

Memenin İnvaziv Duktal Karsinomlarında c-erbB-2 Onkogeninin Prognostik Faktörlerle Karşılaştırılması

Şeyma MAYYAN (*), Ebru ZEMHERİ (*), Ayşe ERDOĞAN (*), Ferda AKSEL (*), H. Deniz GÜR (*), Mahmut ZEMHERİ (**)

ÖZET

Memenin invaziv duktal karsinomlarında c-erbB-2 onkogeninin overekspresyonunun prognostik rolünü belirlemek amacı ile 40 adet invaziv duktal karsinomlu radikal mastektomi materyaline ait H&E kesitlerde bilinen prognostik faktörlerden yaş, tümör boyutu, histolojik grade (Bloom Richardson), damar tutulumu, tümör sınırının tipi, aksiller lenf nodu metastazi, inflamatuvar reaksiyon, in situ- komedo alanların varlığı değerlendirildi. c-erbB-2'nin overekspresyonunu değerlendirmek için tümörlü bloklara anti c-erbB-2 uygulandı. Olgular boyanma olmayan grup negatif (C0), % 25'den az tümör hücre boyanması (C1) ve % 25'den fazla tümör hücre boyanması (C2) olarak gruplara ayrıldı. Sonuç olarak c-erbB-2 immüno-reaktivitesinin tüm prognostik faktörlerle ilişkisiz olduğunu saptadık.

Anahtar kelimeler: İnvaziv duktal karsinom, c-erbB-2

SUMMARY

Prognostic Role of c-erb B-2 in Invaziv Ductal Carcinoma of Mammary

In order to determine the prognostic role of c-erbB-2 oncogene overexpression in invasive ductal carcinomas of mammary gland, 40 H&E stained radical mastectomy materials with invasive ductal carcinoma are evaluated in regard of known prognostic factors such as age of patient, size of the tumour, histological grade of the tumour (Bloom Richardson), vascular involvement of the tumour, type of tumour margins, metastasis to axillary lymph nodes, inflammatory reaction and accompanying in situ comedo carcinomas. Immunohistologically the paraffin blocks of tumoural tissues are stained with anti c-erbB-2 in order to evaluate the overexpression of c-erbB-2 oncogene. Cases with negative immunoreactivity are classified as C0, cases with staining in less than 25 % of tumoural tissues are grouped as C1 and cases with staining in more than 25 % of the tumour are interpreted as C3. As a result in our study we found no relation between c-erbB-2 immunoreactivity and the prognostic factors.

Key words: Invaziv ductal carcinoma, c-erbB-2

Meme karsinomu kadınlarda en sık görülen malign tümör olup, kadınlarda kansere bağlı ölüm nedenleri arasında 2. sırada yer almaktadır. Son 20 yılda hastalık sıklığı % 117 artmıştır. Meme karsinomunda etkili prognostik faktörlerin belirlenmesi, adjuvan tedavi uygulanabilecek, rekürrens olasılığı yüksek, riskli grupların seçilebilmesi için şarttır. İnvaziv duktal karsinom tanısı alan olgularda bilinen prognostik faktörlerin önemi göreceli olup, hastadan hastaya değişiklik gösterir. Bu prognostik faktörler, tümör gidişinin belirlenmesinde tek başına yeterli olamamakta ve daha güvenilir prognostik faktörlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle, son zamanlarda prognozu belirlemede yapılan çalışmalar protoonkogenler ve tümör supressör genler üze-

rinde yoğunlaşmıştır.

Bu çalışmada, invaziv duktal karsinom tanısı almış radikal mastektomi olgularında yaş, evre, tümör çapı, metastatik lenf nodu, damar invazyonu, tümör sınırı, insitu-komedo alanların varlığı ve lenfoplazmositer iltihabi hücre infiltrasyonu ile tümör gelişiminde etkili olduğu düşünülen c-erbB-2 onkogeni arasındaki ilişki araştırılmıştır.

