T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

MEMENİN İNTRADUKTAL HİPERPLAZİLERİ İLE KARSİNOMUNUN AYIRICI TANISI

Dr. M. Eşref KABALAR

Tez Yöneticisi

Prof. Dr. Muzaffer KELEŞ

9/006

UZMANLIK TEZİ

ERZURUM-2000

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

İÇİNDEKİLER

SAYFA

TEŞEKKÜR II

ÖZET III

GİRİŞ VE AMAÇ 1

GENEL BİLGİLER 3

GEREÇ VE YÖNTEM 22

BULGULAR 24

TARTIŞMA 40

SONUÇLAR 45

KAYNAKLAR 46

TEŞEKKÜR

İhtisas sürem boyunca ve tez çalışmalarımda yakın ilgi ve destek gösteren Prof. Dr. Muzaffer KELEŞ`e, Doç Dr. Cemal GÜNDOĞDU`ya, Yrd. Doç. Dr Nesrin GÜRSAN`a, Yrd. Doç Dr Zekai ERMAN`a, Yrd Doç. Dr. Fazlı ERDOĞAN`a, her konuda yardımcı olan arkadaşlarım Dr. Beyhan VAROL`a, Dr. Aynur SÖNMEZ`e, Dr. Ümran YILDIRIM`a, Dr. Sare ALTAŞ`a, tezimin hazırlanması sırasında emekleri geçen teknisyen arkadaşlarıma, istatistikleri hazırlamamda yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Ö. Cevdet BİLGİN`e teşekkürü borç bilirim.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

ÖZET

Meme kanserleri kadınlarda en sık görülen ve kanserden ölüm nedenleri içerisinde ikinci sırada yer alan malign tümörlerdir. Memenin intraduktal epitelial proliferasyonları intraduktal hiperplazi (IDH), atipik intraduktal hiperplazi (AIDH) ve duktal karsinoma in situ (DKIS) olarak gruplandırılmış olup invaziv karsinom açısından önemli risk faktörleri olduğu gösterilmiştir. IDH`ler özelliklede AIDH`ler DKIS`ya yakın benzerlik göstermekte olup ayrım için kullanılan histopatolojik kriterler bazen yetersiz kalmaktadır.

Çalışmamızda IDH, AIDH ve DKIS`nun ayırımında mutant p53 proteini ve bcl-2 onkoproteininin immünohistokimyasal olarak değerlendirmesi yapılmıştır. Materyal olarak Atatürk Üniversitesi Tıp fakültesi Patoloji Anabilim Dalı`na gelen biopsiler ve mastektomiler kullanıldı. Retrospektif olarak 60 vakanın değerlendirmesi yapıldı.

Çalışmamızın sonucunda, mutant p53 için immünoreaktivite IDH ve AIDH`li vakalarda izlenmezken DKIS`lu vakaların %23.5`i immünoreaktiv idi. Bu fark istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur. Ayrıca DKIS`nun diferansiyesi kötüleştikce mutant p53 için immünoreaktiv vaka oranının arttığı görüldü. Vakalarımızın bcl-2 için immünoreaktivite oranının IDH`den AIDH`ye ve DKIS`ya doğru istatistiki olarak gittikce anlamlı bir şekilde azaldığı bulunmuştur. Ayrıca DKIS`nun diferansiyesi kötüleştikce bcl-2 immünoreaktiv vaka oranının azaldığı görülmüştür.

Bu veriler sonucunda IDH, AIDH ve DKIS`nun ayrımında mutant p53 ve bcl-2 immünoreaktivite oranının histopatolojik kriterler ile birlikte kullanılmasının faydalı olacağı düşüncesindeyiz.

SUMMARY

Breast cancers are malıgn tumors seen more frequently in women and take the second place of death cause among the other types. The intraductal proliferations of breast are grouped as intraductal hyperplasia (IDH), atypical intraductal hyperplasia (AIDH) and ductal carcinoma in situ (DCIS) and are indicated as important risk factors in respect to invasive carcinoma. IDH, especially AIDH show very close similarity to DCIS and the histopathologic criteria used to separete them sometimes remain insufficient.

In our study, the immünohistochemical evaluation of mutant p53 protein and bcl-2 oncoprotein was made in the separation of IDH, AIDH and DCIS. As the research material, biopsies and mastectomies brought to Pathology Department of School of Medicine, Atatürk University. Sixty cases were evaluated retrospectively.

As a result of our study, though no immunoreactivity was observed for mutant p53 in the cases with IDH and AIDH, the 23.5% cases with DCIS were immunoreactive. This was found to be significant statistically. In addition, as the differantiation of DCIS became worse, it was observed that the rate ofm immunoreactive case increased for mutant p53. The immunoreactivity rate or our cases for bcl-2 was found to decrease significantly statistically beginning from IDH to AIDH and to DCIS. In addition, as the differentiation of DCIS became worse, it was observed that bcl-2 immunoreactive case rate decreased.

According to the results of these finding, we think that it will be benificial to use mutant p53 and bcl-2 immunoreactivity rates with histopathologic criteria in the separation of IDH, AIDH and DCIS.

GİRİŞ VE AMAÇ

Uzun yıllar yapılan çalışmalarda invaziv meme karsinomu gelişiminde pataloglar tarafından duktus ve lobülüsler içerisindeki epitelial hiperplaziler önemli risk faktörü olarak gösterilmiştir.[1,2]

Yapılan çalışmalarda, invaziv karsinom gelişim riski AIDH'de genel popülasyondan 4-5 kat daha fazla, IDH' de ise 1,5-2,5 kat daha fazladır. Birinci dereceden akrabasında (kız kardeşi, annesi veya kızında) meme kanseri öyküsü mevcut ise IDH ve AIDH`de bu risk iki katına çıkar. Ayrıca AIDH`li hastalar kanser gelişimi için daha büyük risk altında olmakla kalmazlar, aynı zamanda sonradan invaziv karsinom gelişim süreside kısadır.[1,2,4-7,9] Bu durum AIDH`li hastaların daha yakın takibe alınmasını gerektirmektedir.

Duktal karsinoma in situ (DKIS)`nun değişik formları ile AIDH`nin histopatolojisi birbirine benzemektedir. Yapılan çalışmalar hiperplazi, atipik hiperplazi ve karsinoma in situ tanısı açısından patologlar arasında ürkütücü farklılıklar olduğunu göstermiştir.[3,4] 1985 yılında memenin AIDH`si başlığı altında özel bir lezyonu bulunduğu yönündeki öneri Page tarafından yapılmıştır. Bugün AIDH`nin tanısında Page`nin tanı kriterleri temel alınmaktadır.[1,2]

IDH, AIDH ve DKIS`nun tanısını histopatolojik kriterlerden daha objektif olarak standardize edecek çalışmalara gereksinim vardır.[1,3,4]

Bir seri progressif gen değişikliğinden kaynaklandığı düşünülen tümör oluşumu, onkojenlerin aktivasyonu ve tümör süpressör genlerin inaktivasyonunu içermektedir. Tümör gelişiminde önemli olduğu görülen bir gen kategorisi programlanmış hücre ölümünün (apoptozis) regülasyonundan sorumludur. Bu genlerden bcl-2 geni, birçok fizyolojik ve patolojik durumlarda apoptozisi bloke eden protein kodlamaktadır. Apoptozis veya programlanmış hücre ölümü DNA hasarlı tümör hücrelerinin uzaklaştırıla bileceği bir mekanizmayı sergilemektedir. Bcl-2 ve p53 gen ürünlerinin her ikisi apoptozisle bağlantılıdır. Apoptozis inhibitörü olarak rol oynayan bcl-2 genetik değişiklikleri içeren hücrelerin yaşamını uzatabilir ve tümör progresyonunu kolaylaştırabilir. P53 gen mutasyonları sonucu oluşan mutant p53 buna benzer bir etkiye sahiptir.[8,10,11,12]

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU

Bizim amacımız bugüne kadar memenin IDH, AIDH ve DKIS`sunun ayrımında kullanılan histopatolojik kriterlere ilave olarak, mutant p53 proteini ve bcl-2 onkoproteinini immünohistokimyasal olarak değerlendirmek ve aralarında anlamlı farkın bulunup bulunmadığını araştırmaktır.

GENEL BİLGİLER

MEMENİN GELİŞİMİ

Memeler ektodermden gelişir. Yapı olarak değişime uğramış tubuloalveoler tipte ter bezi niteliğindedir.[13-15] İntrauterin hayatın 6. haftasında, embriyonun ön yüzünde üst ve alt ekstremite tomurcukları arasında ektodermin kalınlaşması ile meydana gelen iki çizgi halinde belirir. Bunlara ilkel süt çizgileri denir.[7,14,15] Bu süt çizgileri ventral tarafta ön uzantılardan arka uzantılara doğru gelişir. Süt çizgilerinin kavdal kısmı gelişim esnasında erkenden geriler.[15] Meme gelişiminin erken evresinde steroid seks hormonlarına duyarsızlığı dikkati çekmektedir.[16] İlk trimester sonuna doğru östrojen ve testesteron etkisiyle seks farklılaşması olur. Bu dönemde antiandrojenik etki veya testesteron reseptör yokluğu kadın yönünde meme gelişimiyle sonuçlanır.[7]

Fetal hayatın ikinci trimesterdeki bir fetusun göğüs bölgesindeki epitelin 15-25 noktasında iç tarafa doğru alttaki bağ dokusuna penetre olacak şekilde büyümesi daha sonra oluşacak süt kanallarının başlangıcını oluşturur.[15] Meme başı ve areola düz kası göğüs duvarındaki mezenkimal hücrelerin diferansiyasyonu sonucu 12. ve 16. haftalar arasında gelişir.[7]

3. trimesterde plasental hormonların etkisiyle kanaliküllerin oluşması başlar ve 32. haftaya kadar devam eder. Meme lobülleri, pigmente meme başı ve areola 32. ve 40. haftalarda gelişir.[7]Yeni doğmuş erkek ve kızların rudimenter meme bezleri, birbirlerine benzer olup 3,5-9 mm çaplı, maternal hormonlar etkisiyle meydana getirilen salgı materyali ile şişebilen kanaldan oluşur.[16,17]Pubertadan önce, süt bezleri süt sinüslerinden ve bu sinüslerin birkaç dalından, süt kanallarından oluşurlar.[16]

Puberta esnasında ise dişilerde süt bezlerinin gelişimi sekonder seks karekterlerinden birini teşkil eder. Bu periyod esnasında memelerde büyüme ile birlikte çıkıntılı bir meme başı gelişir. Buna mukabil erkeklerde memeler normalde düz olarak durumunu muhafaza eder. Puberta esnasında meme büyümesi yağ dokusu ile kollejenöz bağ dokusunun ve bunlara ilaveten süt kanallarının gelişme ve dallanmalarının kümeleşmesi sonucu ortaya çıkar. Süt kanallarının çoğalması ve yağın toplanması puberta esnasında ovaryum östrojenlerinin miktarındaki artışa bağlıdır.[16]

MEMENİN ANATOMİSİ

İnsanlarda memeler göğsün ön tarafında, sağda ve solda simetrik durumda bulunurlar. Normalde kadında 150-200 gram olan ağırlığı laktasyon sırasında 400-500 grama varır. Memeler genellikle 3. ve 6. kaburgalar yüksekliğinde bulunur. Tabanının

çapı 10-12 cm, yüksekliği 5-6 cm kadardır. İçte sternumun kenarı, dışta ön aksiller çizgiye kadar uzanır. Memenin tabanı M. pektoralis major'ü örter ve bu kasın fasıyasına gevşek bağ dokusu aracılığı ile tutunur. Bundan dolayı memeler göğüs duvarı üzerinde kolayca hareket ederler.[18,19]

Meme dokusunun ince bir tabaka biçiminde, yukarda belirtilen sınırları aştığı da olur; üstte klavikülaya, medialde orta çizgiye, lateralde latissimus dorsi kasının kenarına kadar yayılabilir. Meme dokusunun bazen aksillaya kadar bir kuyruk biçiminde uzanabileceği de bilinmektedir. Bu kuyruk palpasyonla ve büyük olduğu zaman inspeksiyonla farkedilebilir. Meme bezinin bu aksiller uzantısı iyi gelişmiş olduğu zaman, koltuk altı lenf bezlerinde metastaz ya da koltuk altında lipom sanılabilir. Bu hususlar meme dokusunun tümünü çıkarmayı amaçlayan ameliyatlarda önemlidir.[19]

Memelerin ortasının biraz aşağısındaki çıkıntıya papilla mammae veya mamilla (meme başı) denir. Meme başı etrafında koyu renkte yuvarlak bir alan görülür. Bu alana areola mammae denir. Papilla mammae ve areola mammae'yı örten deri daha fazla pigment bulundurur. Meme başının tepesinde dar ve kısa oluklar görülür ve buraya süt bezlerinin kanalları açılır.[18,19]

Meme bezi yüzeyel fasiyanın yüzeyel ve derin tabakaları arasındadır. Yüzeyel fasiya memeyi bütünü ile örtmez. Bir yandan deriye, öteyandan derin fasiyaya uzantılar gönderir. Derin fasiyaya giden uzantılar lobları birbirinden tam ve düzgün ayırmayan fibröz bölmeler yaparak stromaya karışır. İçinde lenf damarlarının bulunduğu bu fibroz doku kuşaklarına Cooper bağları denir.[14,19]

Memenin arteriyel kanı medialde A. mammaria interna'dan, lateralde (A. aksillarisin kolları olan) torakoakromial, lateral torasik ve dorsal torasik arterlerden ve 2., 3 ve 4. interkostal arterlerin yan dallarından gelir. Memenin en önemli arterleri A. mammaria internanın perforan dallarıdır ve memenin arteriyal kanının yarısı kadarını getirirler[18.19]Memenin venleri meme kanserinin ven yoluyla yayılmasının anlaşılabilmesi için önemlidir. Yüzeyel deri altı venleri yüzeyel fasyanın, yüzeyel tabakasının hemen altındadır. Derin venler üç gurupta incelenebilir: V.mammaria interna'nın perforan dalları, memenin derin yüzünden bir çok dallar alan V. aksillaris ile interkostal venler yoludur. Derin venler akciğere metastaz yollarını oluştururlar. Vertebral ven sistemi meme kanseri metastazlarının, kaval sistem ve akciğerden geçmeksizin, doğrudan doğruya kemiklere gidebileceği bir yoldur.[19]Meme lenf

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

damarlarından çok zengindir. Lenf damarları, biri deri altında, diğeri bez dokusu arasında bulunan bağ dokusu içerisinde olmak üzere, iki temel ağ meydana getirirler. Bu ağlardan çıkan lenf damarları başlıça üç yolla memenin bölgesel lenf bezlerine ulaşırlar. Bu yollar; aksiller yol, traspektoral yol ve mammaria interna yoludur.[18,20]

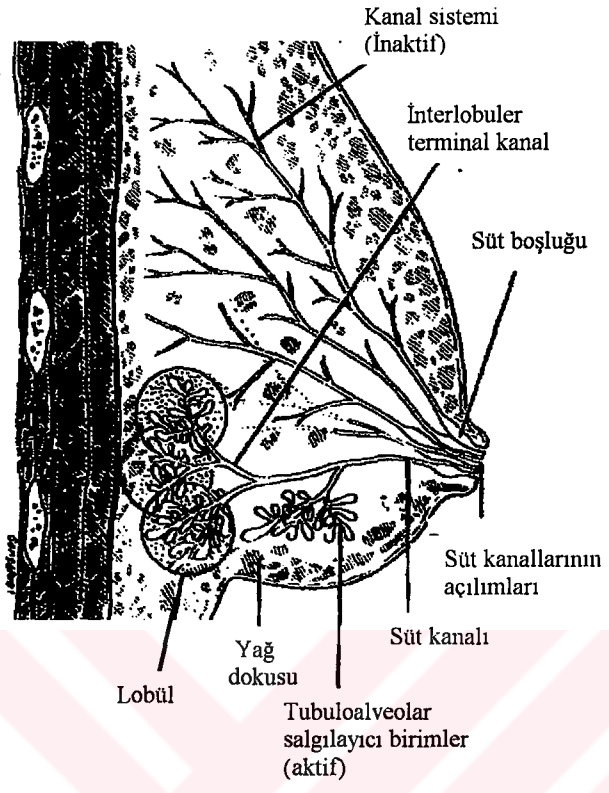
MEMENİN HİSTOLOJİSİ

Meme bazal membran ile çevrilmiş duktus, duktulus ve lobuloasiner yapı ile yağ, damar, fibroblast içeren stromadan oluşur. Her meme bezi bileşik tubuloalveolar tipte 15-20 lobdan oluşmuştur. Yoğun bağ dokusu ve daha fazla yağ dokusuyla diğerlerinden ayrılmış olan herbir lob, kendi süt boşaltım kanalı (laktiferoz duktuslar) ile hakiki bir güddedir. Bu kanallar 2-4,5 cm uzunlukta olup, meme başında bağımsız olarak 15-20 açılma yerine sahiptir, bunların herbiri takriben 0,5 mm çaptadır. Laktiferoz duktuslar distalde terminal duktuslara ayrılır.[4,15,16]

Pubertadan önce, süt bezleri süt sinüslerinden ve bu sinüslerin birkaç dalından, süt kanallarından oluşurlar. Puberta esnasında ise dişilerde süt bezlerinin gelişimi sekonder seks karekterlerinden birini teşkil eder. Puberta esnasında meme büyümesi yağ dokusu ile kollejenoz bağ dokusunun ve bunlara ilaveten süt kanallarının gelişme ve dallanmalarının kümeleşmesi sonucu ortaya çıkar. Süt kanallarının çoğalması ve yağın toplanması puberte esnasında ovaryum östrojenlerinin miktarında bir artış olması sebebiyledir.[16]

Erişkin dişinin tipik bez yapısı, lobul en küçük kanalların (terminal interlobuler kanallar) uçlarında gelişir ve terminal duktal lobuler ünit`i oluşturur. Bir lobül bir terminal inter lobuler kanal içine açılan birkaç intra lobular kanaldan ibarettir. Herbir lobul, gevşek, hücresel, intralobular bağ dokusu içine gömülür.[4,16]Meme uçlarının açılış yerlerine yakın, süt kanalları süt sinüsleri şeklinde genişler (Şekil 1). Süt sinüsleri onların dışa açıldığı yerlerde çok katlı yassı epitelle sınırlanırlar. Bu epitel çok çabuk olarak çok katlı prizmatik epitelle değişir. Elektron mikroskopla süt kanallarının incelendiğinde bazal lamina üzerine uzanan hücrelerin myoepitel hücreler olduğu, lümene yakın hücrelerin ise kanal epitel hücreleri olduğu görülmektedir. Ana duktuslar çift tabakalı kuboidal epitelle döşelidir. Terminal interlobüler kanallar, bazal lamina üzerinde yer alan devamlı olmayan myoepitel hücre tabakasından ve basit kuboidal epitel tabakasından oluşur.[15,21]

