

MEMENİN İN SITU DUKTAL KARSİNOMLARINDA c-erbB-2 ve ANJİYOGENEZ ÖZELLİKLERİ

Dr. Sıtkı TUZLALI*, Dr. Neslihan CABIOĞLU**

ÖZET: Bu çalışmada memenin in situ duktal karsinomlarının (İSDK) immunhistokimyasal olarak c-erbB-2 onkoprotein aşırı ekspresyon ve CD 34 primer antikoru kullanılarak periduktal anjiyogenez özellikleri araştırıldı. Bu özelliklerin tümörün boyut, grade ve hormon reseptör durumuyla ilişkisi değerlendirildi. c-erbB-2 immünreaktivitesi % 61 oranında görüldü ve yüksek grade'li İSDK' larda, düşük ve intermedyer grade'li İSDK' lara göre ileri derecede anlamlı biçimde rastlandı. Ancak c-erbB-2 pozitifliği ile boyut, reseptör durumu ve periduktal anjiyogenez arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı. Vakalarımız komedo-nonkomedo şeklinde sınıflandığında, c-erbB-2 pozitifliği komedo tiplerin tümünde saptandı. CD 34 immunhistokimyası ile semikantitatif olarak değerlendirilen, tümör duktusları çevreleyen anjiyogenez ile İSDK grade ve reseptör durumu arasında anlamlı bir ilişki görülmedi. Belirgin anjiyogenez 1.5 cm. den büyük tümörlerde % 66 oranında saptandı ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

ANAHTAR KELİMELEER: Meme-in situ duktal karsinom, c-erbB-2, Her-2/neu, anjiyogenez, CD34

SUMMARY: c-erbB-2 AND ANGIOGENESIS IN DUCTAL CARCINOMA IN SITU OF THE BREAST: In this study, we examined the c-erbB-2 expression and periductal angiogenesis (PDA) of 18 cases of breast ductal carcinoma in situ (DCIS) immunohistochemically. Immunoreactivity of c-erbB-2 in tumor cells was determined in 61 % of cases. All cases of high grade DCIS revealed c-erbB-2 positivity and this was statistically significant when compared to those of low and intermediate DCIS cases. There was no correlation between c-erbB-2 immunoreactivity and tumor size, receptor status and PDA. PDA was assessed semiquantitatively by using CD 34 antibody had no significant correlation with DCIS grade and receptor status was found. Marked vascularity was seen in 25% of cases smaller than 1.5 cm, but in 66 % of the larger ones, but this was not statistically significant.

KEY WORDS: Breast-ductal carcinoma in situ (DCIS), c-erbB-2, Her-2/neu, angiogenesis, CD34.

GİRİŞ

Tarama mammograflerinin yaygınlaşması ile in situ duktal karsinom (İSDK) vakalarında belirgin bir artış görülmektedir (1,2). Bu artış İSDK'ların morfoloji, biyoloji ve tedavi seçeneklerinin daha da önem kazanmasına neden olmuştur. Bunun sonucunda çalışmalar, genellikle meme koruyucu cerrahi (MKC) girişim sonrası ipsilateral lokal nüksler ile ilgili olabilecek prognostik parametreler üzerinde yoğunlaşmıştır. Bugün genel olarak tümör boyutu ve yaygınlığı, MKC girişim sonrası cerrahi sınır pozitifliği ve yüksek grade'in lokal nüksün en önemli göstergeleri olduğu kabul edilmektedir (3).

