

İNVAZİV MEME KARSİNOMLARINDA nm23/NDPK-A PROTEİN VARLIĞININ LENF GANGLİONU METASTAZI İLE İLİŞKİSİ

Doç. Dr. Rıdvan İLHAN (*), Doç. Dr. Öner DOĞAN (*)

ÖZET: Bilindiği gibi meme karsinomlarında ölüm sonradan ortaya çıkan metastazlara bağlı olmaktadır. Ancak metastazın genetik temeli tam bilinmemektedir. Bu nedenle bir tümörün metastatik eğiliminin genetik kontrolünün bilinmesi tedavi ve prognoz tayinine ışık tutacaktır. Bir metastatik süpresör gen olduğu düşünülen nm23 geni insan meme karsinomlarında tespit edilmeye çalışılmıştır. Bu çalışmaların bazılarında nm 23 gen ekspresyonunun iyi diferansiye tümörlerde fazla olduğu, lenf ganglionu metastazı ile arasında ters, hastaliksız yaşam ile arasında ise doğru orantılı bir ilişki olduğu belirtilmiştir. Ancak çoğu çalışma nm 23 gen ekspresyonunun azalmasının kötü prognozu gösterdiği, fakat lenf ganglionu metastazı ile bir ilişkisinin olmadığını vurgulamaktadır. Bu çalışmada, lenf ganglionu metastazı yapmış 20 vaka ile, metastazsız 20 meme karsinom vakası immün histokimyasal olarak nm 23 gen ekspresyonu yönünden değerlendirilmiştir. nm 23 boyanma dereceleri lenf ganglionu metastazı, tümör büyüklüğü, histolojik ve nükleer grade ve insitu komponentin varlığı gibi parametrelerle karşılaştırılmış ve istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir.

ANAHTAR KELİMELE: Meme karsinomu, nm 23 geni

SUMMARY: In breast carcinomas, distant metastasis causes death. But, the genetic basis of metastasis is not yet understood. So the prediction of metastatic potential of a tumor will shed light on prognosis and therapeutic decisions. nm 23 gene expression which is thought to be a metastasis supressor gene is studied in human breast carcinomas. Some of these studies, it was concluded that in well-differentiated tumors there were nm 23 gene overexpression and it was associated with the absence of lymph node metastasis and absence of morbidity. But in most of the studies, reduced nm 23 gene expression was associated with poorer prognosis, but had no association with lymph node metastasis. In this study, nm 23 gene expression of 20 cases with lymph node metastasis and 20 cases without metastasis are studied immunohistochemically. We concluded that nm 23 staining properties had no correlation with parameters such as lymph node status, histologic and nuclear grades and the presence of an in-situ component, statistically.

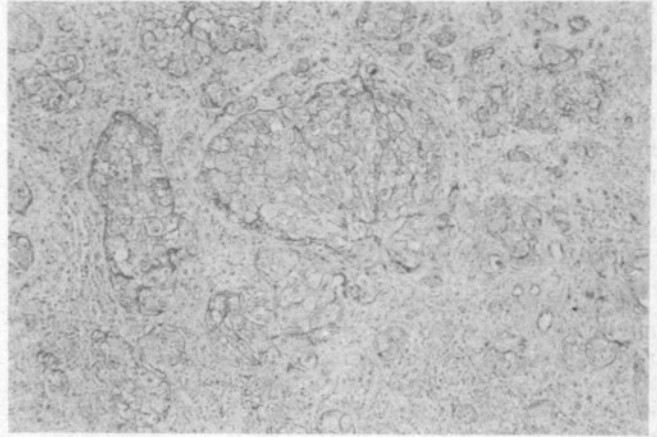
KEY WORDS: Breast carcinoma, nm 23 gene

GİRİŞ

nm 23 geni, ilk olarak sıçanların melanom hücre kültürlerinde tanımlanmıştır. Bu genin ekspresyonunun metastaz eğilimi ile ters orantılı olarak azaldığı gösterilmiş ve bu bulguya dayanılarak nm 23 geni bir metastaz süpresör gen adayı olarak tanıtılmıştır (1). İnsanda ise 17g22 lokalizasyonunda bu gene çok benzeyen ve NmE1 ve NmE2 olarak adlandırılan iki gen tanımlanmıştır. Bu genler sırası ile 18.5 KD luk ve 17 KD luk iki proteini kodlarlar. Bu proteinler nm 23 H 1 ve nm 23 H2 dir (2). Bu proteinler ön planda sitoplazmada yer almaktadırlar. Ancak nükleus ve sitoplazma membranında da bulunmaktadır (3,4,5). Bunlardan nm 23H1 in tümör süpresyonunda değeri olmasına karşın nm 23 H2 nin bu yönde bir önemi tayin edilememiştir (6).