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ



Şekil 1. Memenin duktal ve lobuler yapısı

İntralobuler stroma lenfosit ve plazma hücresi içeren gevşek fibröz konnektif dokudan, interlobuler stroma dens kollejenöz dokudan oluşur. Plazma hücre miktarı gebeliğin sonuna doğru önemli derecede artar, bu hücreler yeni doğanda pasif immünite veren immunglobilinlerin (salgısal IgA) sekresyonundan sorumludur.[15,21]

Menstrual siklus esnasında bezlerin histolojik yapısında ve stromada değişiklikler meydana gelir. Menstrual siklusun proliferatif fazında myoepitel hücreler belirsizdir, stroma denstir ve erken dönemde sellülerdir. Menstrual siklusun sekretuar fazında intralobüler stromada ödem ve lenfosit izlenir. Progesteronun etkisiyle terminal duktusta proliferasyon artar, bazal epitel hücrelerinde mitotik aktivite artar ve myoepitel hücrelerin stoplazmalarında vakuolizasyon izlenir. Dilate lümenlerde sekretuar materyal mevcuttur. Menstruasyon meydana geldiğinde duktus boyutları küçülür ve epitel hücreleri apopitozise uğrar ve dökülür, intralobüler konnektif doku atrofiye uğrar ve stromal ödem kaybolur.[15,16,21,22]

Gebelik sürecinde plasentadan salgılanan östrojenler, meme bezlerindeki kanal sisteminin büyüyüp dallanmasını sağlar. Bununla beraber duktus sisteminin

büyümesinde büyüme hormonu, prolaktin, böbreküstü glikokortikoidleri ve insülin gibi hormonlar önemlidir. Meme bezlerinin nihai olarak süt salgılayan yapıya dönüşümü, progesteron etkisinin eklenmesiyle mümkündür. Süt bezleri, gebelik esnasında terminal interlobüler kanalların uçlarında alveollerin çoğalmasının bir sonucu olarak son derece hızlı bir büyüme gösterir. Alveoller aktif süt salgısı oluşturur. Epitel hücreleri intrasitoplasmik vakuolizasyon içeren eosinofilik sitoplazmalı pleomorfik hücrelerdir. Yağ ve konnektif doku relatif olarak azalmıştır.[15,23]

İNTRADUKTAL HİPERPLAZİ

İntraduktal hiperplazi`nin tanımı

IDH`ler epitel veya epitel, myoepitel ve metaplazik apokrin hücrelerin ilave karışımına sahip heterojen hücre popülasyonun proliferasyonu ile karekterizedir.[1,7] Bu proliferasyon her zaman myoepitel hücrelerin kesintili tabakası ile kuşatılmış iki tabakayı aşan proliferasyonu içermektedir. IDH adı aynı değişiklikler için epiteliyozis ve papillamatozis olarakda kullanılmıştır.[4,7] IDH`de hücreler sıklıkla overlapping yapan belirsiz stoplazmik kenarlara sahip hücrelerdir.[7,27] Çekirdek görünüşleri değişiklik arz eder. Mitoz çok nadir olarak izlenebilir. Çoğu periferal yerleşim gösteren, hacim ve biçimce düzensiz, yarık benzeri boşluklar (sekonder luminalar) izlenir. Streaming patern mevcut olabilir. Nükleer uzun eksenin köprüye parelellik gösterdiği epitel köprüleri izlenebilir. Apokrin metaplazi fokal olarak izlenebilir. Köpüksü makrofajlar proliferatif epitelle karışmış olarak lümende bulunabilir. Nekroz ve kanama çok seyrek olarak izlenebilir. İntraluminal ve stromal kalsifikasyon görülebilir.[4,7,27]

IDH`ler proliferasyonun şiddetine göre derecelendirilir. Bunlar; hafif, orta, ileri derecede IDH`dir.[4,7]

Hafif derecede IDH: Bazal membranın üzerinde 3-4 sıralı hücre tabakası izlenir. Bu hücreler hafif papiller veya oluğa benzer yapılar oluşturur.[4,7]

Orta derecede IDH: Hücreler 5-6 tabaka şeklinde çoğalarak enine demetleşme eğilimindedirler. Hücreler girdap ve akarsu şeklinde sıralanır. Sekonder lümenler ve köprüler izlenir.[4,7]

Şiddetli IDH: Lümen çok doludur, sekonder lümenler periferal yerleşimli ve büyüktür.[4,7]

IDH`nin klinik özellikleri ve önemi

IDH`li kadınlar ya ele gelen bir kitleye veya mamografik olarak şüpheli alanlara sahiptirler. Yaş aralığı 15-75 yaş olup ortalama yaş 45 dir.[1,12] IDH lerin önemi genel popülasyondan daha fazla invaziv meme karsinomu gelişim riskine sahip olmasıdır. Bu risk orta ve şiddetli derecedeki IDH`de kontrol gruplarına göre 1.5-2.5 daha fazladır.[4,5,7,25,26,52] Birinci dereceden akrabasında (kız kardeşi, annesi, kızı) meme kanseri öyküsü mevcut ise bu risk iki katına çıkar.[1,7] IDH`de karsinom gelişim süresi ortalama 14.3 yıldır.[1]

IDH`li vakalar müteakip invaziv karsinom gelişimi için hafif riskten dolayı bir uzman tarafından takibe alınmalıdır. Diğer risk faktörlerinin yokluğunda 40-49 yaş arası kadınlar için her bir veya iki yılda mamografi tedbir açısından yapılmalıdır.[7]

ATİPİK İNTRADUKTAL HİPERPLAZİ

Atipik intraduktal hiperplazi`nin tanımı

Meme epitelinin atipik histolojik paternleri uzun süreden beri belirlenmiştir. Memenin AIDH adı altında özel bir lezyonu bulunduğu yönündeki öneri ise 1985`te Page ve arkadaşları tarafından yapılmıştır.[2] AIDH, DKIS`nun tüm özelliklerine sahip olmayıp bir kısım özelliklerine sahip lezyonlar için kullanılmıştır. AIDH`ler ayrıca olağan IDH`in bazı özelliklerine sahip lezyonlar olarak tanımlanmıştır.[2,7]

Page ve arkadaşları AIDH`nin kalitatif ve kantitatif boyutlarını tanımlamışlardır. Kalitatif boyut; IDH ile DKIS arasında kalan lezyonlardır. AIDH`de hücreler üniform, monoton özelliktedir. Çekirdek stoplazma oranı artmıştır ve nükleus yuvarlaktır. Nukleer hiperkromazi mevcuttur veya değildir. Hücre sınırları belirgin olabilir. Fokal olarak IDH hücreleri ile karışık olabilir veya tamamen üniform hücrelerden oluşur. Bazen viral değişiklikleri veya radyasyona bağlı atipiyi taklit eden, mültilobüle çekirdeklere sahip, çekirdekçikleri oldukça net bir şekilde izlenen atipik hücreler görülebilir. AIDH, IDH`ye benzer paternler gösterir.[2,7,27] Kantitatif boyut; DKIS tanısı için lezyon en az iki duktusu tutmalıdır. Tek duktus tutulmuş ise DKIS`nun kalitatif özelliklerini taşısa bile AIDH olarak nitelendirilir.[2] Kantitatif boyuta bir öneride Tavassoli`den gelmiştir. Tavassoli`ye göre tutulan duktus veya duktulus sayısı önemli değildir. Bir lezyonun DKIS olarak niterendirilebilmesi için kalitatif yeterliliklerle birlikte tutulan duktus ve duktullerin enine kesit çaplarının en az 2 mm olması

gerekmektedir. 2 mm den küçük olduğu zaman AIDH tanısı konmalıdır.[1,2,7] Tavassoli iki önemli noktayı vurgulamaktadır: (1) 2 mm boyut kriteri, hem yapısal hemde sitolojik özellikleri düşük gradeli DKIS`larinkine benzer olan nonnekrotik atipik proliferasyonların değerlendirmesinde kullanılır. (2) Proliferasyonun boyut veya miktarına bakılmaksızın yüksek gradeli sitolojili (nekrozlu veya nekrozsuz) proliferasyonlar DKIS olarak nitelenir.[6]

Atipik intraduktal hiperplazi`nin klinik önemi

AIDH` li bayanların klinik bulguları IDH`li hastalarınkine benzerdir. 15-78 yaş aralığında görülmekte olup, ortalama yaş 50 dir. Bu ortalama yaş olağan IDH`li kadınların ortalama yaşından 5 yaş daha fazladır.[7] Mamografinin yaygın kullanımından önce meme biopsisi yapılan kadınların %2 ile %5 kadarının AIDH`ye sahip olduğu görülmüştür.[2,7,51]

Bir kadında invaziv meme kanseri gelişimi için morfolojik faktörler araştırıldığında, duktuslar ve asinüsler içindeki epitelial hiperplazilerin önemli bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir.[2]

Yapılan çalışmalarda invaziv karsinom gelişim riski AIDH`de genel popülasyondan 4-5 kat daha fazladır.[1,2,9,29,51,53,54] Birinci dereceden akrabasında (kız kardeşi, annesi veya kızında) meme kanseri öyküsü mevcut ise bu risk iki katına çıkar.[1,2,7] Ayrıca AIDH`li hastalar kanser gelişimi için daha büyük risk altında olmakla kalmazlar, aynı zamanda invaziv karsinom gelişim süresi IDH`li (ortalama invaziv karsinom gelişim süresi 14.3 yıldır) hastalardan daha kısadır (Ortalama 8.3 yıl).[1,7]

AIDH ile ilişkili sonradan kanser gelişimi için orta derecede artmış riski ve IDH ile mukayese edildiğinde sonradan kanser gelişimi daha kısa zamanda başlaması dikkate alındığında, AIDH`li kadınları daha yakın takibe almak gereklidir. Tavsiye edilen takip aralığı 40 yaş yukarısı için mamografik olarak her yıl her iki memenin 3-4 defa incelenmesidir.[7]

DUKTAL KARSİNOMA İN SİTU

DKIS`nun tanımı

DKIS, büyük çoğunluğu terminal duktal lobular unit (TDLU)`den, bir kısmıda ekstralobular büyük duktuslardan kaynaklanan heterojen bir grup karsinomları içerir.[4,7]

DKIS stromal invazyon belirtisi olmaksızın duktus içerisinde sınırlı malign epitelial proliferasyonu tanımlar.[7]

DKIS`nun kliniği

Son yıllarda özellikle mamografinin yaygın kullanılması ile birlikte DKIS`nun insidansında önemli oranda artış görülmüştür.[30-33,37] DKIS insidansının artışının sadece tanı yöntemlerinin gelişmesine ve mamografik tarama programlarının kullanımıyla açıklanamıyacağı, gerçek sıklığında belirgin artış olduğu görülmektedir.[31] Yaygın mamografi tarama uygulamalarından önce DKIS meme karsinomlarının %0,84-%5,5`ini oluşturduğu görülmekteydi. 1980 den sonra mamografinin yaygın kullanımıyla birlikte bu oran artmıştır ve bugün meme malignensilerinin %20-%30 kadarını oluşturmaktadır.[7,31,34,36,67]

DKIS klinik olarak palpe edilen bir kitle, Paget hastalığı, meme ucu akıntısı şeklinde veya sıklıkla mamagrafik anormalliklerle karşımıza çıkmaktadır.[7,31] Vakaların %10 kadarı benign lezyonların biopsileri sırasında gizli lezyonlar olarak görülmektedir.[34,58] DKIS`lu vakaların %60-%70 kadarı rutin mamografi ile tesbit edilebilmektedir.[35] Mamografik bulgular: Kalsifikasyon, kitle, kitle ve kalsifikasyondur.[30]

DKIS`da rekurrens, yapılan çeşitli çalışmalarda lumpektomiyi takiben %8-%63 arasında olup, ortalama %20`dir.[31,47,48,49] Düşük gradeli DKIS`da rekurrens daha düşük oranda tesbit edilmiştir.[57] Rekurrenslerin %44 kadarı invaziv karsinomdur.[31] Lagios ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 2,5 cm`ye kadar olan DKIS`larda multisentrisite %14 iken 2,5 cm`den büyüklerde %54 ve ortalama %32 bulmuştur.[49] Fakat yapılan son çalışmalarda multisentrisite tanımı uygulandığında gerçek multisentrik DKIS oranının %1,5 kadar düşük olduğu belirtilmektedir.[35] DKIS`da bilateralite oranı %2,2-%10 arasındadır.[7] Lenf nodu metastazı %1`in altında izlenir.[31,50]

DKIS`nun mikroskobik tipleri

DKIS`nun birkaç morfolojik varyantı mevcuttur.[4] En iyi tanınan paterni komedokarsinomdur. Yine göreceli olarak papiller, kribriform, mikropapiller varyantlar en iyi bilinenlerdir. Kribriform ve mikropapiller varyantlar, mamografinin yaygın kullanılmasından sonra DKIS`nun yüksek bir oranını oluşturmaktadır. Ayrıca

intraduktal apokrin, clinging, saydam hücreli, taşlı yüzük hücreli karsinomlar ve az görülen bazı özel karsinom tipleri mevcuttur.[7]

Her bir varyantın diagnozu için histolojik özellikler ayrı ayrıdır. Genellikle bu paternlerin iki veya daha fazlası bir arada bulunur. Komedokarsinom, bir biopside tek başına en sık görülenidir.[7]

Komedokarsinom:

Santral nekrozun, sitolojik atipinin, sıklıkla gevşek koheziv, pleomorfik hücrelerin varlığı ile karekterize yüksek nükleer gradeli karsinomdur.[7,38,39,40,41,56] Mitoz bazı vakalarda çok, bazı vakalarda azdır. Miyoepitelial hücre tabakası duktusların çevresinde çoğunlukla yoktur fakat bazı vakalarda mevcut olabilir.[7] Kalsifikasyon, sıklıkla nekrotik alanlara eşlik eder. Stromada periduktal konsantrik fibrozis, hafif veya orta derecede mononükleer inflamatuar reaksiyon izlenir.[4] Genellikle 2-5 cm arasında olmakla beraber 5 cm`yi aşabilirler. Tümörün yaklaşık yarısı santral yerleşimlidir.[4,7] %32-%33 multisentrik, %10 bilateraldir.[4] Lumpektomiden sonra rekürrens çeşitli yayınlarda %7-%20 olarak bildirilmiştir.[22,42,43,44,58] Rekürrenslerin yaklaşık yarısı invaziv özelliktedir.[22]

İn situ papiller karsinom:

%90`nından fazlası palpa edilebilen kitle oluşturur ve yarısından fazlası santral yerleşim gösterir.[7] Genellikle 1-3 cm çapında olup 5 cm den büyük olabilir.[22,55.] Mikroskobik olarak myoepitelial hücre bulundurmayan, genellikle kistik genişlemiş duktuslar içerisinde yer alır. Neoplastik hücreler, fibrovasküler stromal çatı etrafında dizilim gösteren, nükleer hiperkromazi, yüksek nükleo-stoplazmik oran ve mitotik aktiviteye sahip uniform hücrelerdir. Apokrin hücrelerin bulunmaması, stromanın azlığı papiller karsinom lehine bulgulardır.[4]

Kribriform tip:

Duktus lümeni içerisinde Roman köprüleşmeleri gösteren, sekonder lümen yapıları oluşturan neoplastik hücre proliferasyonudur. Sekonder lümenler yuvarlak ve düzgün sınırlıdır. Bazen santral kısım boştur. Roman köprülerinde hücreler, köprünün

uzun eksenine diktir. Sitolojik olarak genelde küçük, yuvarlak çekirdekli ve dar stoplazmalı üniform hücrelerden oluşur.[4,7] Nekroz ve kalsifikasyon izlenebilir.[7, 39,45]

Mikropapiller tip:

Kribriform varyant için tarif edilenlere benzeyen uniform hücre popilasyonunun mikropapiller tipte proliferasyonudur. Sitolojik atipi izlenebilir.[7] Papiller yapıların ortasında fibrovasküler çatı izlenmez. Kribriform ve mikropapiller tip DKIS`da bazen çok miktarda inralüminal materyal izlenebilir.[4,7] Kalsifikasyon izlenebilir.[45] DKIS`yı kribriform ve mıkropapiller tip olarak tanımlamak için tutulan duktus veya duktulusların enine çaplarının en az 2 mm olması gerekmektedir.[12] Mikropapiller tip DKIS`da multisentrisite ve multifokalite oranları yüksektir.[7,39,46]

Solid tip:

Gland lümenini dolduran neoplastik proliferasyon izlenir.[4,22] Hücreler orta büyüklükte, komedokarsinomdan daha uniform hücrelerdir. Çoğunlukla soluk sitoplazmalı hücre sınırları belirgin hücreler izlenir. Küçük nekroz odağı ve kalsifikasyon izlenebilir.[4,22,45]

İntraduktal apokrin karsinom:

İntraduktal karsinom olarak nitelendirmek için prolifere hücreler atipi göstermeli, bol granüler eozinofilik sitoplazmalı olmalı ve beraberinde nekroz görülmelidir. Nekroz görüldüğünde, bir tek duktusun içeriği bile duktusun hacmine bakılmaksızın karsinom diagnozu için yeterlidir. Nekroz yoksa, kribriform ve mikropapiller paternler için kullanılan aynı kantitatif kurallar uygulanır. Apokrin metaplazi ve hiperplazi fibrokistik değişikliklerle sık görüldüğünden dolayı, intraduktal apokrin karsinom`un tanısında özelikle dikkatli olmalıdır.[7]

Clinging karsinom:

İki değişik tip tariflenmiştir. Birisi komedokarsinoma benzer fakat nekrotik luminal debriden yoksundur. Bu varyantda oldukça atipik hücrelerin birkaç tabakası ile döşenmiş duktuslar izlenir. Lümenler boştur veya granüler sekretuar materyal içerir.[4,7] İkinci tipde nekroz yoktur ve atipik hücrelerin tek tabakası ile döşeli duktuslar izlenir.[7] Bu ikinci tipe bazı yazarlar isteksizce yaklaşmaktadırlar ve bütün biopsi örneklerinin

seviyeli, dikkatli incelenmesi gerektiğini, başka bir lezyon yoksa atipik hiperplazi olarak yorumlanmasını önermektedirler.[7,40]

İntraduktal clear cell karsinom:

Berrak stoplazmalı prolifere hücrelerle karekterizedir. Bu yapı sıklıkla olağan kribriform varyantla karışmış olarak görülür.[7]

İntraduktal taşlı yüzük hücreli karsinom:

DKIS`nun çok ender görülen varyantıdır. Solid veya papiller gelişim paternlerindeki taşlı yüzük hücrelerinin proliferasyonu ile karekterizedir.[7]

Kistik hiperseksekretuar tip DKIS:

Kistik genişleme gösteren duktal boşluklar yoğun sekretuar materyel içerir. Boşlukları döşeyen hücreler sıklıkla mikropapiller yapılar oluşturur.[4]

DKIS`nun klasifikasyonu

Günümüzde DKIS`nun yapısal paternlere göre sınıflandırılmasının önemi azalmıştır. DKIS`nun klasifikasyonu, lokal rekurrens ihtimalini, sonradan mastektomi riskini, muteakip invaziv karsinom riskini ve mortaliteyi yansıtmalıdır.[32] Bugün çoğunlukla nükleer grade, nekroz ve hücre polarizasyonunu içeren sınıflandırmalar ön plana çıkmıştır.[32,39,40]

Nükleer grade: Düşük nükleer grade`de nükleuslar monoton görünümde, normal eritrosit veya duktus epitel hücre çekirdeğinin 1.5-2 katı boyutunda, diffüz ince kromatin dağılımlı, az sayıda nükleolusa ve mitoza sahiptir. Yüksek nükleer grade`de nükleus belirgin bir şekilde pleomorfik, eritrosit veya duktus epitel hücre çekirdeğinin 2.5 katından daha büyük, veziküler, düzensiz kromatin dağılımlı, belirgin çok sayıda nükleolus ve mitoza sahiptir. Orta derecede nükleer grade`de nükleus diğer iki grade arasındaki nükleusları içerir.[39,59]

Nekroz: Ghost hücrelerin ve karyorektik hücrelerin varlığı ile karekterizedir. Bunlar nekrotik debrileri sekretuar materyalden ayıran önemli özelliklerdir. Nekroz, komedo veya nokta nekrozu niteliğindedir. Komedonekroz`da duktusdaki herhangi bir santral nekroz bölgesi, eğer uzunlamasına kesit alınmışsa duktusdaki bir lineer paterni

genellikle sergiler. Nokta nekrozu, bölgesel olmayan tip nekrozdur ve uzunlamasına kesit alınmışsa lineer patern sergilemeyen nekroz odakları izlenir.[39]

Hücre polarizasyonu: Lümen veya rozet benzeri görünüm oluşturan mikroasiner alanlara doğru tümör hücrelerinin radial oryantasyonunu yansıtır. Böyle polarizasyon kribririform ve solid yapılı daha düşük gradeli DKIS`nun özelliğidir. Polarizasyon ayrıca mikropapillalarda, hücre çıkıntılarında, köprülerde ve kemerlerde tanınabilir.[39]

Bu parametreler dikkate alınarak çoğu üç basamaklı derecelendirme sistemleri oluşturulmuştur. Bu derecelendirme sistemlerinden belli başlıları; European Pathologists Working Group (EPWG), European Commission Working Groups Breast Screening Pathology ve United Kingdom (ECWGBSP/UK), Van Nuys, Holland ve arkadaşları, Tavassoli, Silverstein ve arkadaşları, Scott ve arkadaşlarına aittir.[32,33,40,56,59,60]

EPWG Klasifikasyonu: Bu sistem bir grup Avrupa`lı Patologist tarafından kurulmuştur. Üç kategori tanımlanmıştır: (1) Az diferansiye, yüksek nükleer grade sahiptir. Polarizasyon yoktur veya fokal olarak mevcuttur. Gelişim paterni genellikle solid`dir, fakat kribriform veya mikropapiller olarak görülebilir. Santral komedo tip nekroz genellikle vardır. Kalsifikasyon varsa amorftur. (2) İyi diferansiye, düşük nükleer grade sahiptir. Hücreler sekonder lümenler çevresinde veya oryantasyonu lümene doğru olan papillalar üzerine polarizasyon gösterirler. Ayrıca solid varyant gerçekleşmesine rağmen, gelişim paterni genellikle kribriform, mikropapiller, clinging dir. Nekroz yaygın değildir ve minimal olma eğilimi gösterir. Bulunduğunda ise kalsifikasyon genellikle psammomatozdür. (3) Orta derecede diferansiye, az diferansiye gruptaki kadar belirgin olmayan pleomorfizim gösteren hücrelerden oluşmuştur. Bu hücreler polarizasyon gösterir fakat bu iyi diferansiye kategorisinden genellikle daha azdır.[32,33]

ECWGBSP\UK Klasifikasyonu: Bu klasifikasyon UK National Health Service Breast Screening Program(NHSBSP) ve Europe Against Cancer Program altındaki European Commission`u tarafından onaylanmıştır. Yüksek, düşük ve orta derecede nükleer grade olarak sınıflandırılmıştır. Hücre polarizasyonu ve nekroz dikkate alınmamıştır[(32,33).]

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU

Van Nuys Klasifikasyonu: Nükleer morfolojiye dayalı olarak high grade ve non-high grade ayrılmıştır. Non-high grade nekrozlu ve nekrozsuz olarak ayrılmıştır. Böylece üç grup oluşmuştur: Grup (1) nekrozsuz non high grade, grup (2) nekrozlu non high grade, grup (3) high grade.[32,33,61,62]

Son yıllarda Avrupa ekolünü temsil eden Holland ve arkadaşlarınınki ile Skott ve arkadaşlarının önerdikleri sınıflandırma ön plana çıkmıştır. Bu klasifikasyonların karşılaştırılması ve özellikleri Tablo 1`de gösterilmiştir.[60,62]

Tablo 1 DKIS klasifikasyon şemalarının karşılaştırılması

	Holland ve ark..	Scott ve ark
Yüksek grade	Yüksek nükleer grade ve yapısal diferansiyasyonun olmayışı (Hücre polarizasyonu)	Komedo patern, yüksek nükleer grade, yaygın nekroz.
Orta derecede grade	Orta derecede diferansiye hücreler Arşitektür solid veya değil fakat hücreler boşluklara doğru yada mikropapillalar çevresinde dizilim gösterirler.	Saf yada karışık nonkomedo patern, nekroz yok veya fokal. Orta derecede nükleer grade.
Düşük grade	Düşük nükleer grade ve iyi arşitektürel diferansiyasyon (Hücre polarizasyonu).	Non-komedo patern, düşük nükleer grade, nekroz yok.
Sipesifik tip		Mikropapiller DKIS Apokrin DKIS

Son yıllarda IDH, AIDH ve DKIS için yeni sınıflama önerilmiştir. Bu sınıflamada IDH, AIDH ve DKIS duktal intraepitelial neoplasi (DIN) çatısı altında toplanmıştır. DIN sınıflamasında IDH, DIN1a; AIDH, DIN1b,c`de; DKIS ise DIN1c,2,3` de yer almaktadır. DIN sınıflamasının avantajları şu şekilde ifade edilmiştir

1. Farklı gözlemciler tarafından uygulanan kanser/nonkanser olarak tanı koyulmasının azalması,

2. Tüm ayrı ve yeni subkatagorileri ayırmak (IDH; AIDH`ın farklı tipleri, düşük, orta, yüksek gradeli DKIS). Düşük gradeli DKIS ile AIDH aynı grupta yerleştirilir,
3. Kanser terimini ve düşük gradeli DKIS için uygulamaya ait standartlarda coğrafik varyasyonlardan dolayı olası mastektomiyi elimine edilir,
4. Hasta ve ailesi için kanser teşhisi ile ilişkili anksiyete ve emosyonel sitresi azaltarak hastalığın tedavi protokolüne kişisel yaklaşım yapılabilecektir,
5. Monomorfus clincing DKIS(MC-DKIS) sistem kapsamına girecektir,
6. Modifikasyon çok kolay olacaktır. Spektrum içinde ayırt edici subgruplar hakkında daha çok bilgi edilinecektir.[6]

MEMENİN İNTRADUKTAL HİPERPLAZİLERİ İLE DKIS`NUN AYIRICI TANISI

Karsinoma in situ ve epitelial hiperplazi arasında histolojik sınır bölgede karsinoma in situnun bir kısım özelliklerine sahip lezyonlar vardır. Bu tanısal gri bölgede bazılarının tercihen sitolojik, histolojik ve/veya kantitatif özellikleri kullanması, tanıda farklı görüşlere yol açmaktadır.[1]

DKIS`nun değişik formları ile AIDH`nin birbirine benzemesi oldukça endişe vericidir. Yapılan çeşitli çalışmalarda IDH, AIDH ve DKIS tanısı açısından patologlar arasında ürkütücü farklılıklar izlenmiştir.[3,4,7] Rosai`nin yapmış olduğu bir çalışmada hiperplazi, atipik hiperplazi ve karsinoma in situ tanısını kendi ünitelerinde pratikte kullandıkları kriterleri temel alarak değerlendirmeleri için, meme patolojisinde isim yapmış beş konsultan patoloğa kendi arşivinden gönderdiği preparatları değerlendirmelerini istemiştir. Beş patoloğun aynı görüş bildirdiği olgu olmamıştır.[3]

AIDH`yi DKIS`dan ayırt etmek için minimal gereksinimlerin kesin tarifi gereklidir. Aynı zamanda AIDH`yi olağan IDH`den ayırt etmek için olağan IDH`nin özelliklerini iyi tanımlamak gereklidir.[7] Olağan IDH`yi AIDH`den ve AIDH`yi DKIS`dan ayırt etmeye yardım edecek mevcut kriterleri daha fazla geliştirmek ve özellikleri daha iyi açıklayacak hale getirmek için Page ve Tavassolli sitolojik, yapısal ve kantitatif özellikleri birleştirici kriterler önermişlerdir.[1,2,7,27] Bu kriterler dikkate alınarak yapılan bir çalışmada pataloglar arasında görüş birliğinin arttığı görülmüştür.[64] Atipik hiperplazik lezyonları tanımanın önemi bunların kolay bir şekilde karsinoma in

situ olarak fazlaca rapor edilebilmeleridir. Memenin atipik proliferatif epitelial lezyonlarının tanısında bugün en yaygın olarak kullanılan tanı kriterleri Page ve arkadaşlarına aittir.[2] Page ve arkadaşlarına ait olan ve Tavassoli tarafından modifiye edilen IDH, AIDH ve DKIS ayırıcı tanısında kullanılan hitopatolojik kriterler Tablo 2`de gösterilmiştir.[1,2,7,27]

Tablo 2 IDH, AIDH VE DKIS`nun ayırıcı tanısında kullanılan histopatolojik kriterler

	IDH	**AIDH**	**DKIS(NON KOMEDO)**
Hücresel özellikler	Epitelial, myoepitelial, periferal myoepitelial ve/veya metaplazik apokrin hücrelerin oluşturduğu miks hücre popülasyonu izlenir Hücre sınırları belirgin değildir Nükleuslar köşeli, iğsi veya yuvarlaktır	Monoton, uniform, yuvarlak hücreler izlenir Nükleus\sitoplazma oranı artmıştır Hiperkromazi olabilir veya olmayabilir	Monoton, yuvarlak veya poligonal hücreler izlenir Hücre sınırları belirgindir. Nükleus, hiperkromatik, yuvarlak veya ovaldir. Periferal myoepitel hücreler belirgin değil veya kesintilidir. Apokrin metaplazi izlenmez (İntra duktal apokrin karsinom hariç)
Patern	Düzensiz, yarık benzeri çoğu periferal boşluklar (sekonder lümenler) Nükleer uzun eksenin paralel dizilim gösterdiği epitelial köprüler Streaming ve spinding patern Nükleuslarda overlaping, düzensiz dağılım	IDH`nin tipik herhangi bir paternine benzer DKIS`nun kalitatif özelliğini taşıyan fakat enine kesit çapları 2 mm`den az olan kribriform ve mikropapiller patern	DKIS`nun bilinen paternleri Sekonder lümenler, düzenli, rijid ve yuvarlak Epitelial köprülere dik veya oryantasyonu olmayan nükleer dizilim Streaming patern ve girdaplaşma yoktur Düz veya dar temelli fibro vasküler sapı olmayan mikropapillalar

TÜMÖR SÜPRESSÖR GENLER VE P53

Hücrede, protoonkojenlerin fonksiyonlarını kontrol eden, anormal büyümeyi ve malign değişimleri engelleyen tümör süpressör genler tesbit edilmiştir.[63] Tümör süpressör genlerin varlığı ilk olarak 1971 yılında Knunson tarafından ileri sürülmüştür.[22] Tümör süpressör genlerin karekteristik özellikleri şunlardır: 1. Hücrelerin büyümesinde ve diferansiasyonunda görev alan normal hücresel ürünleri kodlar. 2. Protoonkojenlerde mutasyonun aksine tümör süpressör genlerdeki mutasyon resesiftir ve fonksiyon kaybı meydana gelebilmesi için her iki allelin kaybolması gerekmektedir.[22,63]

Tümör süpressör genin her iki allelinde de fonksiyon kaybı meydana gelebilmesi birkaç şekilde olabilmektedir; 1. Kromozomun geniş bir bölgesinde delesyon olması sonucu tüm genin kaybı, 2. Küçük bir delesyon veya translokasyon sonucu genin parsiyel kaybı, 3. Gende nokta mutasyonu, 4. Gen expresiyonunun kaybı sonucunda meydana gelebilmektedir.[22]

Tümör süpressör genlerin protein ürünlerinin değişik fonksiyonları olduğu gözlenmiştir. Bu fonksiyonlar;

1. Bazı nükleer proteinlerin DNA`ya bağlanan ve seçilmiş genlerin transkripsiyonunu kontrol etmesi,

2. Hücre siklusunun kontrolunde siklinler ve siklin bağımlı kinazlar ile etkileşim,

3. Büyüme Faktörü Reseptörleri`nde fosforile olan proteinlerin protein tirozin fosfatazlar tarafından defosforile edilmesi,

4. LAP benzeri proteinlerin L-protein fonksiyonunu düzenlemesi,

5. Hücre adezyon-benzeri molekülleri etkileri.[65]

Genelde, bu proteinlerden herhangi biri kanser oluşumunun ilerlemesini ve metastazları önleyebilir yada bu genlerde meydana gelecek bir fonksiyon kaybı tümör oluşumuna veya tümörün malign tranformasyonuna neden olabilecektir.[22,65]

p53

Tümör süpressör olarak görev yapan p53 geni, 17. kromozomun kısa kolunda saptanmıştır.[22,63,65] P53 geninin neoplastik transformasyonda taşıdıkları kritik rolü işaret eden çarpıcı kanıtlar DNA tümör virüslerinin incelenmesi sırasında elde edilmiştir.

Birçok insan ve hayvan virüsüne ait tansforme edici proteinin(SV40 virüsünün büyük T antijeni, Human papilloma virüs E6 proteini), p53 proteinine bağlanarak çoğalma inhibisyonu yapma aktivitelerini nötralize ettikleri açığa çıkarılmıştır.[22,68] Yapılan hayvan çalışmalarında, kimyasalların hayvan derisine verilmesi sonucu oluşan karsinogenezde, p53 içermeyen farelerin normal p53 içeren farelere göre, hızlanmış kanser gelişimi tesbit edilmiştir.[24]

P53 geni, 53.000 dalton ağırlığında nükleer protein kodlar. P53 proteininin yarılanma ömrü çok kısa (6-30 dakika) olduğundan, standart immünohistohistokimyasal yöntemlerle tesbit edilemez.[22] P53 proteini, transkripsiyon faktörü olarak işlevi olan ve DNA replikasyonu ve onarımında rol alan proteinlerle doğrudan etkileşen bir DNA bağlayıcı proteindir. Normal hücrelerde DNA harabiyeti yapan durumlarda p53 proteini aktive olur ve DNA hasarı olan hücrede siklusun G1, bazen de S, fazını uzatarak (hücre siklusunu kontrol eden genlerden waf1/p21 aktivasyonu ile) DNA onarımı için zaman kazanılmasına yol açar. DNA`daki hasar bu dönemde onarılabilirse hücre siklusu devam eder ve normal hücreler oluşur. Eğer DNA hasarı çok ciddi ise ve onarılamıyorsa hücre apoptozise yönlendirilmiş olur. P53 geninin mutasyona uğradığı durumlarda bu mekanizma işlemez ve kanser gelişimi kolaylaşır.[24,66]

P53 proteininin süpressör fonksiyonunun kaybı, genellikle ikinci allelde nokta mutasyonu ile allelin tamamen kaybı sonucu gelişir.[22,66] Bu durumda genellikle normal p53 proteininden farklı olan regülatör aktivitesi olmayan ancak daha stabil bir nükleer protein olan mutant p53 proteini üretilir. Bu protein artık bir transkripsiyon faktörü olarak görev yapamaz. Mutant p53 proteininin iki çok önemli özelliği vardır: 1. Mutant p53 p7roteini, normal p53 proteinine bağlanabilir ve onu nötralize ederek antisüpressör ve onkojenik etkiye sahip olur. 2. Mutant p53 proteini uzun yarılanma ömrüne sahiptir ve standart immünohistokimyasal yöntemlerle tesbit edilebilir.[22]

P53 gen mutasyonları bir çok tümörde gösterilmiştir. P53 gen mutasyonları tümörün artmış histolojik grade`i, nükleer grade`i, tümör progresyonu ve prognozu ile ilişkili bulunmuştur.[7,69-72,76] Yapılan çalışmalar, p53 değişiminin in situ meme karsinomlarında tesbit edilebileceğini göstermiştir.[73-75]

ONKOJENLER VE BCL-2

Protoonkojenlerin ve kansere neden olan onkojenlere dönüşüm potansiyelinin keşfi modern moleküler biyolojinin zaferlerinden biridir. Bu konuda öncülük eden çalışmaları Bishop ve Varmus 1989 yılında yapmıştır.[68]

Protoonkojenlerin onkojene dönüşümü nokta mutasyonu, kromozomal translokasyon ve gen amplifikasyonu ile ortaya çıkar.[63,66,68] Tüm bu mekanizmaların sonucu olarak ortaya çıkan onkojen ürünleri olan onkoproteinler, hücrede yerleştikleri yerlerde özel foksiyonlar görerek hücrenin fizyolojik aktivitesinde değişiklikler ortaya çıkarırlar. Onkoproteinler hücre proliferasyonunda ve farklılaşmasında hücrenin nükleusundan plazma zarına kadar uzanan işlem dizisinde rol alırlar.[63] Onkoproteinlerin önemli düzenleyici elemanları olmaması ve transforme olmuş hücredeki üretimlerinin büyüme faktörleri ve diğer dış uyaranlara bağımlı olmamaları dışında normal protoonkojen ürünlerine benzerler.[68] Onkojenler protein ürünlerinin (onkoprotein) fonksiyonları temel alınarak yedi grupta sınıflandırılabilir;[65]

1. Membrana bağlı protein tirosin kinazlar,
2. Membran büyüme faktör reseptörleri
3. Büyüme faktörleri,
4. Özel serin\treonin kinazlar,
5. G-protein alfa subuniti (membrana bağlı),
6. İntrasellüler kontraktil protein- protein tirozin kinaz bileşikleri,
7. DNA transkripsiyonunu kontrol eden nükleer proteinler.