İSDK'larda bugün morfolojik patternlere göre yapılan klasik sınıflama önemini yitirmiştir. Zira bu lezyonlar radyolojik ve biyolojik anlamda olduğu kadar histolojik olarak da heterojendirler (4,5,6). Klasik sınıflamanın yerini nükleer ve sitolojik atipi, nekroz ya da hücre polarizasyonu gibi parametrelerin bir ya da birkaçının esas alındığı çeşitli derecelendirme sistemleri almıştır (1,2,6,7,8). İSDK prognozunu belirlemede histolojik derecelendirme dışında steroid hormon reseptör durumu, proliferasyon belirleyiciler (Ki 67, timidin bağlama indeksi, flow sitometri), tümör süpresör gen (p53), growth faktör reseptörü (c-erbB2), apoptozu düzenleyen gen (bcl-2) ve anjiyogenez belirleyiciler ile ilgili çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalar genel olarak invaziv meme karsinomlarında olduğu gibi, İSDK diferansiasyonu ile bu belirleyiciler arsında bir korelasyonu göstermektedir (1).

Protonkogen c-erbB-2 (HER-2/neu) epidermal growth factor receptor (EGFR) ile kısmen homolog olan ve tirozin kinaz aktivitesi gösteren 185 kilodaltonluk bir transmembran glikoproteini kodlar (9,10). Çeşitli çalışmalarda, bu genin aşırı ekspresyonunun invaziv meme karsinomlarında kötü prognozu gösterdiği belirtilmiştir (11,12). Bunu doğrulamayan ya-

yınlar da mevcuttur (13,14). İSDK'larda da c-erbB-2 aşırı ekspresyonunun, azalan diferansiasyon ile ilişkisini ortaya koyan çalışmalar mevcuttur (15-20).

Anjiyogenez, tümör büyüme ve metastazı için gereklidir. anjiyogenezin göstergesi olarak kabul edilen tümör içi ve çevresi mikrodamar yoğunluğunun, invaziv meme karsinomlarında metastaz ve sağkalım ile ilişkisi, çeşitli yayınlarda bildirilmiştir (21,22). İSDK'larda ise tümör anjiyogenezi ile ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur (15,23,24,25,26). Bu çalışmalarda anjiyogenez ve anjiyogenez ile ilişkili faktörlerin, İSDK'ların çeşitli morfolojik tipleri ile bağlantısı ortaya konmaya çalışılmakta ve artan anjiyogenezin İSDK'lardaki agresif seyir ve olası metastatik potansiyeli yansıtıp yansıtmadığı araştırılmaktadır.

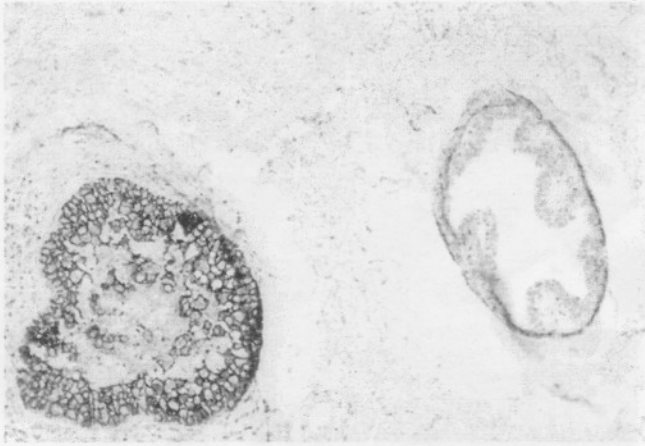
Bu çalışmada 18 İSDK vakasının immünhistokimyasal olarak c-erbB-2 immünreaktivitesi ile CD 34 primer antikoru kullanılarak anjiyogenez özellikleri değerlendirildi. Bu parametrelerin tümörün boyut, diferansiasyon ve steroid reseptör durumları ile ilişkisi araştırıldı.