nm 23 geni ve ürünlerinin yapısı ve fonksiyonları günümüzde tam olarak bilinmemektedir. Bu konuda tartışmalar vardır. İnsan nm 23 geni, Drosophilada bulunan awd (abnormal wing discs) geni ve Dictyostelium discoideum da bulunan Gip 17 geni ve bunların ürünleri arasında benzerlikler olduğu bildirilmiş ve bu ortak ürünün nükleoside diphosphate kinase (NDP-K) olduğu ileri sürülmüştür (3,7,8,9). Daha sonra nm 23 H1 ve nm 23 H2 genlerine ait NDPK-A ve NDPK-B adı altında iki ürün bulunduğu bildirilmiştir (10). Bu NDP-kinase enzimleri G proteinine GTP (Guanidin trifosfat) temini ile ilişki olarak hücre içinde sinyal iletimini kolaylaştırırlar. Bu ilişki indirekt olarak gösterilmişse de (11, 12) son çalışmalarda bu yönde kesin bir bağlantı kurulamamıştır (13). awd genindeki mutasyonların Drosophilalarda anormal doku morfolojisi, nekroz ve yaygın aberran diferansiasyona yol açtığı belirtilmektedir. Awd geni insanda nm 23 genine homolog olup, Drosophiladaki bu değişiklikler insanda malign progresyondaki değişikliklere analogtur. Bu nedenle metastaz olayı nm 23/awd gibi genlerin kaybı ile tayin edilebilecektir (3).

Başka bir düşünceye göre nm 23 gen bölgesi purine bağ-

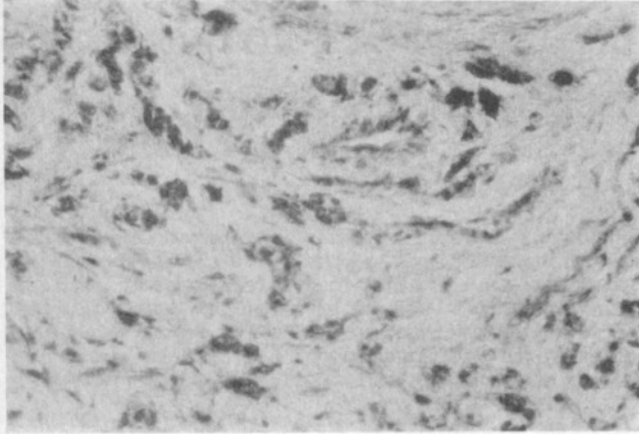


Resim 1: Bir invaziv duktal karsinom vakasında tümör hücrelerinin tümünde sitoplazmik boyanma görülmekte, Prot No: 3539/95 nm 23 X 125

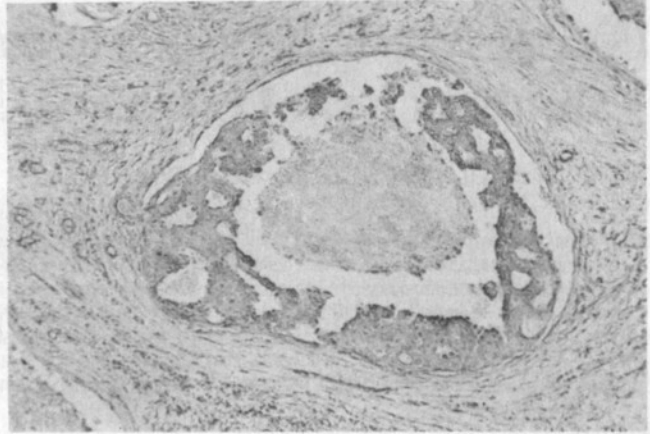
layan faktör (PuF) benzer bir proteinin ekspresyonundan da sorumludur. PuF nin ise C-myc gen transkripsiyonunu başlattığı ve bu nedenle özellikle nm 23 H2 nin C-myc gen düzenleyicilerden biri olduğu, metastaz dışında hücre proliferasyonu ile de ilişkili olabileceği öne sürülmüştür. Ancak C-myc, nm 23 ve apoptozis ilişkilerini konu alan çalışmalarda görüş birliği oluşmamıştır (14,15).

Diğer taraftan nm 23'ün serin otofosforilasyonu aracılığı ile de sinyal ileti sisteminde rol oynadığı ileri sürülmüş ancak, bu özelliğin tümörün metastatik potansiyeli ile ilişkili olmadığı düşünülmüştür (13,16). Ayrıca nm 23'ün immün sistem diferansiasyonunda sitokin benzeri bir etkiye sahip olduğu da belirtilmektedir (4,13,17).

Fare embriyosunun gelişim sürecinde nm 23 artışına paralel olarak diferansiasyonun da artması nm 23'ün hücre gelişim ve proliferasyonunda rolü olduğunu düşündürmektedir (13). Bu görüşü destekleyen bulgular Drosophila ve Dictyosteliumda da gözlenmektedir (7,11,13).



Resim 2 : Bir invaziv lobüler karsinom vakasında tümör hücrelerinin tümünde sitoplazmik boyanma görülmekte. Prot No 355/95 nm 23 X 310



Resim 3 : Bir invaziv duktal karsinom vakasında gözlenen intraduktal karsinom alanında (+++) boyanma görülmekte, Prot No: 9148/95 nm 23 X 125

Sonuç olarak in vitro ve deneysel hayvan çalışmaları nm 23 ekspresyonu ile metastaz yapma potansiyeli arasında ters bir ilişki olduğunu gösterilmiştir. Ayrıca bazı insan tümörlerinde nm 23 fonksiyon kaybının artmış metastatik aktiviteyi gösterdiği belirtilmişse de kesin yorum yapmak için henüz deliller yeterli değildir. Bu çelişkilerin bazılarının yöntemdeki teknik farklılıklardan kaynaklanıyor olabileceği de göz ardı edilmemelidir.