MATERYAL ve METOD

40 invaziv duktal karsinom olgusunda yaş, tümör boyutu, histolojik evre (Bloom-Richardson), damar tutulumu, tümör

Tablo 1. Prognostik faktörler.

Parametreler	Sayı
<u>Yaş (%)</u>	
49 yaş ve altı	19 (47.5)
50 yaş ve üstü	21 (52.5)
<u>Tümör boyutu (%)</u>	
0-2 cm	12 (30)
2.1-5 cm	20 (50)
5.1 cm ve üstü	8 (20)
<u>Histolojik Evre (%)</u>	
Evre 1	6 (15)
Evre 2	19 (47.5)
Evre 3	15 (37.5)
<u>Damar Tutulumu (%)</u>	
Pozitif	27 (67.5)
Negatif	13 (32.5)
<u>Tümör Sınırının Tipi (%)</u>	
İnfiltratif	33 (82.5)
Ekspansif	7 (17.5)
<u>Aksiller Lenf Nodu Metastazı (%)</u>	
Nod negatif	17 (42.5)
1-3 pozitif nod	9 (22.5)
4 ve daha fazla nod	14 (35)
<u>İnflamatuar reaksiyon (%)</u>	
Pozitif	19 (47.5)
Negatif	21 (52.5)
<u>İnsitu-Komodo Alanlar (%)</u>	
Pozitif	19 (47.5)
Negatif	21 (52.5)

sınırının tipi, aksiller lenf nodu metastazı, inflammatuar reaksiyon, insitu-komodo alanların varlığı değerlendirildi.

Yaş 49 yaş altı ve 50 yaş üstü olarak değerlendirildi. Tümör boyutu 0-2 cm, 2.1-5 cm ve 5 cm üstü olarak gruplara ayrıldı. Histolojik evre olarak Bloom-Richardson sisteminin Nottingham modifikasyonu olarak tanımlanan evreleme sistemi kullanıldı. Damar tutulumu endotelial döküyen hücrelerin seçildiği ve tümör hücre gruplarının bu hücrelerle temasta olduğu veya damar lümeninde tümör trombusu olan görüntüler esas alınarak pozitif ve negatif olarak değerlendirildi. Tümör sınırı infiltratif veya ekspansif olarak değerlendirildi. Aksiller lenf nodu metastazı negatif, 1-3 pozitif lenf nodu, 4 ve daha fazla lenf nodu olarak değerlendirildi. İnflamatuar reaksiyon pozitif ve negatif olarak değerlendirildi. İn situ-komodo alanların varlığı pozitif ve negatif olarak değerlendirildi. c-erbB-2 immunreaktivitesini değerlendirmek için c-erbB-2 antikorunu "Streptavidin-Biotin Kompleks" yöntemi ile tümörlü bloklara uyguladık. İmmunreaktiviteyi değerlendirirken sitoplazmik ve membranöz boyanma birlikte değerlendirildi. İmmunoreaktiviteyi değerlendirirken; C0:boyanma olmayanlar, C1: % 25'den az tümör hücre boyanması, C2: % 25'den fazla tümör hücre boyanması olarak değerlendirildi.

BULGULAR

Bu çalışmada, invaziv duktal karsinomlu 40 olguyu

Tablo 2. İmmünoreaktivitenin prognostik faktörlerle karşılaştırılması.