MATERYEL VE METOD

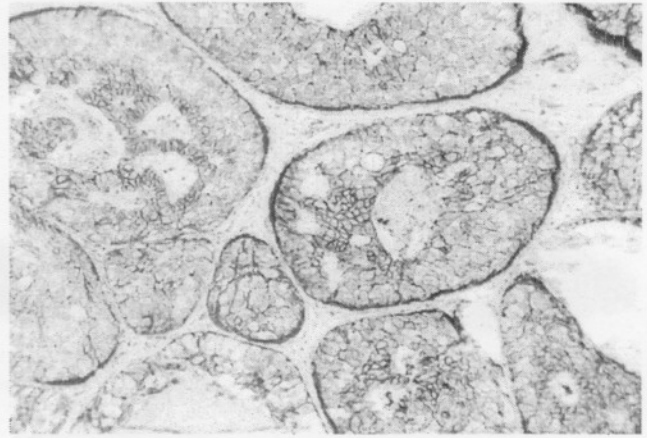
Bu çalışmada, 1997 -1999 yılları arasında İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı konan 24 adet İSDK vakası incelendi. c-erbB-2 ve CD 34 immünhistokimyasal incelemesi, bunların 18'inde mümkün olduğundan 18 vaka çalışma kapsamına alındı. Vakalarda klinik prezantasyona göre (palpabl kitle, mammografik lezyon) ayırım yapılmadı. Vakaların yaş ortalaması 50.8 olup, yaşları 35 ile 77 arasında değişmekteydi. Arşiv lamaları ve bloklardan yeniden hazırlanan kesitler, tekrar değerlendirildi. İmmünhistokimyasal inceleme için 5 mikronluk kesitler, ksilende depolarafine edilip azalan konsantrasyonda alkollerden geçirilerek suya getirildi. 1000 ml 0.01 M sodyum sitrat buffer (pH=6) solüsyonu kullanılarak, düdüklü tencerede kaynatmak suretiyle antijen retrieval uygulandı. Yirmi dakika %

* İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı

** İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı



Resim 1: Bir İSDK vakasında tümöral duktusta kuvvetli c-erb B-2 boyanması görüldükten, komşuluğundaki duktusta immünreaktivite saptanmamaktadır (21199/97, c-erb B-2 X125).



Resim 2: Nekrozlu kribriform ve komedo alanların bulunduğu bir vakada orta yoğunlukta membranöz boyanma (24081/98, c-erb B-2 X125).

3'lük H₂O₂ inkübasyonu ile endojen peroksidaz aktivitesi blokajından sonra kesitlere 15 dak. Ultrablock nonspesifik blocking agent (Labvision Co.) uygulandı. Primer antikor olarak DAKO A 0485 Rabbit anti human c-erbB-2 oncoprotein poliklonal antikor (1/400 dilüsyonda 1 saat inkübasyon) ve Novocastra endothelial cell marker (CD 34) NCL-END Clone QB End /10 (1/25 dilüsyonda 1 saat inkübasyon) kullanıldı. Daha sonra kesitler biotinli sekonder antikor (Ultravision-Labvision Co.) ve peroxydase labeled streptavidin (Ultravision- Streptavidin/ HRP, Labvision Co.) ile 25'er dak. inkübe edildi. AEC kromojeni ve zıt boya olarak Meyer hematoksileni kullanıldı. Histopatolojik derecelendirme: Vakaların derecelendirmesi (grading) European Union Working Group for Breast Screening Project (EUWGBSP) (2) grubunun ve Tavassoli'nin (1) kriterlerine göre iki ayrı derecelendirme sistemine göre yapıldı ve her ikisinin de diğer parametrelerle ilişkisi ayrı ayrı değerlendirildi. Bunlardan birincisi sadece nükleer grade (NG)'in esas alındığı bir sınıflama olup buna göre:

Yüksek NG: Pleomorfik, sıklıkla büyük ve belirgin boyut farklılıkları ve düzensiz dağılım gösteren çekirdek yapısı. Bunlar düzensiz konturlu, belirgin nükleoluslu ve kaba kromatin yapısına sahip çekirdeklerdir.

İntermedyer NG: Kolayca yüksek ya da düşük NG kategorilerine sokulamayan vakalardır. Çekirdekler hafif-orta derecede pleomorfizm gösterir. Bu pleomorfizm, yüksek NG'li vakalardaki kadar belirgin olmayıp, düşük NG'li vakalardaki monoton görünümü de içermemektedir. Çekirdek-sitoplazma oranı genellikle artmış olup bir veya iki nükleolus saptanabilir.