Çalışmamızda da incelenen 20 metastazlı ve 20 metastazsız meme karsinom vakasında nm 23 ekspresyonu ile lenf gangliyonu metastazı ilişkisi açısından istatistiksel olarak bir ilişki saptanmamış olup, konunun daha ayrıntılı olarak araştırılması gerekmektedir.

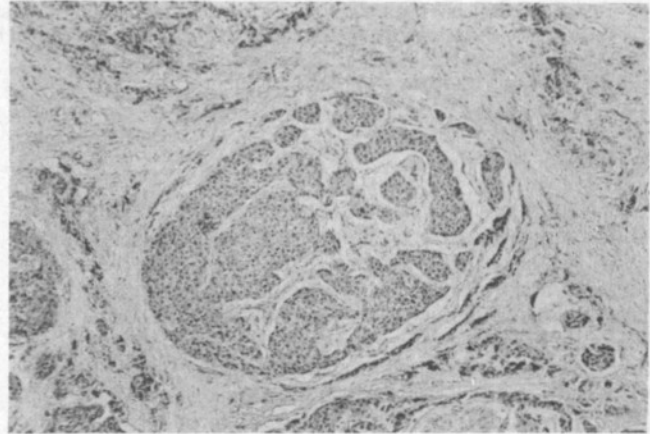
MATERYEL VE METOD

İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı biopsi materyeli içerisinde 1995 yılına ait 40 meme karsinom vakası seçildi. Bunların bir kısmı geniş tümör eksizyonu ve aksiller küraj ve bir kısmı mastektomi ve aksiller küraj yapılmış vakalar idi. 20 vakada aksiller lenf ganglionlarında metastaz mevcuttu, 20 vaka ise metastazsız idi.

Her iki grupta da memedeki primer tümöre ait en uygun bir parafin blok seçildi. Parafin bloklardan elde edilen 3-5 nm lik kesitler poly-1 Lysine kaplı lamlara alındı. Kesitler 50 ml sitrat buffer (2.1 gr sitrik asid/Lt, yaklaşık 13 ml 2 m NaOH ile PH 6.0'a getirilerek) içinde 2x5 dakikalık periyotlar halinde 700 watt lik mikrodalga ışın altında mikrodalga fırında ışınladı. Mikrodalga fırından çıkarılan kesitler sıcak buffer içinde 20 dakika bekletildi. Daha sonra immünohistokimyasal boyama yöntemine geçildi. Primer antikor olarak NCL-nm 23 monoklonal antikor (Novocastra) 1/100 oranında sulandırılarak 1saat süre ile oda sıcaklığında uygulandı. Biotin-Streptavidin amplifikasyon sistemi, horse radish peroxidase enzimi ve AEC kromojeni (dako LSAB universal kit, K 680) kullanılarak yöntem tamamlandı.

Boyalı kesitler ön planda sitoplazmik boyanma dikkate alınarak (-), (+), (++) ve (+++) olarak değerlendirildi.

Boyanma dereceleri ile değişik parametreler (lenf gangliyonu metastazı, tümör büyüklüğü, histolojik ve nükleer grade, insitu komponentin varlığı) arasındaki ilişki istatistiksel olarak ki kare testi ile değerlendirildi. Bu değerlendirmede tablolarda ayrıntılı olarak verilen (+) şeklindeki vakalar yani zemin boyanması gibi fokal ve zayıf boyanma gösterenler (-)



Resim 4 : Bir invaziv duktal ve lobüler karsinom (ikili kombine tip) vakasında gözlenen in situ karsinom alanında (++) boyanma görülmekte Prot no: 8146/95, nm 2 X 125

olarak kabul edildi. Ayrıca gerekli olduğunda fisher testi uygulandı.

BULGULAR

Aksiller lenf ganglionlarında metastaz yapmış 20 vaka en küçük yaş, 35, en büyük yaş 67 (Tablo 1) ve ortalama yaş 45.45 idi.

Aksiller lenf ganglionlarında metastazı olmayan 20 vaka ise en küçük yaş 28, en büyük yaş 70 (Tablo 2) ve ortalama yaş 47.68 idi.

Metastazlı vakaların 15'i saf duktal, değişik diferansiyasyonlar gösteren duktal yada lobüler karsinom ile kombine olan duktal karsinom şeklinde iken, 4 vaka saf lobüler (1,6, 12 ve 20 nolu vakalar) ve 1 vaka atipik medüller karsinom (19 nolu vaka) (Tablo 1) idi.

Metastazsız vakaların ise 16'sı saf duktal, değişik diferansiyasyon gösteren duktal yada lobüler karsinom ile kombine olan duktal karsinom şeklinde iken, bir vaka saf lobüler (1 nolu vaka), 1 vaka medüller (7 nolu vaka), 1 vaka tubuler (8 nolu vaka) ve 1 vaka müsinöz karsinom (18 nolu vaka) idi. (Tablo 2).