İnsan kanserlerinin çoğunda 2-5 onkojen değişikliği olduğu gözlenmiştir. Bu tip değişiklikler daima en az bir membran ve bir nükleer onkoproteini içerir.[65,66]

bcl-2

18 nolu kromozomda yer alan bcl-2 onkojeni ilk kez B hücreli folliküler lenfomalarda tanımlanmıştır. Folliküler lenfomalarda t(14;18) ile aktive olduğu gösterilmiştir.[66,77-81] Lenfomalar dışında bcl-2 protein ekspresyonundaki artış prostat, mide, kolon adenokarsinomlarında, akciğer kanserleri, melanoma gibi tümörlerde gösterilmiştir. Bu tümörlerde t(14;18)`nun gösterilememesi nedeniyle bcl-2 ekspresyonunun artışından başka aktivasyon mekanizmalarının sorumlu olduğu düşünülmektedir.[66]

Bcl-2 onkojeni aynı isimdeki protein kodlar. Bcl-2 onkoproteini, özellikle meme, prostat ve tiroid gibi hormon bağımlı glandüler dokuların epitel hücrelerinde tesbit edilmiştir.[10] Normal meme epitel hücrelerinde, bcl-2 ekspresyonunun hormona bağımlı olduğu ve yüksek bcl-2 expresyonunun hormona bağımlı epitel hücrelerinin yaşamını uzattığı bilinmektedir.[11] Bcl-2 proteini mitokondri membranında lokalizedir ve hücreyi oksijen radikallerinin zararlı etkilerinden koruyabileceği ileri sürülmektedir.[24,79,80]

Hem fizyolojik, hemde patolojik durumlarda apopitozisin regülasyonunu içeren genlerden biri bcl-2 genidir. Bcl-2 ve p53 genlerinin programlanmış hücre ölümündeki rölleri son zamanlarda yoğun araştırmaya alınmıştır. Bu çalışmalar bcl-2 ekspresyonunun apopitozisin inhibisyonu ile ilişkili olduğunu göstermektedir.[10] Mutant p53`ün bcl-2 ekspresyonunu downregulasyona uğrattığı gözlenmiştir.[82,83]

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada Ocak 1987 ile Mayısw 1999 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalına gelen mastektomi ve meme biopsilerinden IDH, AIDH ve DKIS tanısı almış vakalar incelendi. Vakalara ait parafin bloklar ve kesitler arşivden çıkarılarak yeniden değerlendirildi. Vakalarda mutant p53 proteini ve bcl-2 onkoproteininin varlığını saptamak amacıyla immünohistokimyasal boyama yöntemleri uygulandı.

IDH, AIDH, DKIS tanısında kullanılan histopatolojik kriterler Page ve Tavassoli`ye aittir.[1,2,6,7] DKIS klasifikasyonu ise EPWG`a aittir.[32,33]

Olguların vakalara göre dağılımı şu şekildedir;

IDH; 35 olgu

AIDH 8 olgu

DKIS 17 olgu

İmmünohistokimyasal boyama için, %10`luk formalinde fikse edilmiş ve rutin parafine gömülmüş bloklardan 3-4 mikron kalınlığındaki kesitler pozitif charge mikroskobik lamlara alındı. Histopatolojiyi en iyi yansıtan blokların seçimine özen gösterildi.

Boyama işleminde şu basamaklar sırası ile takip edildi:

1. Lamlar öncelikle etüvde bekletildikten sonra 3`er dakika, ksilol ve sırası ile %96, %80, %75, %70`lik alkollerden geçirilerek deparafinize ve dehidrate edildi. Fosfat buffer salinde (PBS) 6 dakika bekletildi.
2. 10 dakika %3`lük $H_2O_2$ solusyonunda tutuldu (sulandırmada absolu alkol kullanıldı). Distile suda 3 kez yıkandıktan sonra sitrat buffer solusyonu içerisinde mikrodalga fırına konarak 2`kez 7`şer dakika kaynatıldı.
4. Kaynadıktan sonra oda ısısında soğumaya bırakılan preparatlar, PBS`de biraz bekletildi.
5. Monoclonal Mouse Anti-Human p53 proteini (Clone P6-71 DAKO) primer antikoru ve paralel preparata Monoclonal Mouse Anti-Human bcl-2 oncoprotein primer antikoru damlatıldı, oda ısısında 45 dakika bekletildi. Sonra 2 kez 3 dakika PBS ile muamele edildi.

6. Daha sonra kullanılan boyama setinin prosedürüne uygun olarak Link, Label ve kromojen damlatılarak etüvde gerekli sürelerde bekletildi (Biz boyama setimizde Labelled-Streptovidin Biotin (LSAB-2) kitini kullandık.) Her basamak arasında 2 kez 3 dakika PBS`de bekletildi.
7. Lamlara kontrast boyama için Mayer Hematoksilen damlatarak 1 dakika bekletildikten sonra preparatları çeşme suyunda yıkandı.
8. Daha sonra Mounting Medya ile üzerini kapatarak kurumasını bekledikten sonra ışık mikroskobuyla incelendi.

Boyama sonucunda boya almayan hücre nükleusları lacivert-mor görülürken, p53 pozitif boyanan nükleuslar AEC kromojenine bağlı olarak kırmızı kahverengi boyanma gösterdi. Bcl-2 pozitif boyanan hücreler stoplazmik granüler boyanma gösterdi. Yapılan immünohistokimyasal boyamanın değerlendirmesinde 4`lü skala uygulandı: Boyanma yok ise -, pozitif boyanan hücre oranı %5-25 ise +, pozitif boyanan hücre oranı %26-50 ise ++, pozitif boyanan hücre oranı %51-100 ise +++ olarak değerlendirildi.[73,84,85]

Bu işlemlerden sonra istatistiksel olarak Ki kare testi kullanılarak IDH, AIDH ve DKIS arasında immünohistokimyasal olarak bcl-2 ve mutant p53 boyanma farkının anlamlı olup olmadıkları araştırıldı.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

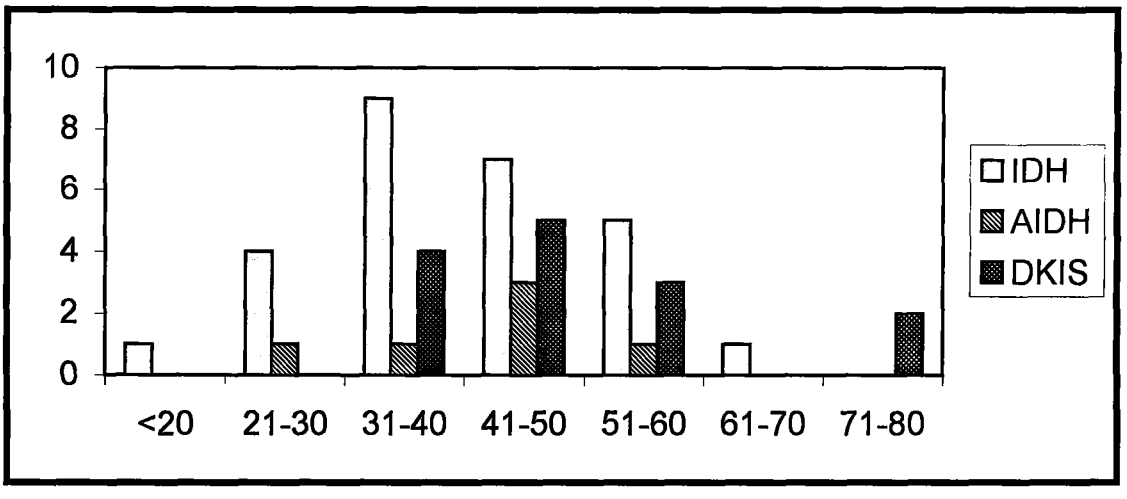
BULGULAR

Çalışmamızda Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında 1987-1999 tarihleri arasında IDH, AIDH, DKIS tanısı almış 60 vaka değerlendirmeye alınmıştır. Bu vakalar ışık mikroskobunda Page ve Tavassoli`nin kriterlerine göre yeniden değerlendirilmiştir. DKIS`nun klasifikasyonu EPWG`e göre yeniden sınıflandırılmıştır. Vakaların %58,33`ü (n=35) IDH, %28,33`ü (n=17) DKIS , %13,33`ü (n=8) AIDH olarak tespit edilmiştir (Tablo 3). DKIS`lu vakaların 5`i iyi diferansiye, 6`sı orta derecede difenansiye , 6`sı kötü diferansiyedir.

Tablo 3.Vakaların hastaliklara göre dağılımı

	N	%
IDH	35	58,33
DKIS	17	28,33
AIDH	8	13,33

Vakalar yaş dağılımları yönünden incelendiğinde; IDH`ler 18-61yaş, AIDH`ler 30-54 yaş, DKIS 31-80 yaşlar arasında izlenmekte olup; hastaların yaş ortalamaları IDH`de 41, AIDH`de 44, DKIS`da 49 olarak tesbit edilmiştir. Vaka yoğunluğunun 31-40 ve 41-50 yaşları arasında arttığı tesbit edilmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. Vakaların yaş gruplarına göre dağılımı

Çalışmamıza alınan tüm vakalara; p53 gen mutasyonunun gösterilmesi amacıyla immünohistokimyasal olarak mutant p53 için pozitif nükleus boyanma oranları hesaplandı. IDH ve AIDH'ye ait vakaların hiç birinde nükleer pozitif boyanma izlenmedi. DKIS'ya ait 17 vakanın %23,5'inde (n=4) nükleer boyanma pozitif olarak izlendi (Tablo 4). Vakaların mutant p53 için nükleer pozitif boyanma oranları istatistiki olarak karşılaştırıldığında, DKIS'lu vakaların p53 pozitif boyanırlığı yönünden IDH ve AIDH'dan istatistiki olarak anlamlı farklı olduğu saptandı ($p<0,01$).

Tablo 4 Vakaların mutant p53 için nükleer pozitif boyanma oranları

	Vaka sayısı (n)	P53+ immünoreaktivite p53+/(%)
IDH	35	0 (%0)
AIDH	8	0 (%0)
DKIS	17	4 (%23,5)

Mutant p53 için immünohistokimyasal boyanma skoru; IDH ve AIDH ın tümünde - iken DKIS'lı 2 vaka +, 1 vaka ++,1 vaka +++ olarak boyandı (Tablo 5).

Tablo 5. Vakaların p53 immünohistokimyasal boyanma skoruna göre dağılımları.

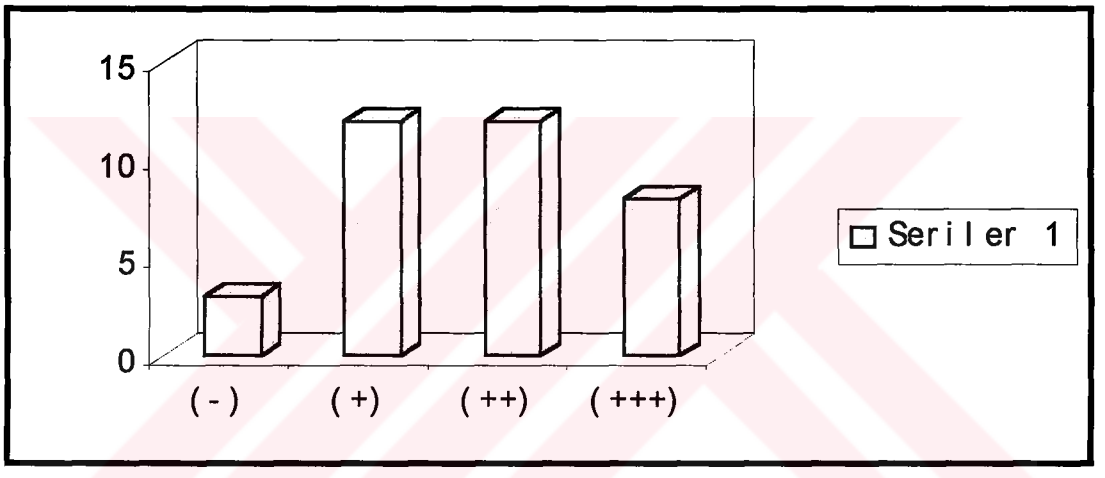
	Vaka sayısı (n)	P53 immünohistokimyasal boyanma skoru			
		-	+	++	+++
IDH	35	35	0	0	0
AIDH	8	8	0	0	0
DKIS	17	13	2	1	1

Çalışmamıza alınan tüm vakalara bcl-2 onkoproteininin immünohistokimyasal olarak pozitif boyanma oranları hesaplandı. IDH'ye ait 35 vakanın %91.4'ü (n=32), AIDH'ye ait 8 vakanın %75'i (n=6), DKIS'lı 17 vakanın %41.2 si (n=7) pozitif boyandı (Tablo 6). Vakaların bcl-2 için pozitif boyanma oranları istatistiki olarak karşılaştırıldığında, IDH'li vakaların AIDH'li vakalardan, AIDH'lı vakaların DKIS'lu vakalardan daha yüksek oranlarda boyandığı izlenmiş olup bu fark istatistiki olarak anlamlı bulundu ($p<0,01$).

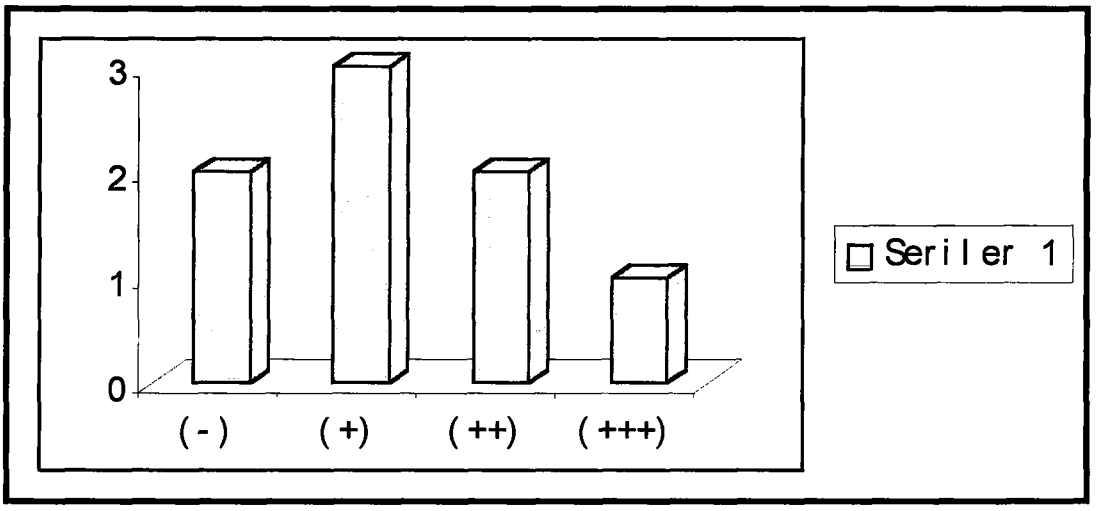
Tablo 6.Vakaların bcl-2 pozitif boyanma oranları

	Vaka sayısı (n)	Bcl-2 immünoreaktivite Bcl-2+/(%)
IDH	35	32 (%91.4)
AIDH	8	7 (%75)
DKIS	17	7 (%41,2)

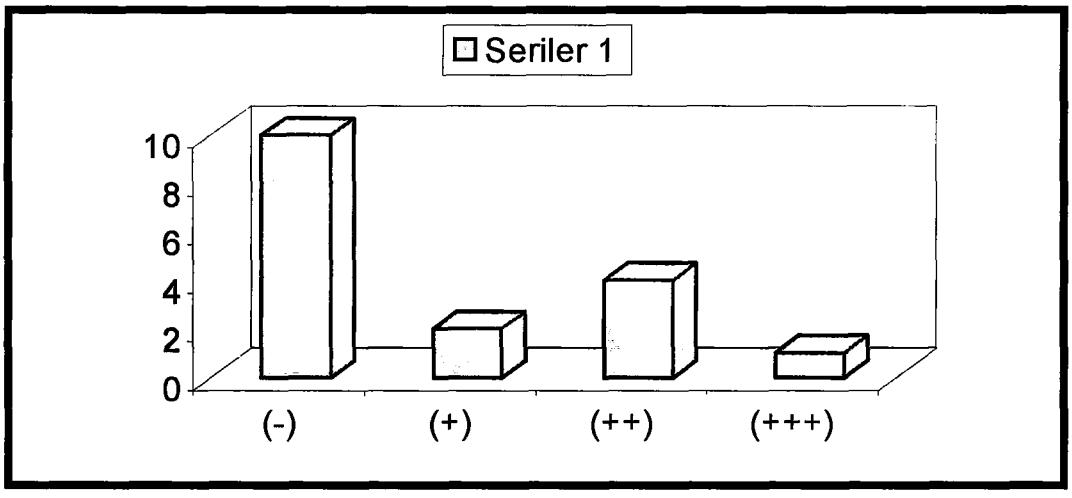
Vakaların bcl-2 için immünohistokimyasal boyanma skoru; IDH'li 2 vaka -, 12 vaka +, 12 vaka ++, 8 vaka +++ boyandı (Şekil 3). AIDH'li 2 vaka -, 4 vaka +, 2 vaka ++, 1 vaka +++ boyandı (Şekil 4). DKIS'lı 10 vaka -, 2 vaka +, 4 vaka ++, 1 vaka +++ boyandı (Şekil 5).