Düşük NG: Monomorfik, düzgün dağılımlı hücreler sferik, santral yerleşimli ve nükleolusları belirgin olmayan çekirdek içerirler. Bu çekirdekler genellikle küçüktür.

Tavassoli'nin derecelendirme sistemine göre de sitolojik atipi ve nekroz esas alınarak değerlendirme yapıldı:

Yüksek grade: Sitolojik atipi ve nekroz içeren İSDK'lar. Tüm komedokarsinomlar ve taşlı yüzük hücreli intraduktal karsinomlar ile birçok intraduktal apokrin karsinom bu grupta yer alır.

İntermedyer grade: Solid, kribriform ya da mikropapiller karsinomların sellüler atipi içermeyen nekrozlu şekilleri ya da nekroz içermeyip sitolojik atipi gösteren şekilleri.

Düşük grade: Nekroz ya da atipi içermeyen ve üniform hücrelerden oluşan kribriform ve mikropapiller pattern.

Tümör boyutunun değerlendirilmesi: Vakaların 13'ünde tümör boyutu kesin ve emin biçimde değerlendirildi. Bunların bazılarında makroskopik olarak ölçülen lezyon, bazılarında ise mikroskopik kesit(ler) üzerinde yapılan ölçüm ile belirlendi ve tümörler Van Nuys prognostik indekste (3) en düşük skor grubu referans noktası alınarak (≤ 1.5 cm.) ve (> 1.5 cm) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Diğer 5 vaka ise evvelce biopsilerinin varlığı gibi nedenlerle, kesin tümör boyutundan emin olunamadığından değerlendirilmedi.

İmmünohistokimyasal değerlendirme: Membranöz tipte c-erbB-2 immünreaktivitesi pozitif boyanma olarak değerlendirildi. Boyanma yoğunluğu da, membranöz boyanmanın kuvveti ve sitoplazmik membranlardaki yaygınlığı göz önüne alınarak zayıf, orta ve kuvvetli olarak değerlendirildi. Hücrelerin %10'undan fazlasında boyanma olan vakalar, yoğunluğu çok zayıf, belli belirsiz olmadıkça (+) olarak değerlendirildi. Vakalar (+) ve (-) olarak iki ayrı gruba ayrıldı. Sitoplazmik boyanmalar ile belli belirsiz, çok zayıf ve sitoplazma membranının küçük bir bölümünde lokalize boyanmalar negatif boyanma olarak değerlendirildi.

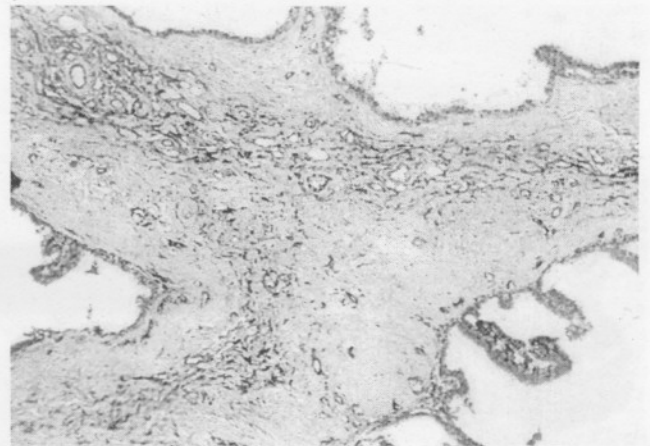
CD 34 immünreaktivitesi: Guidi ve ark. (23)'ünün tanımladığı şekilde semikantitatif olarak (+), (++) ve (+++) şeklinde değerlendirildi. Değerlendirme, duktus bazal membranının hemen çevresindeki periduktal anjiyogenez (PDA) esas alınarak yapıldı. Bunun yoğunluğu ve duktusu çepeçevre kuşatıp kuşatmadığına bakıldı. Tümöral bir duktusu çepeçevre kuşatan, ya da en az iki duktusun % 50 ve daha fazlasını kuşatan CD 34 pozitifliği (+++) anjiyogenez olarak değerlendirildi. Duktuslar arası stromadaki anjiyogenez, her vakada farklı oranda stroma ile karşılaşıldığından (farklı yağ doku/parenkim oranı ve farklı tümör /parenkim oranı) istatistiksel incelemeye dahil edilmedi. İstatistiksel incelemede vakalar anjiyogenezi belirgin (+++) ve belirgin olmayanlar (+)/(++) olmak üzere iki gruba ayrıldı.