Metastazlı vakalarda metastatik lenf gangliyonu sayısı 1

TABLO 1 : METASTAZLI VAKALARIN ÖZELLİKLERİ

Vaka No	Prot No	Yaş	Histolojik tanı	Tümör büyüklüğü (büyük çap cm)	HG	NG	Linf ganglionu durumu		In situ komponent varlığı	NM23 ile boyanma dereceleri				Insitu komponentin NM23 ile boyanma dereceleri			
							-	+		-	+	++	+++	-	+	++	+++
1	3013 3018	50	ILCa	2.5	2	2	10	1	+			*					*
2	1535 3539	39	IDCa	3	2	2	8	2	+				*				*
3	3734	43	IDCa+ILCa	3.5	3	2	7	6	-		*						
4	4308	60	Tub dif.IDCa	2.2	2	2	-	9	-		*						
5	6661	40	Kom, krib, dif IDCa	3	2	2	12	5	+	*				*			
6	7389 7407	42	ILCa	3	2	2	7	3	+	*				*			
7	7592 7631	45	Kom, krib dif IDCa	2.5	3	2	7	7	+	*				*			
8	7651 7663	65	ILCa+tub Ca	2.5	3	3	6	7	+			*		*			
9	8119 8143	54	IDCa+ILCa	4	2	2	6	17	-		*						
10	8088 8145	61	IDCa	3.5	3	2	18	3	-			*					
11	8146 8161	35	Kom, krib dif IDCa+ILCa	2.5	3	2	2	11	+			*				*	
12	8441 8479	38	ILCa	2.2	2	2	5	5	+				*		*		
13	8746 8790	62	IDCa	2.1	3	3	19	2	-				*				
14	9221	67	IDCa	3	3	3	4	9	-	*							
15	9294 9296	53	Tub dif IDCa	2	2	2	17	2	-			*					
16	9533 9557	37	IDCa	2.3	3	2	6	3	+				*		*		
17	9576 9584	43	Tub dif IDCa+ILCa	1.2	2	2	10	2	-	*							
18	11412 11428	42	IDCa+ILCa	3	3	3	6	12	-			*					
19	11502 11510	40	Atipik medüller Ca	2	3	3	15	2	-								
20	11793	43	IL Ca	3	3	2	4	2	-			*					

Kısaltmalar : ILCa=İnvaziv lobüler karsinom, IDCa=İnvaziv duktal karsinom, Tub=Tubuler Dif=diferansiyasyon, Kom= Komedo, Krib=kribiform

ile (1 nolu vaka) 17 (9 nolu vaka) arasında değişmekteydi. Bulunan en az gangliyon sayısı 6 (20 nolu vaka) ve en fazla gangliyon sayısı 23 (h nolu vaka) idi. (Tablo 1). Metastazsız vakalarda ise en az gangliyon sayısı 9 (4 ve 18 nolu vakalar) ve en fazla gangliyon sayısı ise 25 (15 nolu vaka) idi (Tablo 2).

Herhangi bir tip ayırımı yapılmadan tüm vakalar değerlendirilmeye alındığında lenf gangliyonu metastazı ile nm 23 boyanma dereceleri arasında istatistiksel bir ilişki bulunamadı (Tablo 3) (Resim 1-2).

Lenf gangliyonu metastazı yönünden sadece saf duktal ya da duktal komponent içeren vakalar ele alındığında istatistiksel olarak yine anlamlı bir sonuç elde edilemedi (Tablo 4).

Metastazlı grupta 3 vaka 2 cm ya da daha küçük (T₁) (15,17 ve 19 nolu vakalar), diğerleri 2 cm'den büyük (T₂-T₃) idi (Tablo 1).

Metastazsız grupta ise 10 vaka 2 cm ya da daha küçük (T₁), diğer 10 vaka ise 2 cm den büyük (T₂-T₃) idi (Tablo 2).

Metastazlı ve metastazsız gruplar tümör büyüklüğü yönünden nm 23 boyanma dereceleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilemedi (Tablo 5 ve 6).

Metastazlı grupta duktal ya da duktal komponentli invaziv karsinomları içeren 16 vakanın 6 sında histolojik grade 2, 10'vakada ise histolojik grade 3 idi (Tablo 1).

Metastazsız grupta ise yine duktal yada duktal komponent içeren invaziv karsinom olarak belirlenen 16 vakanın

11'de histolojik grade 2 ve 5'de ise histolojik grade 3 idi (Tablo 2).

Metastazlı ve metastazsız gruplarda histolojik grade ile nm 23 boyanma dereceleri karşılaştırıldığında anlamlı bir sonuç bulunamadı (Tablo 7 ve 8).

Metastazlı grupta duktal ya da duktal komponent içeren invaziv karsinomlar içerisinde 12 vakada nüklear grade 2,4 vakada nüklear grade 3 idi. (Tablo 1).

Metastazsız grupta ise, aynı özellikleri içeren vakalardan 9'da nüklear grade 2, 7'de ise nüklear grade 3 idi (Tablo 2).

Metastazlı ve metastazsız gruplarda nüklear grade ile nm 23 boyanma dereceleri karşılaştırdı ve istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilemedi (Tablo 9 ve 10).

Gerek metastazlı, gerekse metastazsız vakaların bir kısmında primer invaziv tümör çevresinde in-situ komponent mevcut idi. Metastazlı vakalarda tümör çevresinde 9 vakada (Tablo 1) metastazsız olanlarda ise 8 vakada in situ komponent görüldü (Tablo 2). Metastazlı vakalardaki 4 vaka In-situ lobüler karsinom şeklinde olduğundan, nm 23 boyanma dereceleri ile yapılan kıyaslamada değerlendirmeye alınmadı.