Şekil 3. IDH'li vakaların bcl-2 immünohistokimyasal boyanma skoruna göre dağılımı



Şekil 4. AIDH'li vakaların bcl-2 immünohistokimyasal boyanma skoruna göre dağılımı



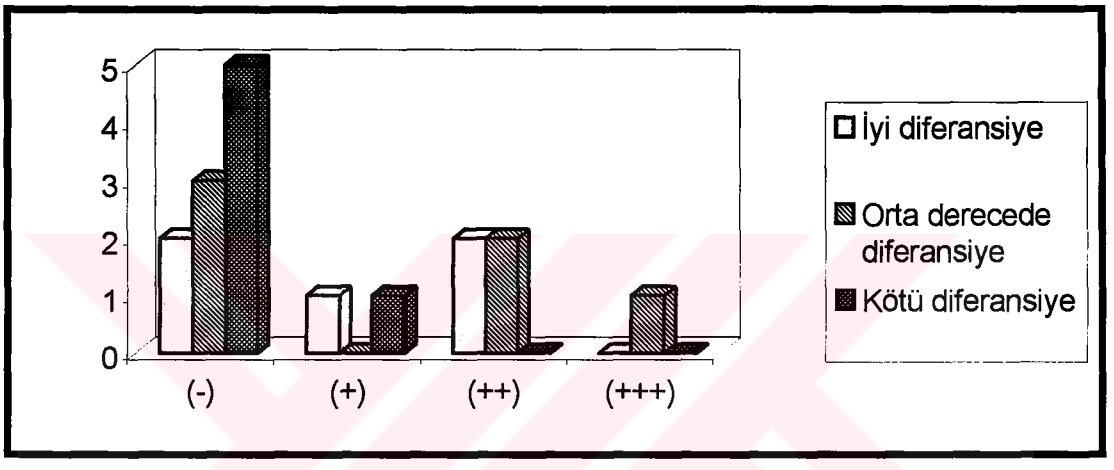
Şekil 5. DKIS`lu vakaların bcl-2 immunohistokimyasal boyanma skoruna göre dağılımı.

DKIS`nun grade ile bcl-2 ve p53 immünoreaktivitesi arasındaki ilişki incelendi. DKIS`lı vakaların, 5`i iyi diferansiye, 6`sı orta derecede diferansiye, 6`sı kötü diferansiye idi. Bcl-2 için immünoreaktivite, iyi diferansiye vakaların 3`ünde (%60), orta derecede diferansiye vakaların 3`ünde (%50) ve kötü diferansiye vakaların sadece 1`inde (%16,7) gözlenmiştir. Mutant p53 için immünoreaktivite, iyi diferansiye vakaların hiçbirinde gözlenmedi fakat orta derecede diferansiye vakaların 1`inde (%16,7), kötü diferansiye vakaların 3`ünde (%50) gözlendi (Tablo 7).

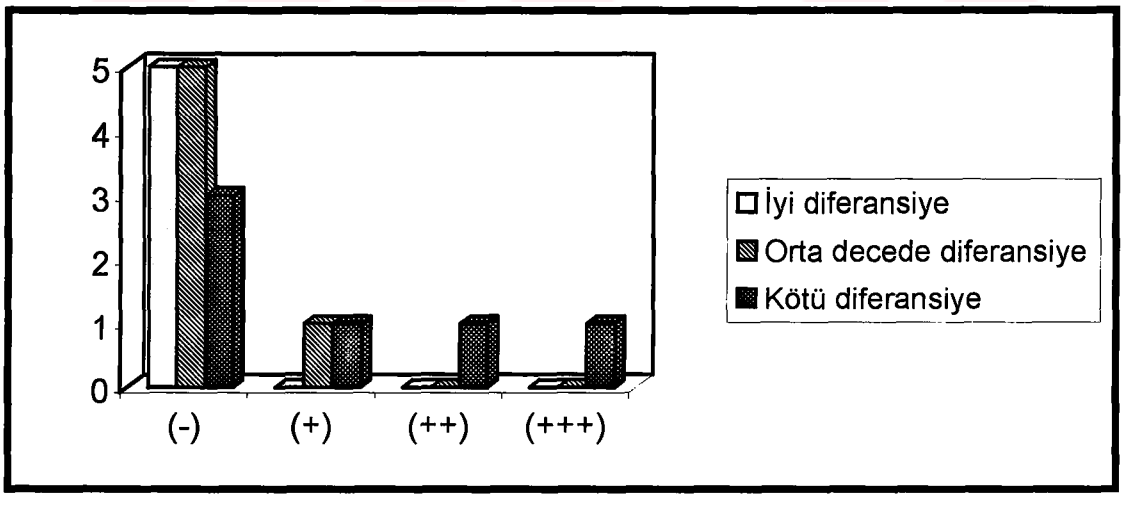
Tablo 7. Gradesine ayrılmış DKIS`lı vakaların bcl-2 ve p53 immünoreaktivite oranları.

DKIS grade	Vaka sayısı (n)	Bcl-2 immünoreaktivite Bcl-2+/(%)	P53 immünoreaktivite P53+/(%)
İyi diferansiye	5	3 (%60)	0 (%0)
Orta derecede diferansiye	6	3 (%50)	1 (%16,7)
Kötü diferansiye	6	1 (%16,7)	3 (%50)

Bcl-2 için immünohistokimyasal boyanma skoru; İyi diferansiye DKIS`lu 2 vaka -, 1 vaka +, 2 vaka ++ boyandı. Orta derecede diferansiye DKIS`lu 3 vaka -, 2 vaka ++, 1 vaka +++ boyandı. Kötü diferansiye DKIS`lu 5 vaka -, 1 vaka + boyandı (Şekil 6). Mutant p53 için immünohistokimyasal boyanma skoru; İyi diferansiye DKIS`lu tüm vakalar- idi. Orta derecede diferansiye DKIS`lu 5 vaka -, 1 vaka + boyandı. Kötü diferansiye DKIS`lu 3 vaka -, 1 vaka +, 1 vaka ++, 1 vaka +++ boyandı (Şekil 7).



Şekil 6. Gradesine ayrılmış DKIS`lu vakaların bcl-2 immünohistokimyasal boyanma skoruna göre dağılımı.



Şekil 7. Gradesine ayrılmış DKIS`lu vakaların p53 immünohistokimyasal boyanma skoruna göre dağılımı.

IDH`li vakaların p53 ve bcl-2 immünoreaktivitesi arasındaki ilişkisi değerlendirildi. Bu değerlendirmenin sonucunda 35 IDH`li vakanın 32/35`i bcl-2+/p53-

,0/35`i bcl-2-/p53+, 0/35`i bcl-2+/p53+,3/35`i bcl-2-/p53- immünoreaktivite gösterdi (Tablo 8).

Tablo 8. IDH`lı vakalarda yaş ve bcl-2, p53 immünoreaktivite sonuçları

No	Yaş	Bcl-2 immünoreaktivite	P53 immünoreaktivite
1	47	+	-
2	24	+	-
3	21	+	-
4	40	+	-
5	38	+	-
6	46	-	-
7	33	+	-
8	-	+	-
9	48	+	-
10	52	+	-
11	56	-	-
12	55	+	-
13	48	+	-
14	18	+	-
15	-	-	-
16	60	+	-
17	-	+	-
18	35	+	-
19	26	+	-
20	48	+	-
21	38	+	-
22	33	+	-
23	43	+	-
24	-	+	-
25	55	+	-
26	32	+	-
27	-	+	-
28	37	+	-
29	-	+	-
30	29	+	-
31	35	+	-
32	-	+	-
33	47	+	-
34	61	+	-
35	-	+	-

AIDH`li vakaların p53 ve bcl-2 immüno reaktivitesi arasındaki ilişki değerlendirildi. Bu değerlendirme sonucunda 8 AIDH`li vakanın 6/8`i bcl-2+/p53-, 0/8`ibcl-2-/p53+, 0/8`i bcl-2+/p53-, 2/8`i bcl-2-/p53- immünoreaktivite gösterdi (Tablo 9).

Tablo 9. AIDH`li vakalarda yaş ve bcl-2, p53 immünoreaktivite sonuçları

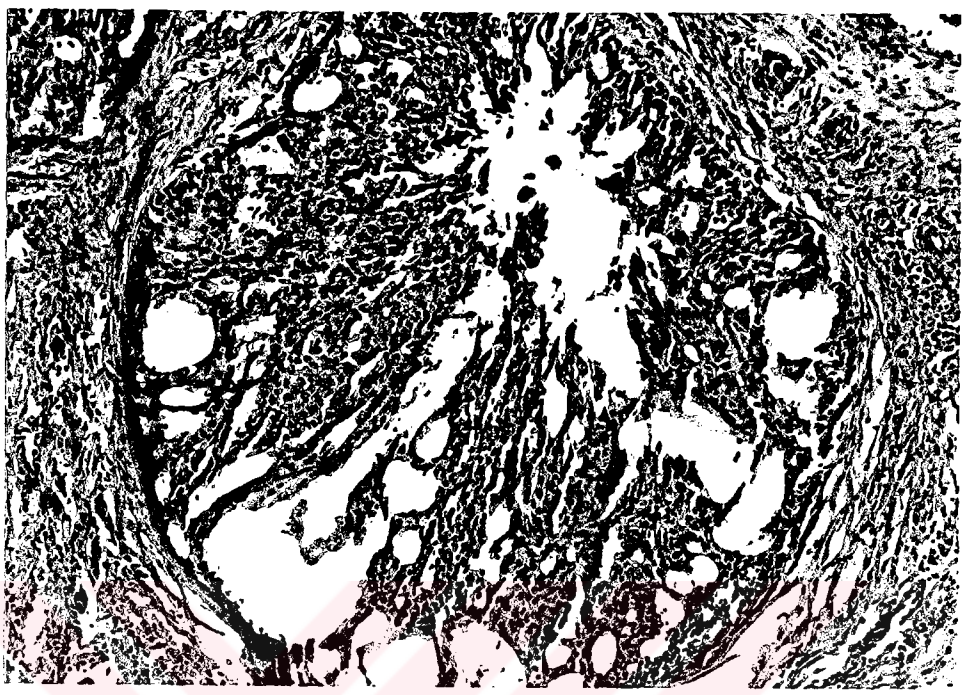
No	Yaş	Bcl-2 immünoreaktivite	P53 immünoreaktivite
1	54	+	-
2	-	+	-
3	30	+	-
4	46	-	-
5	48	-	-
6	46	+	-
7	40	+	-
8	-	+	-

DKIS`lu vakaların bcl-2 ve p53 immünoreaktiviteleri arasındaki ilişki değerlendirildi. Bu değerlendirme sonucunda 17 DKIS`lu vakanın 6/17`si bcl-2+/p53-, 3/17`si bcl-2-/p53+, 1/17`si bcl-2+/p53+, 7/17`si bcl-2-/p53- immünoreaktivite gösterdi. İyi diferansiye DKIS`lu 5 vakanın 3/5`i bcl-2+/p53-, 0/5`i bcl-2-/p53+, 0/5`i bcl-2+/p53+, 2/5`i bcl-2-/p53- immünoreaktivite gösterdi. Orta derecede diferansiye DKIS`lu 6 vakanın 3/6`sı bcl-2+/p53-, 1/6`sı bcl-2-/p53+, 0/6`sı bcl-2+/p53+, 2/6`sı bcl-2-/p53- immünoreaktivite gösterdi. Kötü diferansiye DKIS`lu 6 vakanın 0/6`sı bcl-2+/p53-, 2/6`sı bcl-2-/p53+, 1/6`sı bcl-2+/p53+, 3/6`sı bcl-2-/p53- immünoreaktivite gösterdi (Tablo 10).

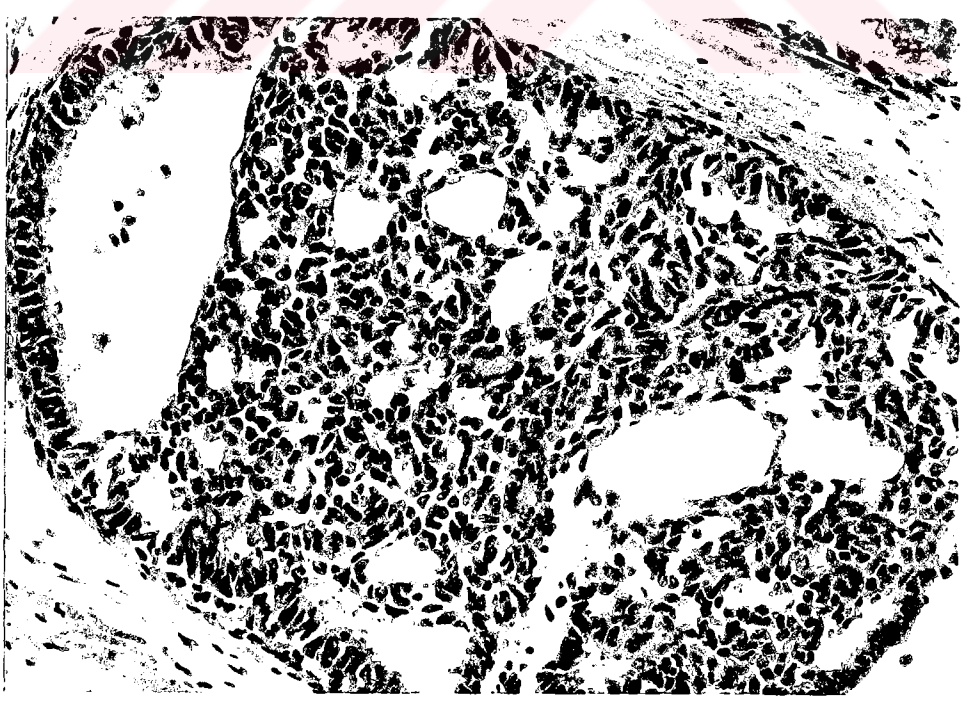
Tablo 10. Diferansiyesine ayrılmış DKIS`lu vakaların yaş ve bcl-2, p53 immünoreaktivite sonucları

No	Yaş	Diferansiasyon	Bcl-2 immünoreaktivite	P53 immünoreaktivite
1	34	İyi diferansiye	+	-
2	46	İyi diferansiye	+	-
3	56	İyi diferansiye	-	-
4	-	İyi diferansiye	-	-
5	55	İyi diferansiye	+	-
6	31	Orta derecede diferansiye	+	-
7	-	Orta derecede diferansiye	-	-
8	80	Orta derecede diferansiye	-	+
9	75	Orta derecede diferansiye	+	-
10	-	Orta derecede diferansiye	+	-
11	41	Orta derecede diferansiye	-	-
12	40	Kötü diferansiye	+	+
13	45	Kötü diferansiye	-	+
14	47	Kötü diferansiye	-	-
15	45	Kötü diferansiye	-	-
16	34	Kötü diferansiye	-	+
17	55	Kötü diferansiye	-	-

Bizim çalışmamızda bcl-2+/p53- vakaların oranı IDH`den DKIS`ya doğru gittikce azalmakta idi ve aralarındaki fark istatistiksel olarak ($p<0.01$) anlamlı idi. Bcl-2-/p53+ ve bcl-2+/p53+ kombinasyonu IDH ve AIDH`li vakalarda tesbit edilmezken 1 DKIS`lu vakada izlendi. Bcl-2-/p53- vaka oranı IDH`den DKIS`ya doğru gittikçe artmakta idi. Yapmış olduğumuz çalışmanın verileri sonucu bcl-2+/p53- vaka oranı DKIS`nun diferansiyesi kötüleştikce azalmakta olup bcl-2-/p53+ vaka oranı diferansiye kötüleştikce artmakta idi.



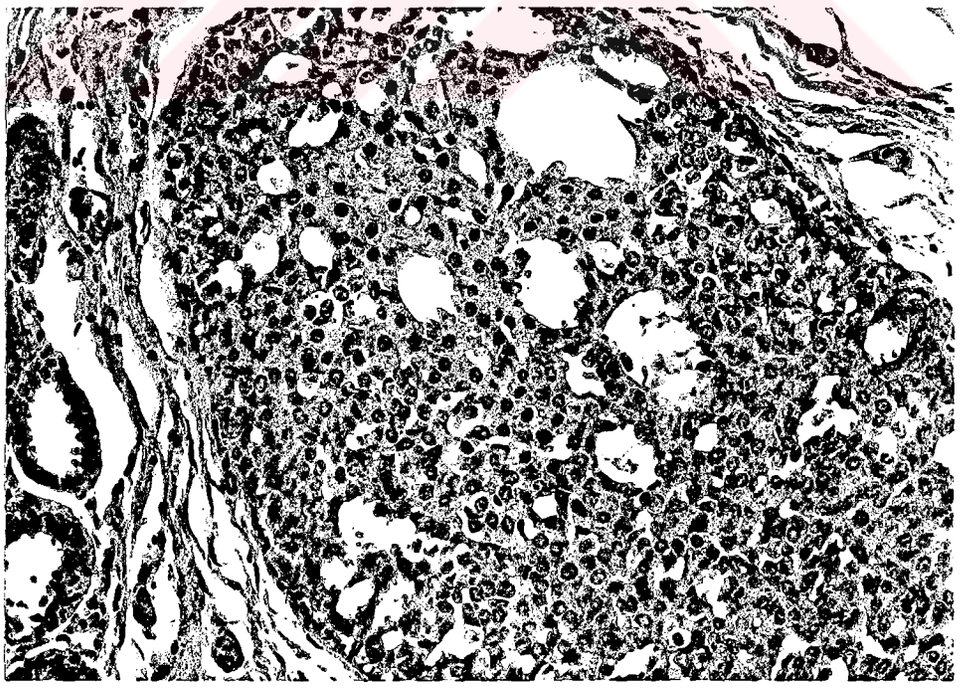
Resim 1-IDH'de miks tipte hücre proliferasyonu, düzensiz hacim ve biçimde periferal lokalizasyonda yoğunluk gösteren sekonder lümenler (HE&100).



Resim 2-IDH'de miks tipte hücre proliferasyonu ve sekonder lümenler (HE&200).



Resim 3-IDH'de papiller yapıda proliferasyon (HE&100).

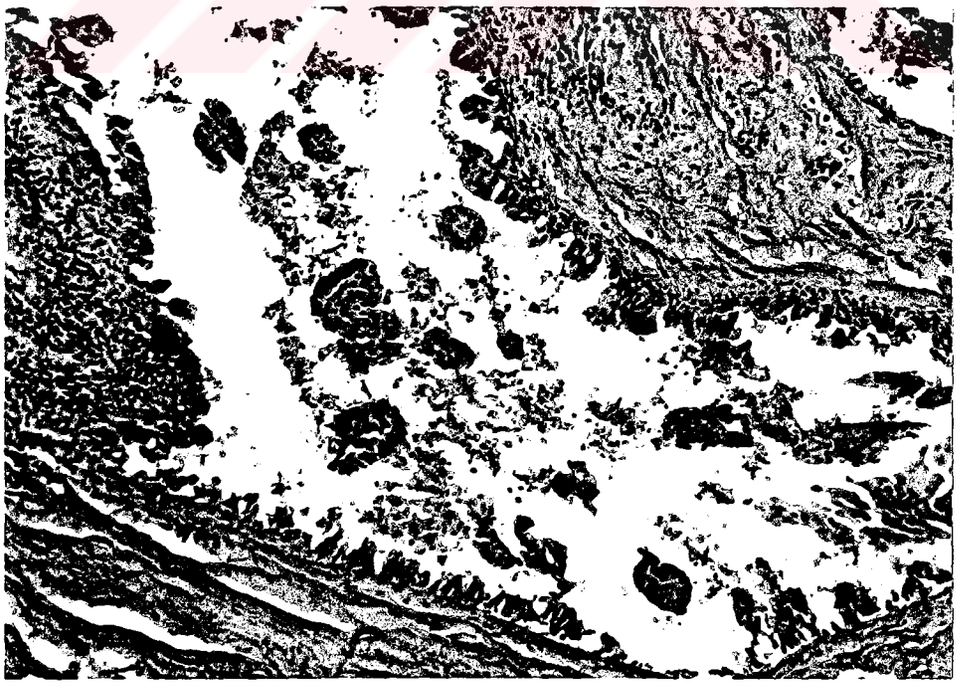


Resim 4-AIDH'de üniform hücre proliferasyonu, apokrin metaplazi ve sekonder lümenler (HE&200).