Tümör hücrelerinin % 10'undan fazlasında intranükleer östrojen reseptör (ÖR) ve progesteron reseptör (PR) protein immünreaktivitesi olan vakalar steroid hormon reseptörü (+) olarak değerlendirildi. Hiç boyanma görülmeyen ya da % 10'dan daha az oranda boyanma görülen vakalar ise (-) olarak kabul edildi.

c-erbB-2 pozitifliğinin ve belirgin anjiyogenezin birbiriyle, ÖR, PR durumu, tümör grade'i ve tümör boyutu ile ilişkileri araştırıldı. İstatistiksel inceleme Fisher'in kesin ki-kare testi kullanılarak yapıldı.



Resim 3: Bir duktustaki tümör hücrelerinde yaygın ve kuvvetli c-erb B-2 boyanması (25554/97, c-erb B-2 X125).



Resim 4: Mikropapiller tipte düşük grade İSDK vakasında belirgin stromal ve orta yoğunlukta periduktal anjiyogenez (48031/97, CD34 X125).

SONUÇLAR

Vakaların genel dökümü Tablo 1'de görülmektedir.

c-erbB-2 immünreaktivitesi, vakaların 11'inde (% 61) saptandı. Normal ve epitel hiperplazileri olan duktuslarda immünreaktivite görülmedi. Tümöral duktuslarda boyanmanın olduğu vakalarda da normal ve hiperplazik duktuslarda boyanma saptanmadı (Resim 1). Pozitif boyanmanın olduğu vakalarda tümör hücrelerinde değişik oran ve yoğunlukta immünreaktivite saptandı (Resim 2 ve 3). c-erbB-2 pozitifliği ile 1.5 cm.den küçük ve büyük tümörler arasında ($p=0.29$), ÖR ($p=0.57$) ve PR ($p=0.42$) durumu ve belirgin (+++) PDA arasında ($p=1$) anlamlı bir ilişki saptanmadı. Ancak düşük ve intermedyer grade'li vakalar bir grup, yüksek grade'li vakalar

ikinci bir grup olarak alınıp birbiriyle kıyaslandığında, c-erbB-2 immünreaktivitesi sıklığına yüksek grade'li vakalarda ileri derecede anlamlı ($p=0.004$) biçimde rastlanmıştır. Bu bulgu, her iki derecelendirme sisteminde de aynı anlamlılıkta bulunmuştur.

CD 34 antikoruna ile vakalarımızda değişen oranlarda periduktal ve stromal anjiyogenez saptandı (Resim 4). Vakalarımızın % 28'inde (+), %39'unda (++) (Resim 5), %33'ünde de (+++) (Resim 6) PDA saptandı. Stromal anjiyogenez çalışma kapsamına alınmadı. Anjiyogenezin tümöral duktuslarda, her vakada homojen olmadığı dikkati çekti. Özellikle lobuluslarda myofibroblastik hücrelerin boyandığı izlendi. Değerlendirmede bunlar ekarte edildi. PDA'nin kimi duktusları çepçevre kuşatacak biçimde olduğu, kimilerinde