Metastazlı ve metastazsız gruplarda in-situ duktal komponentin varlığı ile nm23 boyanma dereceleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı (Tablo 11) (Resim 3-4).

nm 23 dereceleri ile değişik parametrelerin karşılaştırılmasında bazı gruplarda belirttiğimiz gibi sadece duktal ya da duktal komponent içeren invaziv karsinomlar ele alınmış-

TABLO 2 : METASTAZSIZ VAKALARIN ÖZELLİKLERİ

Vaka No	Prot NoYaş	Histolojik Tanı	Tümör büyüklüğü (büyük çap cm)	HG	NG	Lenf ganglionu sayısı	In situ komponent varlığı	NM23 ile boyanma dereceleri				In situ komponentinin NM23 ile boyanma dereceleri			
								—	+	++	+++	—	+	++	+++
1	355 1440	40	ILCa	1.5	2	2	10	—			*				
2	793 837	69	IDCa	2.8	2	3	13	—		*					
3	866 882	50	IDCa+ILCa	1	3	2	10	—	*						
4	928 930	50	IDCa	2.5	3	2	9	+			*		*		
5	1270 1319	28	Tub.dif.IDCa	1	2	2	17	+			*		*		
6	1631 1655	34	Krib. Dif. IDCa	1.5	2	3	13	—		*					
7	2662 2663	52	Medüller Ca	3	3	3	24	—			*				
8	4617	40	Tubuler Ca	1.5	1	2	16	+			*		*		
9	6666 6735	—	Kom. dif. IDCa	1.5	2	2	21	+			*			*	
10	8964 8937	40	Kom. ve krib IDCa	2.2	2	2	12	+			*				*
11	9148 9168	60	Tub.dif. IDCa	3	2	2	19	+			*				*
12	9590 9643	41	IDCa	6	3	3	10	—		*					
13	9835	70	IDCa	4	3	3	16	—			*				
14	10492 10495	40	IDCa	3.5	3	3	14	+			*		*		
15	11174 11189	35	Krib ve med dif. IDCa	2.9	2	3	25	—		*					
16	11324 11328	56	Tub.dif. IDCa	2	2	2	12	—			*				
17	11993 13505	50	Tub.dif.IDCa	1.7	2	2	12	—			*				
18	13021 13077	68	Müsinöz Ca	3	1	1	9	+		*			*		
19	13456 13458	43	IDCa	1.5	2	3	11	—			*				

Kısaltmalar : ILCa=İnvaziv lobüler karsinom, IDCa=İnvaziv duktal karsinom, dif=diferansiasyon Tub=Tubuler, Krib= Krib=kribriform, Kom=Komedo, med=medüller

TABLO 3 : LENF GANGLİYONU METASTAZI İLE NM 23 BOYANMA DERECELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI (TÜM VAKALAR)

nm 23 boyanma derecesi	—	+	++	+++
Metastazlı vakalar	5	3	7	5
Metastazsız vakalar	2	3	4	11

Kikare= 1.02 0,3 <p<0,5 anlamlı değil

TABLO 4 : LENF GANGLİYONU METASTAZI İLE nm 23 BOYANMA DERECELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI (DUKTAL YADA DUKTAL KOMPLEMENTLİ İNVAZİV KARSİNOMLAR)

nm 23 boyanma derecesi	—	+	++	+++
Metastazlı vakalar	4	3	5	4
Metastazsız vakalar	1	3	3	9

Kikare= 1.24 0,2 <p<0,3 anlamlı değil

tir. Bunların dışında metastazlı grupta 4 vaka (1,6,12 ve 20 nolu vakalar) saf invaziv lobüler karsinom şeklindedir. Saf invaziv lobüler karsinomlar ayrıca değerlendirildiğinde 1. vakada nm 23 ile (++), 6. vakada (-), 12. vakada (+++) ve 20. vakada (++) boyanma saptandı. Bu vakaların 3'ünde in-situ lobüler karsinom mevcuttur. İn-situ lobüler karsinom

alanlarında 1. nolu vakada nm 23 ile (+++), 6. vakada (+) boyanma ve 12. vakada (+) boyanma saptandı (Tablo 1).

Metastazsız grupta ise 1 vaka saf lobüler (1 nolu vaka), 1 vaka medüller (7 nolu vaka), 1 vaka tubuler (8 nolu vaka) ve 1 vaka (18 nolu vaka) müsinöz karsinom idi. Bu vakalar ayrıca değerlendirildiğinde; Lobüler karsinom olan 1. vakada nm 23 ile (+++), 7. vakada (+++), 8. vakada (++) ve 18. vakada (+) boyanma görüldü. Bu vakalardan tubuler ve müsinöz karsinomlarda (8 ve 18 nolu vakalar) in-situ komponent mevcut idi. Tubuler karsinomdaki in-situ komponentte boyanma görülmezken, müsinöz karsinoma ait in-situ komponentte (+) boyanma görüldü (tablo 2).