	C0 (%)	C1 (%)	C2 (%)
49 yaş ve altı	2 (5)	12 (30)	5 (12.5)
50 yaş ve üstü	4 (10)	9 (22.5)	8 (20)
0-2 cm	1 (2.5)	7 (17.5)	4 (10)
2.1-5 cm	4 (10)	9 (22.5)	7 (17.5)
5.1 cm ve üstü	1 (2.5)	5 (12.5)	2 (5)
Evre 1	2 (5)	3 (7.5)	1 (2.5)
Evre 2	-	11 (27.5)	8 (20)
Evre 3	4 (10)	7 (17.5)	4 (10)
<u>Damar Tutulumu</u>			
Pozitif	3 (7.5)	15 (37.5)	9 (22.5)
Negatif	3 (7.5)	6 (15)	4 (10)
Nod negatif	3 (7.5)	9 (22.5)	5 (12.5)
1-3 pozitif	1 (2.5)	6 (15)	2 (5)
4 ve üstü pozitif	2 (5)	6 (15)	6 (15)
İnfiltratif sınır	5 (12.5)	18 (45)	10 (25)
Ekspansif sınır	1 (2.5)	3 (7.5)	3 (7.5)
<u>İnflamatuar Reaks.</u>			
Pozitif	2 (5)	10 (25)	9 (22.5)
Negatif	4 (10)	11 (27.5)	4 (10)
<u>İnsitu-Komodo Alan</u>			
Pozitif	2 (5)	9 (22.5)	8 (20)
Negatif	4 (10)	12 (30)	5 (12.5)

prognostik faktörlerine göre sınıflandırdık. Olguların yaş, tümör boyutu, histolojik evre, damar tutulumu, tümör sınırı tipi, aksiller lenf nodu metastazı, inflammatuar reaksiyon ve insitu-komodo alan yönünden bulguları Tablo 1'de ve bu parametrelere göre immunohisto-kimyasal boyanma sonuçları Tablo 2'de sunulmuştur.

TARTIŞMA

Meme karsinomunda etkili prognostik faktörlerin belirlenmesi, adjuvan tedavi uygulanabilecek rekürrens olasılığı yüksek, riskli grupların seçilebilmesi için şarttır. Meme karsinomunda prognozu etkileyen birçok özellik patoloj tarafından kolaylıkla saptanabilir. Bu, hem prognozun belirlenmesinde hem de hastanın tedavisinin yönlendirilmesinde faydalı olmaktadır. Son zamanlarda prognozu belirlemek için yapılan çalışmalarda, protoonkogenler ve tümör supresör genler üzerinde yoğunlaşmıştır.

Onkogenler, protoonkogenlerden derivedir. Protoonkogenlerin retroviral transfeksiyonla ya da in situ davranışlarını değiştiren ve böylece onları hücrel onkogenlere çeviren etkilerle onkogenik hale geldiği kabul edildi. Onkogen ve bunların ürünleri olan onkoproteinleri karsinogenezde rolünü değerlendirmeden önce hücre proliferasyonunu karakterize eden olaylar dizisini göz-

den geçirmek gerekmektedir. Hücre proliferasyonundaki basamaklar:

1. Büyüme faktörünün spesifik reseptörlere bağlanması
2. Büyüme faktör reseptörünün geçici ve sınırlı aktivasyonu
3. İletilen uyarının ikinci uyarıcılar aracılığı ile sitozolden çekirdeğe ulaşması
4. DNA transkripsiyonunu başlatan nükleer düzenleyicilerin indüksiyonu ve aktivasyonu
5. Hücrenin hücre siklusuna girmesi şeklinde özetlenebilir.

Kanserin kontrolsüz bir biçimde daha önce var olan normal dokunun çoğalması ve çevrede yayılması temelinden hareket edilecek olursa, çoğalma ve diferansiyasyonu kontrol eden protoonkogenlerin anormal ekspresyonunun kanser hücrelerinde bulunduğu ve karsinogeneziste rol oynadığı kaçınılmazdır. Karsinogeneziste etkili olan onkogenler; büyüme faktörleri, büyüme faktör reseptörleri, sinyal ileten proteinler, nükleus düzenleyiciler ve siklinler olmak üzere toplanabilir.