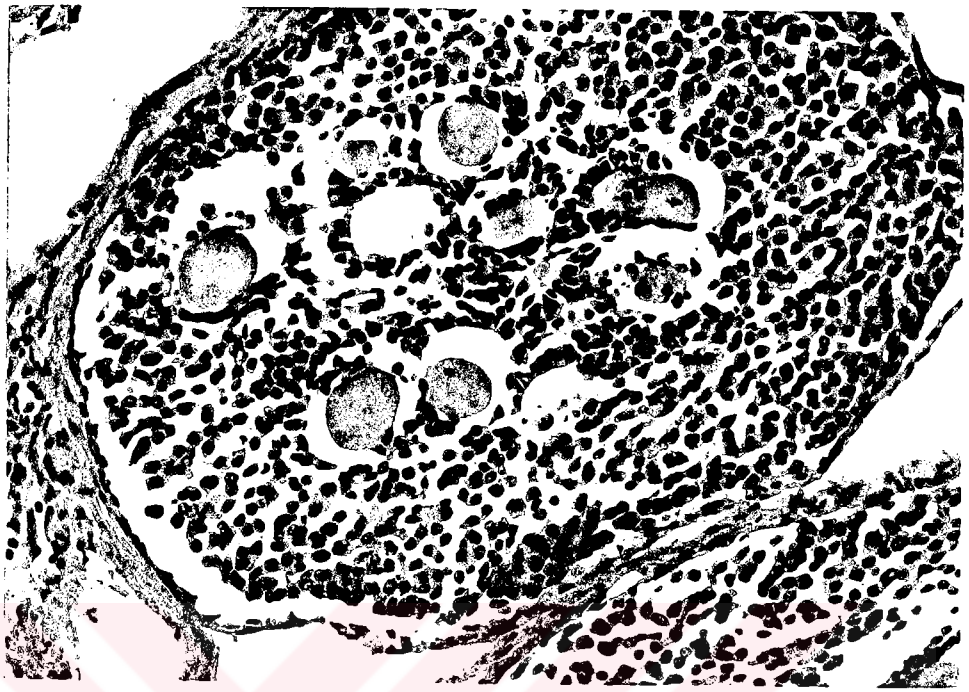
T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ



Resim 5-AIDH'de fokal olarak üniform hücre proliferasyonu (HE&200).



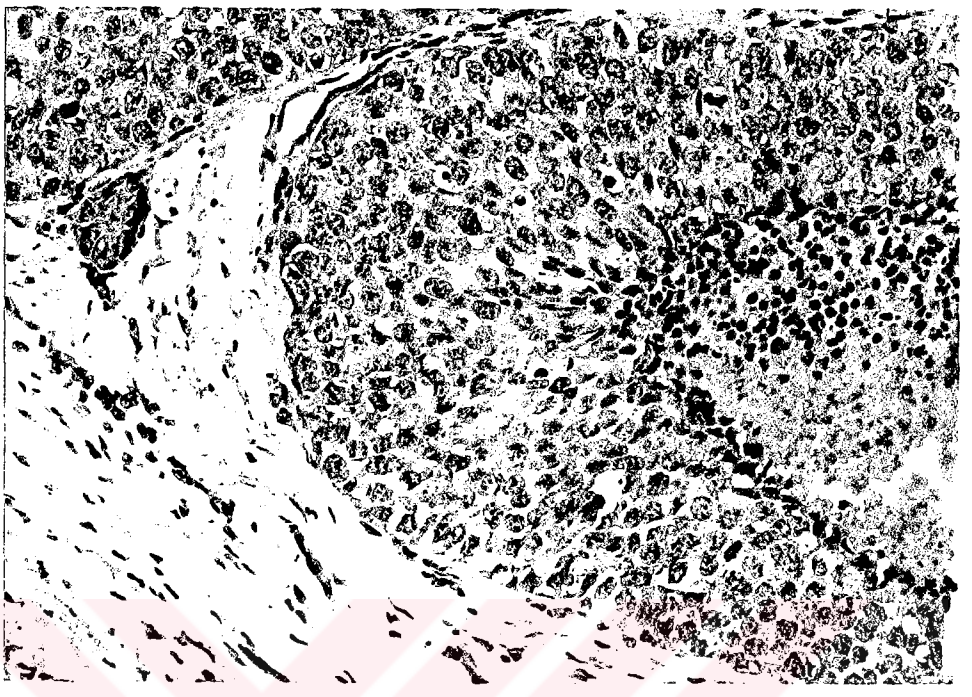
Resim 6-İyi diferansiye, mikropapiller varyant gösteren DKIS (HE&100).



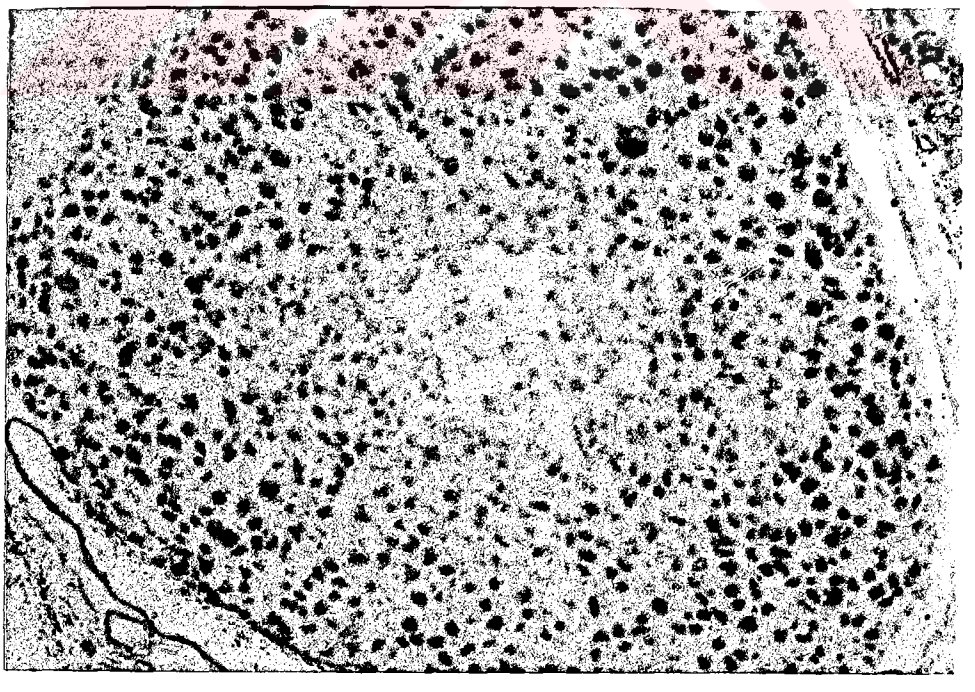
Resim 7-Orta derecede diferansiye, kribriform varyant gösteren DKIS (HE&200).



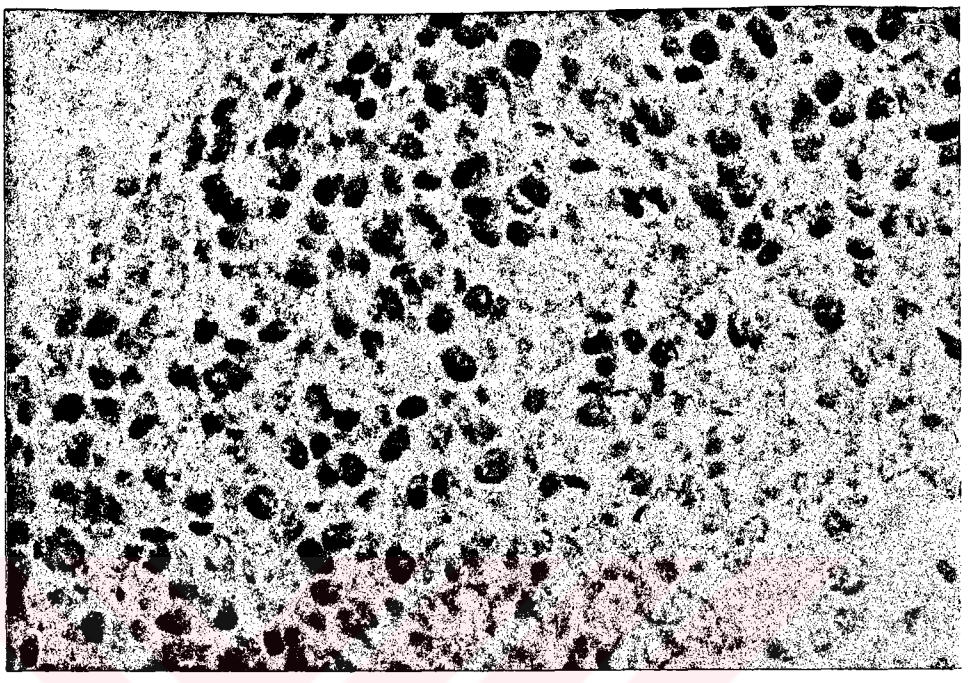
Resim 8-Kötü diferansiye DKIS (Komedokarsinom)'da atipik hücresel proliferasyon ve santral nekroz (HE&100).



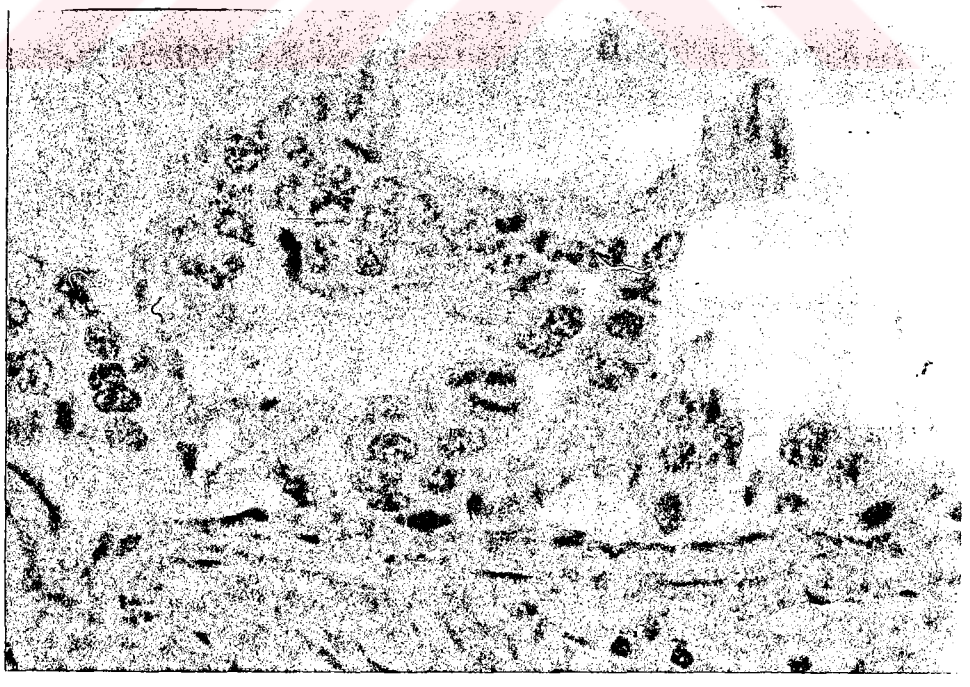
Resim 9-Aynı vakanın yakından görünüşü. Nekroz, atipik hücre proliferasyonu ve sık mitoz (HE&200).



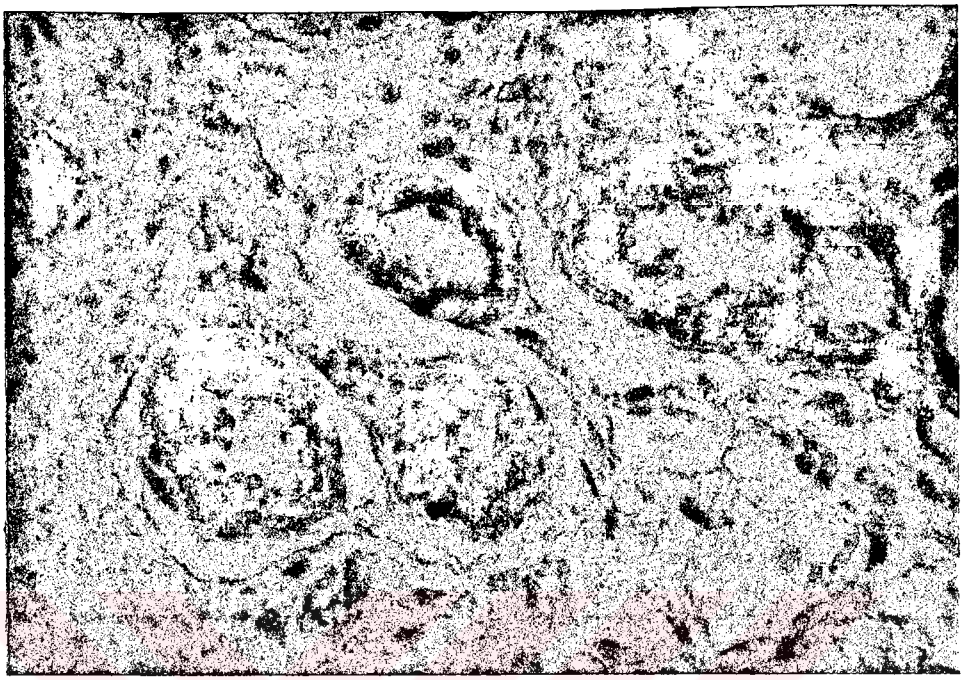
Resim 10-Kötü diferansiye DKIS. İmmünohistokimyasal olarak p53 ile (+++) boyanma (StrepABCx200).



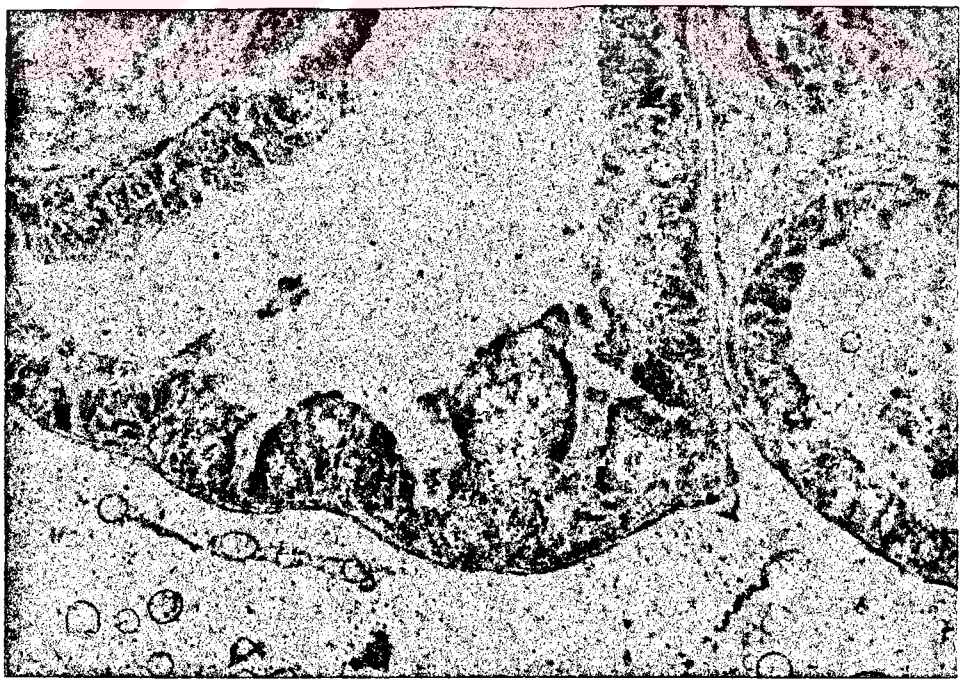
Resim 11-Aynı vakanın yakından görünüşü. İmmünohistokimyasal olarak p53 ile (+++) boyanma (StrepABCx400).



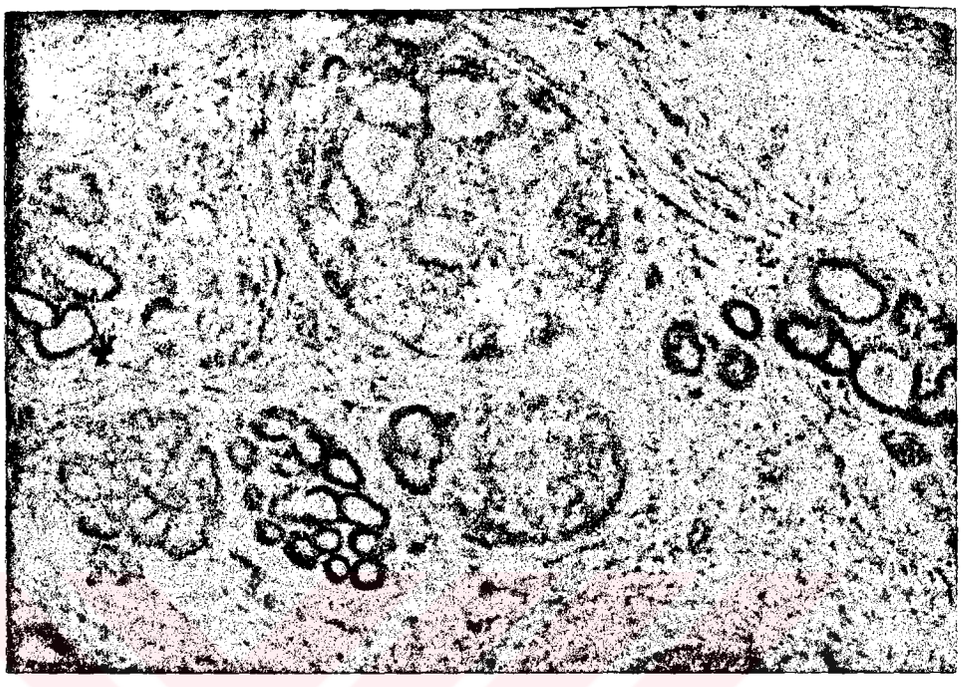
Resim 12-Kötü diferansiye DKIS. İmmünohistokimyasal olarak p53 ile (+) boyanma (StrepABCx400).