TARTIŞMA

Meme karsinomlarında prognoz hastalığın stage'i (tümör büyüklüğü, lenf ganglionu metastazı ve uzak metastaz= TNM) histolojik ve nükleer grade, histolojik tip, anöploid, mitoz oranı ve östrojen ile progesteron reseptörlerinin varlığına bağlıdır. Bir metastatik süpressör gen olduğu düşünülen nm 23 gen aktivitesinin azalması meme karsinomlarında kötü prognozu gösteren bir belirteçtir (6,1819). Ayrıca yine nm 23 aktivitesinin azalmasının lenf ganglion metastaz riskini arttırdığı bildirilmektedir (18, 20). Ancak aksine lenf ganglionu metastazı ile olan ilişki bazı çalışmalarda doğ-

TABLO 5 : METASTAZLI GRUPTA TUMÖR BÜYÜKLÜĞÜ İLE nm23 BOYANMA DERECELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI (TUM VAKALAR)

nm 23 boyanma derecesi	-	+	++	+++
T1	1	0	0	2
T2=T3	4	3	7	3

Kikare: 6.53 0.5 < p < 0.9 anlamlı değil
Fisher: p=0.65 anlamlı değil

TABLO 6 : METASTAZSIZ GRUPTA TUMÖR BÜYÜKLÜĞÜ İLE nm 23 BOYANMA DERECELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI (TUM VAKALAR)

nm 23 boyanma derecesi	-	+	++	+++
T1	1	1	2	6
T2=T3	1	2	2	5

Kikare: 0.266 0.5 < p < 0.9 anlamlı değil

TABLO 7 : METASTAZLI GRUPTA HİSTOLOJİK GRADE İLE nm23 BOYANMA DERECELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI (DUKTAL YA DA DUKTAL KOMPONENTLİ İNVAZİV KARSİNOMLAR)

nm 23 boyanma derecesi	-	+	++	+++
Histolojik Grade: 2	2	2	1	1
Histolojik Grade: 3	2	1	4	3

Kikare: 2.04 0.1 < p < 0.2 anlamlı değil

gulanmamıştır (3,15). Üstelik Sawan ve ark (21) nm 23 geninin insan meme karsinomlarında süpresör bir gen olmadığını ileri sürmüşlerdir.

Bu çalışmada da nm 23 aktivitesi ile lenf ganglionu metastazı arasındaki ilişki araştırıldı. Histolojik tip ayrımı yapılmadan tüm vakalar değerlendirildiğinde; metastazlı vakalarda nm 23 boyanma dereceleri ile lenf ganglionu metastazı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilemedi. Metastazsız vakalarda ise 20 vakadan 11'de (+++) olmak üzere toplam 18 vakada değişik derecelerde boyanma görüldü. Sadece 2 vakada boyanma mevcut değildir. Bu bulgu metastazsız vakalarda nm 23 boyanma derecelerinin daha yüksek olduğunu göstermektedir. Ancak her iki grup birlikte istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı bir sonuç elde edilememiştir (Tablo 3).

Metastazlı grupta aynı değerlendirme sadece duktal ya da duktal komponent içeren invaziv karsinomlar ele alınarak yapıldığında yine nm 23 boyanma dereceleri ile lenf ganglionu metastazı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilemedi. Metastazsız grupta ise toplam 16 vakanın 9'u (+++) olmak üzere 15'de değişik derecelerde boyanma görüldü. Yani duktal karsinomlar içerisinde de metastazsız vakalarda nm 23 boyanma dereceleri daha yüksek oranda idi (Tablo 4). Görüldüğü gibi tüm vakalar ya da sadece duktal karsinomlar ele alındığında metastazsız gruplarda nm 23 ile boyanan vaka sayısının fazla olması istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, metastaz yapmayan vakaların nm 23 ile daha fazla oranda ve daha belirgin olarak boyandığını söyleyebiliriz. Bu anlamlılık belki de vaka sayılarının artması ile istatistiksel olarak da anlam kazanacaktır.

Yapılan bir çalışmada (6) nm 23 aktivitesi ile tümör büyüklüğü ve vasküler invazyon arasında bir ilişki olmadığı, grade ve stage ile arasında ise bir ilişki olduğu bildirilmektedir. Bu çalışmaya göre tümör grade'i yükseldikçe nm 23 aktivitesinin azaldığı vurgulanmaktadır.

Çalışmamızda tümör büyüklüğü ile nm 23 boyanma dere-

TABLO 8 : METASTAZSIZ GRUPTA HİSTOLOJİK GRADE İLE nm23 BOYANMA DERECELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI (DUKTAL YADA DUKTAL KOMPONENTLİ İNVAZİV KARSİNOMLAR)

nm 23 boyanma derecesi	-	+	++	+++
Histolojik Grade: 2	1	1	2	7
Histolojik Grade: 3	1	1	1	2

Kikare: 0.87 0.3 < p < 0.5 anlamlı değil

TABLO 9 : METASTAZLI GRUPTA NÜKLEAR GRADE İLE nm23 BOYANMA DERECELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI (DUKTAL YA DA DUKTAL KOMPONENTLİ İNVAZİV KARSİNOMLAR)

nm 23 boyanma derecesi	-	+	++	+++
Nüklear Grade 2	2	4	4	2
Nüklear Grade 3	1	0	1	2

Kikare: 0.76 0.3 < p < 0.5 anlamlı değil
Fisher: p= 0.39 anlamlı değil

TABLO 10 : METASTAZSIZ GRUPTA NÜKLEAR GRADE İLE nm23 BOYANMA DERECELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI (DUKTAL YA DA DUKTAL KOMPONENTLİ İNVAZİV KARSİNOMLAR)

nm 23 boyanma derecesi	-	+	++	+++
Nüklear Grade 2	0	1	1	7
Nüklear Grade 3	1	2	2	2

Kikare: 2.1 0.1 < p < 0.2 anlamlı değil
Fisher: p= 0.19 anlamlı değil

TABLO 11 : İN-SİTU DUKTAL KOMPONENTİN VARLIĞI İLE nm23 BOYANMA DERECELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

nm 23 boyanma derecesi	-	+	++	+++
Metastazlı vakalar	3	0	1	1
Metastazsız vakalar	2	3	1	2

Kikare: 8.12 0.9 < p anlamlı değil

celeri arasında gerek metastazlı, gerekse metastazsız grupta istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı (Tablo 5 ve 6).