Meme karsinomunda rol oynayan onkogenler ile ilgili literatürün c-erbB-2 (HER-2/neu), epitelyal büyüme faktörü reseptörü (EGF), c-Ha-ras, c-myc, int-2 ve siklin D1 üzerinde yoğunlaştığı görülür. Bunlar içinde c-erbB-2 gen amplifikasyonu ve onkoprotein ekspresyonu şeklindeki ölçümlerle yaygın olarak çalışılmıştır. c-erbB-2 proteininin over ekspresyonunun hücre kültüründe transformasyon ve tümör oluşumu ile ilgili olduğu gösterilmiştir. c-neu geninin insan homologu c-erbB-2 insan meme kanserlerinde gösterilmiştir. Bu gen 17. kromozomda lokalizedir (17q12-21.23). Slamon ve ark. (1) c-erbB-2 gen amplifikasyonunun hastaliksız sağlıklımda azalma ve genel sağkalım oranında düşme ile korele olduğunu göstermişler ve meme kanserini değerlendirmedeki önemine değinmişlerdir. Bunu izleyen dönemde yapılan birkaç çalışma bu sonuçları destekler nitelikte değildir. Gen amplifikasyonunu saptamaya yönelik yöntemler klinik laboratuvarlarda rutin uygulama için uygun bir biçimde gelişmemiştir. Bu nedenle, birçok araştırmacı onkogenin protein ürün ekspresyonu ile meme kanserli hastanın klinik seyri arasında bir korelasyon kurmaya yönelmiştir.

Hastanın tanı sırasındaki yaşı ile prognozun bağlantılı olmadığı Garne tarafından belirtilmiştir (2). Ancak, hasta yaşı ile pek çok prognostik faktörün karşılaştırmaları yapılmış, bu çalışmalara c-erbB-2 de katılmıştır. Pek çok araştırmada hasta yaşı ile c-erbB-2 boyanma arasında bir

ilişki bulunmamıştır (3-5). Bertheaue ark. tarafından (5) 35 yaş altı grup için c-erbB-2 boyanmanın prognostik faktör olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda, 50 yaş altı grupta ve 51 yaş üstü grupta c-erbB-2 ile boyanma yüzdeleri birbirine yakın olarak izlendi ve bu değerler istatistiksel olarak anlamsız bulundu ($p>0.05$). Ancak, literatür bilgileri ile uyumludur.

Tümör boyutu ile c-erbB-2 arasındaki ilişki için de farklı sonuçlar elde edilmiştir. Machotka iki parametre arasındaki ilişkiyi belirsiz olarak nitelerken (6), Cline 4 cm'nin üzerinde çapa sahip tümörlerde c-erbB-2 boyanmanın yoğun olduğunu (7), More büyük tümör boyutuna sahip grupta c-erbB-2 ile boyanmayı yoğun gösteren hastalarda ölüm oranının yüksek olduğunu göstermiştir (8). Ancak, pek çok çalışma aralarında ilişki saptayamamıştır (3,9,10). Olgularımızda tümör çapı 2.1-5 cm arası olanlar C1 tipinde boyanma % 22.5 ile en yüksek grubu oluşturdu ve bu grupta C2 tipinde boyanma diğer gruplara göre daha yüksek izlendi (% 17.5). Çalışmada, tümör çapı ile c-erbB-2 boyanma arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p>0.05$).

Evrenin lenf nodu durumu sonrası en iyi prognostik parametre olduğunu belirten çalışmalarla birlikte (11) nükleer atipi derecesine bağlı olarak nükleer evrenin en önemli parametre olduğunu vurgulayan araştırmalar da vardır (12). Tsuda ve ark.'nın 176 olgunun retrospektif analizinde evre arttıkça c-erbB-2 boyanmanın arttığını ve iki parametrenin birlikte agresif gidiş gösterdiğini iddia etmişlerdir (12). Bunların dışında pek çok çalışma evre ile c-erbB-2 boyanma arasında iliki olduğunu iddia etmektedir (9,13,14). Bir ilişki olmadığını savunan çalışmalar da vardır (4,15). Çalışmamızda, evre 2 olgularda % 27.5 ile C1 tipinde boyanma en yüksek değerde olup, boyanmayan olgu izlenmedi. Yine, evre 3 olgularda C1 ve C2 tipinde boyanma evre 1 olgulara göre daha yüksek oranlarda bulundu; ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Evre ile c-erbB-2 boyanmanın anlamlı çıktığı çalışmalar bizden daha geniş hasta grupları ile çalışılmıştır.