TABLO 1. İSDK VAKALARININ YAŞ, BOYUT, HİSTOPATOLOJİ ve İMMÜNHİSTOKİMYA BULGULARININ GENEL DÖKÜMÜ

Vaka	Yaş	Dominant pattern	Nekroz	Grade (EUWGBSP)	Tavassoli Grade	Boyut (cm)	c-erbB-2	CD 34	ÖR	PR
1	55	Kribriform	-	i	D	2.5ve 0.5	-	+	-	-
2	38	Mikro-papiller	-	D	D	>5	-<%10 z	+++	+	+
3	51	Komodo	+	Y	Y	1.5	+%20 z	++	-	-
4	39	Mikro-papiller	+	i	i	?	-	++	+	+
5	35	Kribriform	-	i	D	Mikr.<1	-	+	-	+
6	55	Kribriform	-	D	i	>3	-< % 5 z	++	+	-
7	54	Mikro-papiller	-	i	D	Mikr. <1	-	++	+	+
8	43	Komodo	+	Y	Y	1.2	+ % 80 o	+++	+	+
9	52	Kribriform	-	D	D	Mikr. < 1	+ %75 k	+	+	+
10	43	Komodo	+	Y	Y	5	+ %30 o	+++	+	-
11	44	Komodo	+	Y	Y	1.1	+ % 70 o	++	+	+
12	71	Komodo	+	Y	Y	2	+ % 95 k	+++	-	-
13	64	Komodo	+	Y	Y	?	+ % 80 o	+	-	-
14	74	Mikro-papiller	-	i	D	< 1	+ % 80 z	+++	+	+
15	35	Kribriform	+	i	i	?	+ % 75 o	++	+	+
16	77	Komodo	+	Y	Y	< 1	+ % 100 k	+	+	+
17	35	Kribriform	-	Y	Y	?	+ % 30 z	++	-	-
18	48	Kribriform	-	i	D	?	-	+++	+	+

EUWGBSP: European Union Working Group for Breast Screening Project

D=Düşük i=Intermedyer Y=Yüksek

Mikr.: Mikroskopik Z=Zayıf O=Orta

K=Kuvvetli yoğunlukta boyanma

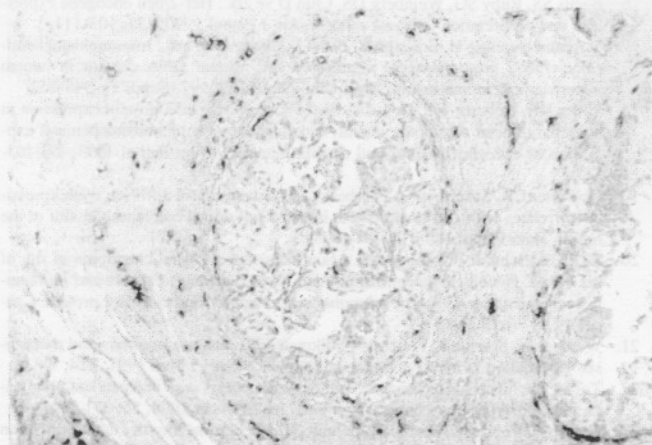
TABLO 2. İSDK VAKALARININ c-erb B-2 ve PERİDUKTAL ANJİOGENEZ ÖZELLİKLERİNİN TÜMÖR BOYUTU, GRADE ve STEROİD RESEPTÖR DURUMU İLE İLİŞKİSİ

	c-erb B2(-)	c-erb B2(+)	CD34 +/++	CD34 +++
≤1.5 cm (8)	2	6	6	2
>1.5 cm (5)	3	2	2	3
Grade I-II (10)	7	3	7	3
Grade III (8)	-	8	5	3
ÖR + (12)	5	7	7	5
ÖR- (6)	2	4	5	1
PR + (11)	5	6	7	4
PR - (7)	3	4	5	2

ise parsiyel olduğu görüldü. Anjiyogenez hiçbir vakada tümör hücreleri içerisinde görülmedi. Papiller yapıdaki tümörlerin fibrovasküler çatısındaki anjiyogenez de değerlendirme dışı bırakıldı. Artmış PDA ile tümör boyutu ilişkisi değerlendirildiğinde, 1.5 cm. ve daha küçük 8 vakanın 6'sında anjiyogenez düşük bulunmakla birlikte sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0.29$). Belirgin PDA ve c-erbB-2 pozitifliği ($p=1$) ile her iki sisteme göre grade ($p=1$) ve ÖR ($p=0.31$), PR ($p=0.39$) durumları arasında anlamlı bir sonuç bulunmadı.