Tümör grade'i çalışmamızda histolojik ve nüklear grade olarak ayrı ayrı ele alınmıştır. Bu parametreler ile ilgili olarak sadece duktal ya da duktal komponent içeren invaziv karsinomlar ile nm 23 boyanma dereceleri arasında kıyaslama yapıldı. Sonuçta gerek metastazlı gerekse metastazsız grupta histolojik ve nüklear grade ile nm 23 aktivitesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamadı (tablo 7,8,9 ve 10).

Simpson ve ark (22)'na göre non invaziv meme karsinomlarının duktal ve lobuler olmak üzere 2 major tipinin histolojik ve klinik özellikleri farklıdır. Sonradan gelişen invaziv karsinom açısından in situ lobüler karsinom (ISL Ca) bir risk faktörüdür. İn situ duktal karsinom (ISD Ca) ise en azından invaziv karsinom gelişiminde gerekli değildir. Ancak ISD Ca'lar heterogen bir grup olup, farklı subtiplerden oluşur. Bunlardan sadece komedo tipte olanlar invaziv karsinom gelişimi açısından malign potansiyele sahiptirler. Ancak bu araştırmacılar çalışmalarında bu bilgilere paralel sonuçlar elde edememişlerdir. Komedo tip ISD Ca'larda yüksek oranda nm 23 aktivitesi tespit ederken invaziv karsinoma eşlik eden komedo tip ISD Ca'larda nm 23 aktivitesinin azaldığını saptamışlardır. Bu bulgu komedo tip ISD Ca'ların invaziv karsinom ile birlikte olduğunda kötü prognozu gösterdiğini ortaya koy-

maktadır. Ancak aksine Royds ve ark (6) kendi vakaları içerisinde yer alan 7 komedo tip ISD Ca vakasının hiçbirinde nm 23 aktivitesi saptanmamıştır.

Vakalarımız içerisinde sadece ISD Ca'lar ele alındığında metastazlı grupta 5 ve metastazsız grupta 8 vakada bu değişiklikler mevcuttur. Bu vakalar nm 23 boyanma dereceli ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilemedi (Tablo 11).

Royds ve ark (6) çalışmasında 9 invaziv lobüler karsinom bulunmaktadır. Bunların hepsinde nm 23 ile boyanma saptanmıştır. Duktal karsinomlar ile kıyaslandığında klasik invaziv lobüler karsinomların daha iyi prognoz ve daha sıklıkla östrojen reseptör (+) liği göstermeleri açısından bu sonuç doğal olmaktadır. Ancak bu çalışmada vakaların metastaz durumu belirtilmemiştir.

Vakalarımız içerisinde metastazlı grupta yer alan 4 vakanın 3'ünde ve metastazsız gruptaki tek lobüler karsinom vakasında nm 23 ile değişik derecelerde (+) boyanma saptanmıştır (Tablo 1-2). Bu bulgumuz invaziv lobüler karsinomlarda nm 23 aktivitesi ile lenf ganglionu metastazı arasında bir ilişki olmadığını ortaya koymaktadır.

ISLCA'ların gerek saf gerekse invaziv karsinom ile birlikte olduğu durumlarda kuvvetli bir nm 23 aktivitesinin saptandığı bildirilmektedir. Her iki halde de nm 23 aktivitesi açısından fark bulunamaması ISLCA'nın invazyon prekürsörü açısından histolojik bir belirteç olduğunu, ancak invazyon için şart olmadığını göstermektedir. Saten ISLCA'larda nm 23'ün yüksek aktivasyon göstermesi beklenen bir sonuçtur. Çünkü ISLCA'larda östrojen reseptör (+) dir ve bunlar histolojik olarak düşük gradelidirler (22).

Vakalarımız içerisinde metastazlı grupta invaziv karsinom ile birlikte 4 ISLCA vakası mevcut olup, bunların 3'ünde değişik derecelerde (+) boyanma saptandı. İyi diferansiye olan bu tümörlerde bu sonuç doğaldır. Ancak araştırdığımız kadarı ile özel tipler ile ilgili bir kaynak bilgisine rastlayamadık.

Bütün bunların dışında metastazsız grupta özel tip olarak 1 adet medüller 1 adet tubuler ve 1 adet müsinöz karsinomun hepsinde nm 23 ile değişik derecelerde 5 (+) boyanma saptandı. İyi diferansiye olan bu tümörlerde bu sonuç doğaldır. Ancak araştırdığımız kadarı ile özel tipler ile ilgili bir kaynak bilgisine rastlayamadık.