Link ve ark.'nın 1877 primer invaziv duktal karsinomlu hastada yaptığı çalışmada, lenfatik ve venöz invazyonun c-erbB-2 ile bağımlı olduğu tespit edilmiştir (16). Lenfatik invazyonun lenf nodu metastazı ile ilişkisi (17) ve damar invazyonu bulunan olgularda lenf nodu periferinde mikrometastazların artması nedeni ile bir agresivite göstergesi olarak damar tutulumu olan olgularda c-erbB-2 boyanmanın fazla olması beklenebilir.

Orbo ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, infiltratif tümör sınırının lenf nodu invazyon olasılığını artırdığı ve prognozu kötüleştirdiği bulunmuştur (17). Ancak, bununla ilgili geniş seriler yoktur. Biz de c-erbB-2 boyanma ile tümör sınırının tipi arasındaki korelasyonun araştırıldığı çalışma bulamadık.

Meme tümörlerinde en önemli prognostik faktörler değişik çalışmalarda ufak farklılıklar göstermekle birlikte, lenf nodu durumu pek çok çalışmada ilk sırada yer almaktadır. c-erbB-2 boyanma ve lenf nodu sayısı arasında ilişki olmadığını ortaya koyan çalışmalar vardır (3,4,9,10). Ancak, aralarında doğrusal bir korelasyon olduğunu iddia eden çalışmalar da vardır (7,8). Bizim çalışmamızda ise metastatik lenf nodu içeren grupta içermeyen gruba göre daha fazla boyanma izlendi.

Fernandez ve ark., iltihabi infiltrasyon ile c-erbB-2 over ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki bulmuştur (18). Bu konu ile ilgili fazla çalışma yapılmamıştır. Bizim çalışmamızda iltihabi infiltrasyon olan ve olmayan grubun c-erbB-2 ile boyanma ve boyanmama oranları birbirleri ile yakın olmasına karşın bir anlamlılık çıkmadı ($p>0.05$).

İyi örnekleme yapılan invaziv duktal karsinom olguların çoğunluğunda in situ duktal karsinom mevcuttur. Bizim çalışmamızda olguların % 47.5'inde in situ komponent eşlik etmekteydi. Eşlik eden in situ karsinom alanları histolojik tip açısından değerlendirildiğinde, tek başına bulunan en yaygın komponentin komedo karsinom olduğu görüldü. Jing ve ark., intra duktal alanların varlığı ile c-erbB-2 boyanma arasında bağımlılık tespit etmişlerdir (16). Çalışmamızda, olguların % 52.5'inde in situ komedo alan bulunmadı, boyanma ve boyanmama yüzdeleri birbirine yakın değerde bulundu ve istatistiksel olarak c-erbB-2 ile in situ komedo alanların varlığı arasında bir ilişki saptanmadı ($p>0.05$).

Literatürde prognostik faktör olarak incelenen c-erbB-2'nin prognostik faktörlerle karşılaştırılması sonucunda elde edilen bu bilgiler c-erbB-2'nin kısa süreli, sınırlı, bağımsız bir prognostik indikatör olduğunu ortaya koymuştur (14). Çalışmamızda da, c-erbB-2 boyanma ile prognostik parametrelerden yaş, tümör çapı, histolojik evre, metastatik lenf nodu sayısı, damar invazyonu, tümör sınırının tipi, iltihabi hücre infiltrasyonu ve in situ komedo alanların varlığı istatistiksel olarak birbirine bağımlı