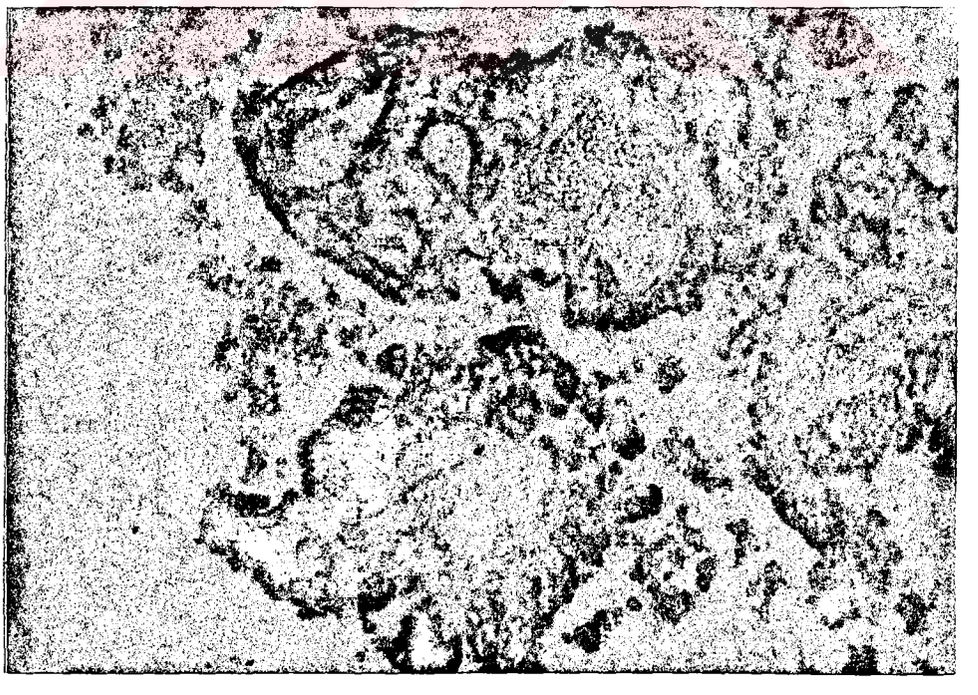
Resim 13-IDH. İmmünohistokimyasal olarak bcl-2 ile (+++) boyanma (StrepABCx400).



Resim 14-IDH. İmmünohistokimyasal olarak bcl-2 ile (+++) boyanma (StrepABCx200).



Resim 15-AIDH. İmmünohistokimyasal olarak bcl-2 ile (+++) boyanma (StrepABCx100).



Resim 16-Orta derecede diferansiye DKIS. İmmünohistokimyasal olarak bcl-2 ile (+++) boyanma (StrepABCx200).

TARTIŞMA

Uzun yıllar yapılan çalışmalarda İnvaziv meme karsinomu gelişiminde pataloglar tarafından duktus ve lobülüsler içerisindeki epitelial hiperplaziler önemli risk faktörü olarak gösterilmiştir.[1,2,5,88]

İntraduktal epitelial proliferasyonlar IDH, AIDH ve DKIS olarak gruplandırılmış olup, benignden maligne giden bir spekturum oluştururlar. IDH`lerin özellikle AIDH`nin DKIS`ya yakın benzerlik göstermesi oldukça endişe verici olup tanı açısından patologlar arasında ürkütücü farklılıklar oluşmakta ve ayrım için kullanılan kriterler bazen yetersiz kalmaktadır. İntraduktal epitelial proliferasyonların histopatolojik kriterlerden daha objektif olarak standardize edecek çalışmalara ihtiyaç vardır.[3,4,7]

Son yıllarda neoplazmların etiyolojisinde önemli rolü olan onkojenler ve tümör süpressör genler ön plana çıkmıştır ve immünohistokimyasal olarak memenin premalign ve malign lezyonları üzerindeki rolü çalışılmaya başlanmıştır.[8,10,11,12]

Bir seri progressif gen değişikliğinden kaynaklandığı düşünülen tümör oluşumu onkojenlerin aktivasyonu ve tümör süpressör genlerin inaktivasyonunu içermektedir. Tümör gelişiminde önemli olduğu görülen bir gen katagorisi programlanmış hücre ölümünün regülasyonundanda sorumludur. Bu genlerden biri olan bcl-2 geni, birçok fizyolojik ve patolojik durumlarda apopitozisi bloke eden protein kodlamaktadır. Apoptozis veya programlanmış hücre ölümü DNA hasarlı tümör hücrelerinin uzaklaştırılabileceği bir mekanizmadır. Bcl-2 ve p53 gen ürünlerinin her ikisi apoptozisle bağlantılıdır. Apoptozis inhibitörü olarak rol oynayan bcl-2 genetik değişiklikleri içeren hücrelerin yaşamını uzatabilir ve tümör progresyonunu kolaylaştırabilir. P53 gen mutasyonları sonucu oluşan mutant p53 buna benzer bir etkiye sahiptir.[10,24,66,70]

Mutant p53 proteininin ve bcl-2 onkoprotein expresyonunun IDH, AIDH ve DKIS`lu vakalardaki farkını değerlendirmek amacıyla toplam 60 vaka yeniden gözden geçirildi. Bu değerlendirme için tüm vakalara immünohistokimyasal olarak p53 ve bcl-2 boyası uygulandı.

Vakaların Page ve Tavassoli`nin kullandığı histopatolojik kriterlere göre dağılımı; 35 vaka IDH, 8 vaka AIDH, 17 vaka DKIS şeklindedir. DKIS`nun EPWG

tarafından yapılan gradelemesinde 5 vaka iyi diferansiye DKIS, 6 vaka orta derecede diferansiye DKIS, 6 vaka kötü diferansiye DKIS şeklindedir

Vakaların yaş aralıkları, IDH`de 18-61, AIDH`de 30-54, DKIS`da 31-80 arasında olup yaş ortalamaları IDH`de 41, AIDH`de 44, DKIS`da 49 alarak bulundu. Bu bulgular literatürde belirtilen yaş ortalamalarından biraz düşük bulunmasına rağmen IDH`den DKIS`ya doğru gittikce yaş ortalamalarındaki artış literatür ile uyumluluk göstermektedir.

Tüm vakalarımıza uyguladığımız immünohistokimyasal olarak yapılan p53 boyanma sonucunda; IDH ve AIDH`li tüm vakalarda boyanma izlenmedi. DKIS`lu 17 vakanın %23.5`inde (n=4) pozitif nükleer boyanma izlendi Siziopikou ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, IDH ve AIDH`li vakaların tümünde mutant p53 için immünoreaktivite görülmedi. Bununla birlikte DKIS`lu vakaların %24`ünde immünoreaktivite pozitif idi.[10] Viacava ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada IDH ve AIDH`li tüm vakalarda mutant p53 için immünoreaktivite izlenmedi.[86] Fischler ve arkadaşlarlarının yapmış olduğu çalışmada, IDH, AIDH ve DKIS`lu 10`ar vaka değerlendirmeye alınmış olup IDH`li 1 vaka, AIDH`li 1 vaka, DKIS`lu 2 vakada mutant p53 için immünoraktivite pozitif görülmüştür ve ayırıcı tanı açısından anlamlı bulunmamıştır.[87] Yapmış olduğumuz çalışma sonucu immünohistokimyasal olarak p53 pozitif boyanma oranının DKIS`lu vakalarının IDH ve AIDH`li vakalardan anlamlı. bir şekilde yüksek olduğu ($p<0,01$) gözlenmiştir. Bulgularımız Siziopikou ve arkadaşlarının, Viacava ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma ile uyumludur.

DKIS`nun gradesine göre p53 boyanma oranları sonucu; iyi diferansiye DKIS`lu 5 vakanın hiçbirinde boyanma izlenmezken orta derecede diferansiye DKIS`lu 6 vakanın %16.7`sı (n=1) pozitif, kötü diferansiye DKIS`lu 6 vakanın %50`si (n=3) pozitif boyandı. DKIS`lu vakaların gradesine göre immünohistokimyasal boyanma skorları sonucu; iyi diferansiye DKIS`lu 5 vakanın tümü - , orta derecede diferansiye DKIS`lu 5 vaka -, 1 vaka +, kötü diferansiye DKIS`lu 3 vaka -, 1 vaka +, 1 vaka ++, 1 vaka +++ boyanma gösterdi. Morena ve arkadaşları iyi diferansiye DKIS`lu vakaların hiçbirinde, orta derecede diferansiye DKIS`lu vakaların %21.6`sında, kötü diferansiye DKIS`lu vakaların %39.1`i mutant p53 için immünoreaktivite pozitif bulmuşlardır[(41)]. Leal ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada iyi diferansiye DKIS`lu vakaların %16.6`sı orta derecede, DKIS`lu vakaların %54.4`ü, kötü diferansiye DKIS`lu vakaların

%41.2`si mutant p53 için immünoreaktivite pozitif bulunmuştur.[74] Kolliopi ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada iyi diferansiye DKIS`lu vakaların hiçbiri mutant p53 için immünoreaktivite vermezken, orta derecede diferansiye DKIS`lu vakaların %15`i kötü diferansiye DKIS`lu vakaların %58.3`ü pozitif immünoreaktivite göstermiştir.[10] Viacava ve arkadaşlarının yapmış oldüğü çalışmada iyi diferansiye DKIS`lu tüm vakalarda mutant p53 için immünoreaktivite izlenmezken orta derecede diferansiye DKIS`lu vakaların %30`u, kötü diferansiye DKIS`lu vakaların %85`i immünoreaktiv idi.[86] Yapmış olduğumuz çalışmanın verileri sonucu DKIS`nun diferansiyesi kötüleştikce imünohistokimyasal olarak mutant p53 immünoreaktivitesinin arttığı izlenmiştir. Bulgularımız Morena ve arkadaşları, Kolliopi ve arkadaşları, Viacava ve arkadaşlarının bulguları ile uyumludur.

Tüm vakalarımıza immünohistokimyasal olarak bcl-2 boyası uyguladık. IDH li 35 vakanın bcl-2 boyanma sonucu; vakaların %91.4`ü (n=32) pozitif immünoreaktivite verdi. IDH`li vakaların immünohistokimyasal boyanma skoru ise 3 vaka -, 12 vaka +, 12 vaka ++, 8 vaka +++ boyandı. AIDH`li 8 vakanın bcl-2 immünohistokimyasal boyanma sonucu; vakaların %75`i (n=6) pozitif immünoreaktivite verdi. AIDH`li vakaların immünohistokimyasal boyanma skoru; 2 vaka-, 4vaka +, 2 vaka ++, 1 vaka +++ boyandı. DKIS`lu 17 vakanın immünohistokimyasal boyanma sonucu vakaların %41.2`si (n=7) pozitif immünoreaktivite verdi. DKIS`lu vakaların immünohistokimyasal boyanma skoru 10 vaka -, 2 vaka +, 4 vaka ++, 1 vaka +++ boyanma gösterdi. Kalliopi ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada bcl-2 immünoreaktivitesi tüm IDH ve AIDH`li vakalarda sürekli bir şekilde pozitif bulunmuştur. Bu sonucun aksine bcl-2 immünoreaktivitesi DKIS`lı vakaların %76`sında pozitif bulunmuştur.[10] Mustonen ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada IDH ve AIDH`lı vakaların tümünde bcl-2 immünoreaktivitesi pozitif bulunmuş iken DKIS`lu vakaların %75` inde pozitif boyanma izlenmiştir. Ayrıca AIDH`li vakaların IDH`li vakalara göre immünohistokimyasal boyanma skorunda azalma tesbit edilmiştir.[11] Her iki çalışmada DKIS`lu vakaların IDH ve AIDH`li vakalardan daha düşük oranda bcl-2 immünoreaktivitesi göstermiş olup bizim bulgularımızla uyumludur. Mustonen ve arkadaşları yaptığı çalışmada AIDH`li vakaların IDH`li vakalara göre immünohistokimyasal boyanma skorunda bir azalma izlemiş olup yine bizim bulgularımızla uyumludur. Mustonen ve arkadaşları, Kolliopi ve arkadaşlarının yapmış

olduğu çalışmalarda tüm IDH ve AIDH`li vakalar bcl-2 immünoreaktivitesi verirken bizim çalışmamızda IDH`li vakaların % 91.4`ü immünorektif iken, AIDH`li vakalar daha düşük (%75) immünoreaktiv idi Yaptığımız çalışma sonucunda bcl-2 immünoreaktivitesinin IDH, AIDH ve DKIS`lu vakalar arasında IDH`den DKIS`a gittikce bir başka deyişle invaziv karsinom riski arttıkça azalmakta idi ve bu azalış istatistiksel olarak ($p<0,01$) anlamlıdır.

DKIS`lu vakaların gradesi ile bcl-2 immünoreaktivitesi arasındaki ilişki değerlendirildiğinde, iyi diferansiye DKIS`lu 5 vakanın %60`ı (n=3), orta derecede diferansiye DKIS`lı 6 vakanın %50`si (n=3)`si, kötü diferansiye DKIS`lı 6 vakanın %16.7`si (n=1) immünoreaktiv idi. Vakaların immünohistokimyasal boyanma skoru iyi diferansiye DKIS`lu 2 vaka -, 1 vaka +, 2 vaka ++, orta derecede diferansiye DKIS`lu 3 vaka -, 2 vaka ++, 1 vaka +++, kötü diferansiye DKIS`lu 5 vaka -, 1 vaka + bulundu. Mustonen ve arkadaşları yaptığı çalışmada DKIS`yu düşük grade ve yüksek grade olarak ayırmıştır. Düşük grade DKIS`lu 5 vakanın tümü immünoreaktiv iken yüksek grade DKIS`lu 3 vakanın 1`i immünoreaktive vermiştir.[11] Kolliopi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada iyi diferansiye DKIS`lu 10 vakanın tümü, , orta derecede diferansiye DKIS`lu 20 vakanın %90`ı (n=18) kötü diferansiye DKIS`lu 12 vakanın %33`ü (n=4) immünoreaktiv tesbit edilmiştir.[10] Kapucuoğlu ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, iyi diferansiye DKIS`lu 11 vakanın tümü, orta derecede diferansiye DKIS`lu 13 vakanın %85`i (n=11) kötü diferansiye DKIS`lu 26 vakanın %46`sı (n=12) immünoreaktiv olduğu görülmüştür.[8] Viacava ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada iyi diferansiye DKIS`lu vakaların tümü immünoreaktiv iken orta derecede diferansiye DKIS lu vakaların%70`i, kötü diferansiye DKIS`lu vakaların %7`si immünoreaktiv bulunmuştur. Çalışmamızda bcl-2 immünoreaktivitesinin DKIS`nun gradesi ile değiştiğini, diferansiyesi kötüleştikce bcl-2 immünoreaktivite gösteren vakaların oranının azaldığını tesbit ettik. Yapmış olduğumuz çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar Mustonen ve arkadaşları, Kolliopi ve arkadaşları, Kapukcuoğlu ve arkadaşların, Viacava ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmalarla uyumludur.

Biz ayrıca vakalarımızdaki bcl-2 immünoreaktivitesinin p53 immünoreaktivitesiyle olan ilişkisini araştırdık. IDH`li 35 vakanın %91.4`ü (n=32) bcl-2+/p53-, %8.6`sı (n=3) bcl-2-/p53-iken bcl-2-/p53+ ve bcl-2+/p53+ vaka tesbit edilmedi. AIDH`li 8 vakanın %75`i (n=6) bcl-2+/p53-, %25`i (n=2) bcl-2-/ p53- iken

bcl-2-/p53+ ve bcl-2+/p53+ vaka izlenmedi. DKIS`lu 17 vakanın %35.3`ü (n=6) bcl-2+/p53-, %41.2`si (n=7) bcl-2-/p53-, 17.6`sı (n=3) bcl-2-/p53+, %5.9`u (n=1) bcl-2+/p53+ idi. Bcl-2+/p53- kombinasyonunun normal meme dokusunda bulunduğu ve normal veya fizyolojik fenotipi sunduğu düşünülmektedir.[10] Bizim çalışmamızda bcl-2+/p53- vakaların oranı IDH`den DKIS`ya doğru gittikce azalmaktadır ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,01$). Bcl-2-/p53+ kombinasyonu IDH ve AIDH`li vakalarda tesbit edilmezken DKIS`lu vakaların %17.6`sında (n=3) izlendi ($p<0,05$). Bcl-2-/p53- vaka oranı IDH`den DKIS`ya doğru gittikce artmaktadır ($p<0,05$).

DKIS`lu vakalarda bcl-2 immünoreaktivitesi ile p53 immünoreaktivitesi arasındaki ilişkiyi araştırdık. İyi diferansiye DKIS`lu 5 vakanın %60`ı (n=3) bcl-2+/p53-, %40`ı (n=2) bcl-2-/p53- olup bcl-2-/p53+ ve bcl-2+/p53+ vaka görülmedi. Orta derecede diferansiye DKIS`lu 6 vakanın %50`si (n=3) bcl-2+/p53-, %33.3`ü (n=2) bcl-2-/p53-, %16.7`si (n=1) bcl-2-/p53+ olup bcl-2+/p53+ vaka görülmedi. Kötü diferansiye DKIS`lu 6 vakanın hiçbirinde bcl-2+/p53- vaka izlenmezken vakaların %50`si (n=3) bcl-2-/p53-, %33.3`ü (n=2) bcl-2-/p53+, %16.7`si (n=1) bcl-24/p53+ idi. Kolliopi ve arkadadaşlarınınm yapmış olduğu çalışmada iyi diferansiye DKIS`lu 10 vakanın tümü bcl-2+/p53- iken bcl-2-/p53-, bcl-2-/p53+, bcl-2+/p53+ vakaya rastlanmadı. Orta derecede diferansiye DKIS`lu 20 vakanın %75`i (n=15) bcl-2+/p53-, %10`u (n=29) bcl-2-/p53-, %15`i (n=3) bcl-2+/p53+ iken bcl-2-/p53+ vakaya rastlanmadı. Kötü diferansiye DKIS`lu 12 vakanın %25`i(n=3) bcl-2+/p53-, %16.7`si (n=2) bcl-2-/p53-, %50`si (n=6) bcl-2-/p53+, %8.3`ü (n=1) bcl-2+/p53+ idi.[10] Yapmış olduğumuz çalışmanın verileri sonucu bcl-2+/p53- vaka oranı DKIS`nun diferansiyesi kötüleştikce azalmakta olup Kolliopi ve arkadaşlarının yapmış olduğu calışma ile uyumludur. Biz ayrıca bcl-2-/p53+ vaka oranının diferansiye kötüleştikce artmakta olduğunu gördük.