Bu çalışmanın sonucunda nm 23 aktivitesi ile kullandığımız parametreler (lenf ganglionu metastazı, tümör büyüklüğü, histolojik ve nükleer grade) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilemedi. Ancak istatistiksel olarak anlamlı olmasa da lenf ganglionu metastazı açısından metastazsız grupta daha çok vakada ve daha belirgin olarak boyanma saptandı (Tablo 3-4). Bu bulgu nm 23 aktivitesinin arttığı durumlarda lenf ganglionu metastazının azaldığı şeklinde bir ilişkiyi düşündürmektedir. Ancak metastazlı vakalarda nm 23 aktivitesi ile lenf ganglionu metastazı arasında bir ilişki bulunamadı.

KAYNAKLAR

1. Steeg PS, Bevilacqua G, Kopper L, et al: Evidence for a novel gene associated with low tumor metastatic potential. *J Natl Cancer Inst.* 80:200-204, 1988.
2. Stahl JA, Leone A, Rosengard AM, et al: Identification of a second human nm 23 gene, nm 23H2. *Cancer Res.* 48:6550-6554, 1991.
3. Rosengard AM, Krutzsch HC, Shearn A, et al: Reduced nm 23/Awd protein in tumor metastasis and aberrant Drosophila development. *Nature* 342:177-180, 1989.
4. Urano T, Furukawa K, Shiku H.: Expression of nm 23/NDP kinase proteins on the cell surface. *Oncogene* 8: 1371-1376, 1993.
5. Backer JM, Mendola CE, Kovsed I, et al: Chromosomal localization and nucleoside diphosphate kinase activity of human metastasis suppressor genes nm 23-1 and nm 23-2. *Oncogene* 8: 497-502, 1993.
6. Royds JA-Stephenson TJ, Roes RC, et al: Nm 23 protein expression in ductal in situ and invasive human breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst.* 85 (9): 727-731 1993.
7. Wallet V, Mutzel R, Troll H, et al: dictyostelium nucleoside diphosphate kinase is highly homologous to nm 23 and awd proteins involved in mammalian tumor metastasis and Drosophila development. *J Natl Cancer Inst.* 82:1199-1202 1990.
8. Lecombe ML, Wallet U, Troll H, Veron M: Functional cloning of a nucleoside diphosphate kinase from Dictyostelium discoideum. *J Biol Chem.* 265:10012-10019 1990.
9. Biggs J, Hersperger E, Steeg P, et al: A drosophilial gene that is homologous to a mammalian gene associated with tumor metastasis codes for a nucleoside diphosphate kinase. *Cell.* 63: 933-940, 1990.
10. Gilles AM, Presecan E, Vonica A, Lascu I: Nucleoside diphosphate kinase from human erythrocytes. *J Biol Chem.* 266: 8784-8789, 1991.
11. Golden A, Benedict M, Shearn A, et al: Nucleoside diphosphate kinases. nm 23 and tumor metastasis: Possible biochemical mechanisms. In: Beuz CC, Liu ET eds. *Oncogenes and Tumour Suppressor Genes in Human malignancies.* Boston: Kluwer 345-358, 1993.
12. Bominaar AA, Molijo AC, Pestel M, et al: Activation of G-Proteins by receptorstimulated nucleoside diphosphate kinase in Dictyostelium. *EMBO J.* 12: 2275-2279, 1993.
13. Royds JA, Roes RC, Stephenson TJ: nm 23-A metastasis suppressor gene. *J Pathol* 173:211-212, 1994.
14. Dumas C, Lascu I, Morera S, et al: X ray structure of nucleoside diphosphate kinase. *EMBO J.* 11: 3203-3208, 1992.
15. Steel M: Cancer genes: Complexes and complexities. *Lancet.* 342:754-755, 1993.
16. Mac Donald NJ, Dela Ross A, Benedict MA, et al: A serine phosphorylation of nm 23 and not its nucleoside diphosphate kinase activity correlates with suppression of tumour metastatic potential. *J Biol Chem.* 268:25780-25789, 1994.
17. Okabe-kado J, Kasukabe T, Homma Y, et al: Identity of a differentiation inhibiting factor for mouse myeloid leukemia cells with nm 23/nucleoside diphosphate kinase. *Biochem Biophys Res Commun.* 182: 1987-1994, 1992.
18. Hennessy C, Henry JA, May FE et al: Expression of the antimetastatic gene nm 23 in human breast cancer: an association with good prognosis. *J Natl Cancer Inst.* 83 (4): 281-285, 1991.
19. Barnes R, Masood S, Barker E, et al: Low nm 23 protein expression in infiltrating ductal breast carcinomas correlates with reduced patient survival. *Am J Pathol* 139 (2):245-250, 1991.
20. Tokunga Y, Urno T, Furukawa K, et al: reduced expression of nm 23 H1, but not of nm 23 H2, is concordant with the frequency of lymph node metastasis of human breast cancer. *Int J Cancer* 55 (1), 66-71, 1993.
21. Sawan A, Lascu I, Veron M, et al: NDP-K/nm 23 expression in human breast cancer in relation to relapse, survival, and other prognostic factors: an immunohistochemical study. *J Pathol* 172 (1): 27-34, 1994.
22. Simpson JF, O'Malley F, Dupond WD, Pae DL: Heterogenous expression of nm 23 gene product in noninvasive breast carcinoma. *Cancer* 73 (9): 2352-2358, 1994.