parametreler olarak değerlendirilmedi. Literatürde çalışmamızla uyumlu sonuçlara sahip yayınlar olduğu gibi, farklı sonuçlara sahip yayınlar da vardır. Daha iyi teknik imkanlarla ve daha geniş serilerle çalışıldığında daha anlamlı sonuçlar elde edileceği kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Slamon DJ, Godolphin W, Jones CA, et al: Studies of the Her-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarion cancer. Science 244:707, 1989.
2. Garne JP, Aspegren K, Linell F, Rank F, Renstam J: Primary prognostic factors in invasive breast cancerwith special reference to ductal carcinoma and histologic malignancy grade. Cancer 73(5):1438-1447, 1994.
3. Querel N, et al: The prognostic value of c-erbB-2 in primary breast carcinomas. A study of 942 cases. Breast Cancer Research and Treatment 35:283-291, 1995.
4. Ali IU, Campbell B, Lidereau R, Callahan R: Lack of evidence for prognostic significance of c-erbB-2 amplification in Human Breast Carcinoma Oncogene Res 3(2):139-46, 1983.
5. Bertheau P, Steinberg SM, Merino MJ: c-erbB-2 p53 and nM23 gene product expression in breast cancer young women immunohistochemical analysis and clinicopathologic correlation. Human Pathology 29(4):323-9, 1998.
6. Mictotka S, Garret CT, et al: Amplification of Protooncogenes int 2-cerbB-2 and c-myc in human breast cancer. Clinica Chemica Acta 16(3):207-208, 1989.
7. Cline MJ, Battifora H, Yokota J: Protooncogene Abnormalities in Human breast cancer: Correlations with anatomic features and clinical course of diseas. J Clin Oncol 5(7):1999-2006, 1987.
8. Luna-More S, Delos-Santas F, Breton JJ, et al: Estrogen and progesterone receptors, c-erbB-2, p53 and bc1-2 in 33 invasive micropapillary breast carcinomas. Path Res Pract 192:27-32, 1996.
9. Singleton TP, Stricker JG: Clinical and pathologic significance of the c-erbB-2 (HER-2/neu) Oncogene Pathol. Annual pp:165-190, 1992.
10. Horiguchi V, et al: Immunohistochemical study, on the Expression of c-erbB-2 Oncoprotein in Breast Cancer. Oncology 51:47-51, 1994.
11. Le Doussbal V, et al: Prognostic value of histologic grade nuclear components of scarff-bloom richardson (SBR) Cancer 64:1914-1921, 1989.
12. Tsuda H, et al: Correlation between histologic grade of malignancy and copy number of c-erbB-2 gene in breast carcinoma. Cancer 65(1):794-1780, 1990.
13. Dowkins HJS, et al: What's new in breast cancer. Molecular perspectives of cancer development and the role of the oncogene c-erbB-2 in prognosis and diseas. Path Res Pract 89:1238-1252, 1993.
14. Bianchi S, et al: Prognostic significance of c-erbB-2 expression in node negative breast cancer. Br J Cancer 67:625-629, 1993.
15. Barbareschi M, Leonardi E, Mouri FA, Servo G, Palma PD: p53 and c-erbB-2 protein expression in breast carcinomas in immunohistochemical study including correlations with receptor status. Proliferation markers and clinical stage in human breast cancer. Am J Clin Pathol 98(4):408-418, 1992.
16. Jing X, Kakuda K, et al: Intraductal spread of invasive breast carcinoma has a positive correlation with c-erbB-2 overexpression and vascular invasion. Cancer 86(3):439-448, 1999.
17. Orbo A, Stolsberg H, Kunde D: Topographic criteria in the diagnosis of tumor emboli in intramammary lymphatic cancer. Eur J Cancer 26(10):1035-1038, 1990.
18. Fernandes Acerer MJ, et al: Immunohistochemical expression of p53 and c-erbB-2 in breast carcinoma: Relation with epidemiologic factor's, histologic in features and prognosis. Ga Diag Pathol 142(5-6):289-296, 1997.