al., *Breast cancer stem cell markers CD44, CD24 and ALDH1: expression distribution within intrinsic molecular subtype.* J Clin Pathol, 2011. 64(11): p. 937-46.
120. de Beca, F.F., et al., *Cancer stem cells markers CD44, CD24 and ALDH1 in breast cancer special histological types.* J Clin Pathol, 2013. 66(3): p. 187-91.
121. Visvader, J.E., *Keeping abreast of the mammary epithelial hierarchy and breast tumorigenesis.* Genes Dev, 2009. 23(22): p. 2563-77.
122. Zhou, L., et al., *The prognostic role of cancer stem cells in breast cancer: a meta-analysis of published literatures.* Breast Cancer Res Treat, 2010. 122(3): p. 795-801.