SONUÇLAR

1-Çalışmamızda vakalarımızın %58.3`ünü IDH, %13.3`ünü AIDH, %28.3`ünü DKIS oluşturmaktadır

2-Vakalarımızın yaş ortalanmaları; IDH`de 41, AIDH`de 44 ve DKIS`da 49 olarak bulunmuştur.

3-Mutant p53 için immünoreaktivite IDH ve AIDH`li vakalarda izlenmezken, DKIS`lı vakaların %23.5`i immünoreaktiv idi. Bu fark istatistiki olarak anlamlı bulundu ($p<0,01$).

4-Vakalarımız bcl-2 immünoreaktivite oranları yönünden değerlendirildiğinde, IDH`li vakaların AIDH`li vakalardan, AIDH`li vakalarında DKIS`lu vakalardan daha yüksek oranlarda immünoreaktiv olduğu ve bu farkın istatistiki olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p<0,01$).

5-DKIS`nun diferansiyesi kötüleştikce mutant p53 için immünoreaktivite oranınında artma görüldü.

6-DKIS`nun diferansiyesi kötüleştikce bcl-2 için immünoreaktivite oranında azalma görüldü.

7-Serimizdeki vakaların bcl-2 ve mutant p53 immünoreaktiviteleri arasındaki ilişki değerlendirildi. Bcl-2+/p53- vaka oranı IDH`den DKIS`ya doğru gittikce azalmakta idi ve aralarındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulundu ($p<0,01$). Bcl-2-/p53+ vaka IDH ve AIDH`de izlenmezken DKIS`lu vakaların %17.6`sında izlendi ($p<0,05$). Bcl-2-/p53- vaka oranı IDH`den DKIS`ya doğru gittikçe artmakta idi ($p<0,05$).

8-DKIS`lu vakalarda diferansiye kötüleştikce bcl-2+/p53- vaka oranında azalma, bcl-2-/p53+ vaka oranında artma olduğu görülmüştür.

KAYNAKLAR

1.Tavassolli FA, Norris HJ: A comparison of the results of long-term follow-up for atypical intraduktal hyperplasia and intraduktal hyperplasia of the breast. Canser 1990; 65: 518-529.

2.Page LD, Dupond WD, Rogers WL, Rados MS: Atypical hyperplastic lesions of the female breast. Cancer 1985; 55: 2698-2708.

3.Rosai J: Borderline epithelial lesions of the breast. Am J Surg pathol 1991; 15: 209-221.

4.Rosai J: Ackerman`s Surgical Pathology. 8th Ed. St Louis, A Times Mirror Company, 1996; 1583-1591.

5.Page DL, Jensen RA: Evaluation and management of high risk and premalignant lesions of the breast: World J Surgery 1994; 18: 32-38.

6.Tavassolli FA: Pathology ot the breast.Chapter 6. Second Edition. Appleton&Large, Stamford, Connecticut, 1999; 205-206

7.Tavassolli FA: Pathology of the Breast. Connecticut, Appleton & Lange,1992; 155-261

8.Kapucuoğlu N, Losi L, Eusebi V: Immunohistochemical localization of bcl-2 and bax proteins in insutu and invaziv breast carsinomas.Virchows Arch 1997; 430: 17-22.

9.Dupont WD, Parl FF, Hartman WH et al: Breast cancer risk assosiated with proliferative breast disease and atypical hyperplasia. Cancer 1993; 71: 1258-1265.

10.Siziopikou KP, Prioleau JE, Harris JR, Schnitt SJ: Bcl-2 expression in the spectrum of preinvazive breast lesions. Cancer 1996; 77: 499-506.

11.Mustonen M, Raunio H, Paakkö P, Soını Y: The extent of apoptosis is inversely associated with bcl-2 expression in premalignant and malignant breast lesions. His Pathol 1997; 31: 347-354

12.Walker RA, Dearing SJ, Lane DP, Varley JM: Expression of p53 protein in infiltrating and in-situ breast carsinomas. J of Pathol 1991; 165: 203-211.

13.Anderson WAD, Scotti TM: Synopsis of Pathology. 2th Ed. 1986; 786-800.

14.Değerli Ü: Cerrahi. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 3th Ed.1988; 393-420

15.Junqueira LC, Corneiro J, Kelley RO: Basic Histology. Aytekin Y:Temel Histoloji.Barış Kitabevi :7th Ed. 1993; 542-548.

16.Stetenberg S: Histology for Pathologist. 2th Ed. Philedelphia, Lippincott-Raven, 1997; 71-82.

17.Şeftalioğlu A: İnsan Embriyolojisi. 1998; 596-597.

18.Oday İV: Anatomi Ders Kitabı. 7th Ed. 1984; 509-519

19.Alican F: Meme Kanseri.İstanbul 1981; 3-13.

20.Taşpınar AH, Tortum OB, Ertem M: Cerrahi Onkoloji. Türkiye Kanserle Savaş Vakfi Yayını.1995; 59-83.

21.Domizio P, Lowe D: Reporting Histopatology Sections. London, Chapman & Hall, 1997; 134-149.

22.Damjanov I, Linder J: Anderson Patholgy. 10th Ed. St Louis, A Times Mirror Company, 1996; 2354-2385.

23.Guyton GC: Tıbbi Fizyoloji. 7th Ed.Saunders Company, 1986; 1438-1439.

24.Anthony PP, MacSween RNM, Lowe DG: Recent Advances in Histopathology 17, Churchill Livingstone 1997; 1-14.

25.Bodian CA, Perzin KL, Lattes R, Hoffmann P, Abernathy TG: Prognostic significance of bening proliferative breast dsease. Cancer 1993; 71: 3896-3907

26.Connoly JL, Schnitt SJ: Bengn breast disease. Cancer 1993; 71: 1187-1189.

27.Page DL, Rogers LW: Combined histologic and cytologic criteria for the diagnosis of mammary atypical ductal hyperplasia. Hum Pathol 1992; 23:1095-1096.

28.Moore MM, Hargett W, Hanks JB, et al: Association of breast cancer with the finding of atypical ductal hyperplasia at core breast biopsy. Ann Surg 1997; 225: 726-733.

29.Marshall LM, Hunter DJ, Connolly JL, et al: Risk of breast cancer associated with atypical hyperplasia of lobular and ductal types. Cancer Epi Bio Prev 1997; 6: 297-301.

30.Vıcını FA, Lacerno MD, Goldstein et al:Ductal carcinoma in situ detected in the mammographic era: Ananalysis of clinical, pathologic, and treatment-related factors affecting outcome with breast-conserving therapy. Int J Rad Onc Biol Phys 1997; 39: 627-635.

31.Fonseca R, Hartmann LC, Petersen IA, Donohue JH, Crotty TB, Gisvold JJ: Ductal carcinoma in situ of the breast. Ann Intern Med 1997; 127: 1013-1022.

32.Badve S, Ahern RP, Ward AM et al: Prediction of local recurrence of ductal carcinoma in situ of the breast using five histological classification : A comparative study with long follow-up. Hum Pathol 1998; 29: 915-923.

33.Sloane JP, Amendoeira I, Apostolikas N, et al: Consistecy achieved by 23 european pothologists in categorizing ductal carcinoma in situ of the breast using five classification. Hum Pathol 1998; 29: 1056-1062.

34.Coombs JH, Hubbard E, Hudson K, Wunderlich C, Vanmeter S, Bell JL, Gwin JL: Ductal carcinoma in situ of the breast: correlation of pathologic and mammographic features with extent disease. The Am Surgeon 1997; 63: 1079-1083.

35.Olivotto IA, Bowman DM, Nolan MC, Lees AW, Aitken SE, McGregor M, Haggerty J: The management of ductal carsinoma in situ (DKIS). Can Med Assoc J 1998; 158: 27-34.

36.Holland PA, Gandhi A, Knox WH, Wilson M, Baildam AD, Bundred NJ: The importance of complete excision in the prevetion of local recurrence of ductal carcinoma in situ. Br J Cancer 1998; 77: 110-144.

37.Cheng L, Al-Kaisi NK, Liu AY, Gordon NH: The result of intraoperative consultations in 181 ductal carsinoma in situ of the breast. Cancer 1997; 80: 75-79.

38.Page DL, Dupont WD, Rogers LW, Landerberger M: İntraductal carcinoma of the breast: Follow-up after biopsy only. Cancer 1982; 49: 751-758.

39.Schwartz GF, Lagios MD, Carter D et al: Consensus conference on the classification of ductal carcinoma in situ. Cancer 1997; 80: 1798-1802.

40.Scott MA, Lagios MD, Axelsson K, Rogers LW, anderson TJ, Page DL: Ductal carcinoma in situ of the breast: Reproducibility of the histological subtype analysis. Hum Pathol 1997; 28: 967-973.

41.Moreno A, Llovers B, Figueras A, Escobedo A, Roman JM, Sierra A, Fabra A: Ductal carcinoma in situ of the breast: Corelation between histologic classifications and biologic markers. Mod Pathol 1997; 10: 1088-1092.

42.Silverstein MJ, Waisman JR, Gamagami P, Gierson ED, Colburn WJ, Rosser RJ, Gordon PS, Lewinsky BS, Feingerhut A. Intraductal carcinoma of the breast (208 Cases). Clinical factors influencing treatment choice. Cancer 1990; 66: 102-108.

43.Lagios MD, Margolin FR, Westdahl PR, Rose MR: Mammographically detected duct carcinoma in situ. Frequency of local recurrence following tylectomy and prognostic effect of nucleer grade on local recurrence. Cancer 1989; 63: 618-624.

44.Solin LJ, Yeh I-T, Kurtz J et al: Ductal carcinoma in situ 8İntraductal carcinoma) of the breast treated with breast- conserving surgery and definitive irradiation. Correlation of pathologic parameters with outcome of treatment. Cancer 1993; 71: 2532-2542.

45.Schwartz GF, Finkel GC, Garcia JC, Patchefsky AS: Subclinical ductal carcinoma in situ of the breast. Treatment by local excision and surveillance alone. Cancer 1992; 70: 2468-2474.

46.Patchefsky AS, Schwartz GF, Finkelstein SD, Prestipino A, Sohn SS,Singer JS, Feig SA: Heterogeneity of inraductal carcinoma of the breast. Cancer 1989; 63: 731-741.

47.Fisher ER, Sass R, Fisher B, et al: Pathologic findings from the national surgical adjuvant breast project (Protocol 6). II. Relation of local breast recurrence to muticentricity. Cancer 1986; 57: 1717-1724.

48.Fisher ER, Sass R, Fisher B et al: Pathologic findings from the national surgical adjuvant breast project (protocol 6) I. Intraductal carcinoma (DKIS). Cancer 1986; 57: 197-208.

49.Lagios MD, Westdahl PR, Margolin FR, Roses MR: Ductal carcinoma in situ. Relationship of extent of noninvasive disease to the frequency of occult invasion, multicentricity, lymph node metastases, and shorty- term treatment failures. Cancer 1982; 50: 1309-1314.

50.Rosen PP, Braun DW, Kinne DE: The clinical significance of pre-invaive breast carcinoma. Cancer 1980; 46: 919-925.

51.Dupont WD, Page DL: Risk factors for breast cancer in women with proliferative breast disease. The New Eng J Med. 1985; 312: 146-151

52.Bodian CA, Perzin KH, Latters R, Hoffmann P, Abernathy TC: Prognostic significance of benign proliferative breast disease. Cancer 1993; 71: 3896-3907.

53.Hutter RV, Saavedra JA, Anderson E, et al: Is 'fibrocystic disese' of the breast precancerous. Arc Pathol Lab Med 1986; 110: 171-173.

54.Krieger N, Hiatt R: Risk of breast cancer after benig breast diseases. Variation by histologic type, degree of atypia, age at biopsy, and length of follow-up. Am J Epidemiol 1992; 135: 619-631.

55. Carter D: Intraductal papiller tumors of the breast. Cancer 1977; 39: 1689-1692:

56.Delaney G, Ung O, Bilous M, Cahill S, Greenberg M, Boyages J: Ductal carcinoma in situ part I: Definition and diagnosis. Aust N Z J Surg 1997; 67. 81-93.

57.Schnitt SJ, Harris JR, Smith BL: Developing a prognostic index for ductal carcinoma in situ of the breast. Cancer 1996; 77: 2189-2192.

58.Hutter RV:The role of the pathologist in breast cancer management.Cancer 1990; 66: 1363-1372.

59.Silverstein MJ, Lagios MD, Craig PH, Waisman JR, LewinskyBS, Colburn WJ, Peler DN: A Prognostic index for ductal carcinoma in situ of the breast. Cancer 1996; 77: 2267-2274.

60.Layfield LJ: Ductal carcinoma in situ of the breast. Hum Pathol 1998; 29: 1329-1332

61.Silverstein MJ, Poller DN, Waisman JR, at al: Prognostic classification of breast ductal carcinoma in situ. Lancet 1995; 345: 1154-1157.

62.Gupta SK, Douglas-Jones AG, Fenn N, Morgan JM, Mansel RE: The clinical behovior carcinoma is probably determined at the preinvazive stage (ductal carcinoma in situ). Cancer 1997; 80: 1740-1745.

63.Öztürk M: Onkojenler ve meme kanseri. Meme hastalıkları dergisi 1994; 1: 3-8

64.Kaygı A, Koyuncuoğlu M, Canda T, Özen E, Ataç G: Ductal epithelial proliferative lesions of the breast. A reproducibility study. SSK Tepecik Hastanesi Dergisi 1995; 5: 148-150.

65.Criss EW: Temel Cerrahi. 2. Baskı 1996, 490-494.

66.Ünal A: Klinik Cerrahi Onkoloji. 1997; 23-41.

67.Canda T, Canda MŞ, Küpelioğlu AA: Memenin malign tümörleri. Ege Üniversitesi Tıp fakültesi Dergisi 1988; 27(1): 211-228.

68.Kumar M, Cotran RS, Robbins SL: Basic Pathology, 5th edition, A Division of Harcourt Brace&Company. 1992; 185-192.

69.Kleihues P, Schauble B, Hausen AZ, Esteve J, Ohgaki H: Tumors assposiated with p53 germline mutations. Asynopsis of 91 families. Am J Pathol 1997; 150: 2-12.

70.Lee WY, Jin YT, Tzeng CC: Reciprocal expression of bcl-2 and p53 in breast ductal carcinoma. Anticancer Research 1996; 16: 3007-3012.

71.Tuck AB, O'Malley FP, Singhal H, Tonkin KS, HarrisJF, Bautista D, Chanbers AN: Osteopontin and p53 expression are associated with tumor progression in a case of synchronous, bilateral, invasive mammary carcinomas. Arch Pathol Lab Med 1997; 121: 578-584.

72.Tashiro H, Isacson C, Levine R, Kurman RJ, Cho KR, Hedrick L: p53 gene mutations are common in uterine serous carcinoma and occur early in their pathogenesis. Am J Pathol 1997; 150:177-185.

73.Lisboa BW, Vogtlander S, Gilster T, Riethdorf L, Langosch KM, Löning T: Molecular and immunohistochemical analysis of p53 mutations in scrapings and tissue from preinvazive and invasive breast cancer. Virchows Arch 1997; 431: 375-381.

74.Leal CB, Schmitt FC, Bento MJ, Maia NC, Lopes CS.: Ductal carcinoma in situ of the breast. Histologic categorization and its relationship to ploidy and immunohistochemical expression of homone receptors, p53, and c-erb-2 protein. Cancer 1995; 75: 2123-2131.

75.Done SJ, Arneson NCR, Özcelik H, Redston M, Andrulis IL: P53 mutations in mammary ductal carcinoma in situ but not in epithelial hyperplasias. Cancer Res 1998; 58: 785-789.

76.Thor AD, Moore II DH, Edgerton Sm, et al: Accumulation of p53 tumor suppressor gene protein: An independent marker of prognosis in breast cancers. Natl Cancer Inst J 1992; 84: 845-855.

77.Graninger WB, Seto M, Boutain B, Goldman P, Korsmeyer SJ: Expression of bcl-2 and bcl-2-Ig fusion transcripts in normal and neoplastic cells. J Clin Invest 1987; 80: 1512-1515.

78.Hermine O, Haioun C, Lepage E, et al: Prognostic significance of bcl-2 protein expression in agressive non-Hodgkin`s lymphoma. Blood 1996; 87:265-272.

79.Kondo E, Nakamura S, Onoue H, et al:Detection of bcl-2 protein and bcl-2 messenger RNA in normal and neoplastic lymphoid tissues by immunohistochemistry and in situ hybridization. Blood 1992; 80: 2044-2051.

80.Korsmeyer SJ: Bcl-2: An antidote to programmed cell death. Cancer Res 1992; 15: 105-117.

81.Ratech H: The uses of molecular biology in hematopathology. Oncogenes as diagnostic markers in non-Hodgkin`s malignant lymphoma. Hematopathol 1993; 99: 381-383.

82.Haldar S, Negrini M, Monne M, Sabbioni S, Croce CM: Down- regulation of bcl-2 by p53 breast cancer cell. Cancer Res 1994; 54: 2095-2097.

83.Harn HJ, Shen KL, Yueh KC, Yo LI, Yu JC, Chiu SC, Lee WH: Apoptosis occurs more frequently in intraductal carcinoma than in infiltrating duct carcinoma of human breast cancer and correlates with altered p53 expression: detected by terminal deoxynucleotidyl- transferase-mediated dUTP-FITC nick end labelling (TUNEL). Histopathol 1997; 31: 534-539.

84.Merut M, Spasokoukotshaja T, Einhorn S, Smith E, Gahrton G, Juliusson G: Bcl-2 rearrangements with breakpoints in both vcr mbr in non-Hodgkin`s lymphomas and chronic lymphocytic leukaemia. British Journal of Hematology 1996; 92: 647-652.

85.Koutselini H, Malliri A, Field JK, Spandidos DA: P53 expression in cytologic specimens from bening and malignant breast lesions. Anticancer Res 1991; 11: 1415 1419.

86.Viacava P, Naccarato AG, Bevilacqua G: Differet proliferative patterns characterize different preinvasive breast lesions. J pathol 1999; 188: 245-251.

87.Fischler DF, Sebek BA, Tubbs RR, Biscotti CV: P53 expression in intraduktal epitelial hyperplasıa, atypical intraduktal hyperplasia, and intraductal carcinoma of the breast. Histopathol 1996; 28: 93-95.

88.Page DL, Dupond WD: Anatomic Markers of human premalignancy and risk of breast cancer. Cancer 1990; 66:1326-1335.