ÖR (+) ve (-) olan vakalarda, tümör boyutu ($p=1$), grade ($p=0.32$), c-erbB-2 immünreaktivitesi ($p=1$) ve belirgin PDA ($p=0.64$) ilişkisi bakımından istatistiksel anlamlılık saptanmadı.

PR (+) ve (-) olan vakalar arasında grade ($p=0.15$), belirgin anjiyogenez ($p=0.64$), c-erbB-2 immünreaktivitesi ($p=0.15$) bakımından anlamlı bir ilişki saptanmadı. Ancak PR pozitifliği 1.5 cm.'den küçük tümörlerde 1.5 cm.'den büyük tümörlere göre anlamlı şekilde yüksek ($p=0.03$) bulundu.



Resim 5: Yüksek grade bir İSDK vakasında duktus bazal membranı komşuluğunda orta yoğunlukta anjiyogenez (21199 / 97, CD 34 X125).

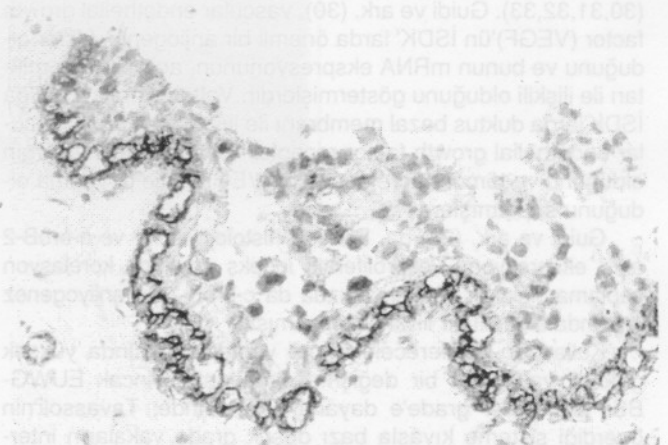
TARTIŞMA

İSDK'larda c-erbB-2 aşırı ekspresyonuna invaziv duktal karsinomlara göre daha sık rastlanmaktadır (14). Bu relatif sıklık artışı, muhtemelen c-erbB-2 amplifikasyonunun neoplastik dönüşümün erken bir evresini yansıtmaktadır (14,27). Çalışmamızda c-erbB-2 aşırı ekspresyonunu yansıtan immünreaktivite %61 oranında saptanmış olup bu bilgilerle uyumludur. c-erbB-2 aşırı ekspresyonuna düşük grade'li İSDK' larda %0-50, yüksek grade'li İSDK' larda ise % 50-100 oranında rastlandığı belirtilmektedir (1). Serimizde de iki sınıflamaya göre de, yüksek grade'de yer alan 8 vakanın tümünde (%100) c-erbB-2 pozitifliği görüldü. Düşük ve intermedyer grade'li vakalarda ise, 3/10 (%30) oranında pozitiflik saptandı. Vakalarımız komedo-nonkomedo şeklinde sınıflandığında da, c-erbB-2 aşırı ekspresyonunun komedo patternin saf ya da dominant olduğu 7 vakanın tümünde görüldüğü dikkati çekmiştir. Bu bulgular birçok literatür verisiyle uyumludur (14,15,18,20,27).

Kimi araştırmacılar yüksek grade'li ve komedo tipte İSDK vakaları ile, büyük hücreli İSDK vakalarındaki c-erbB-2 aşırı ekspresyonunun anöploidi ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (17,20,28). Komedo tip İSDK'ların yüksek proliferatif aktiviteye sahip oldukları bilinmektedir (1). Bu tümörlerde artmış c-erbB-2 ekspresyonu bu onkoproteinin hücre çoğalması ile ilişkisini göstermektedir. Ancak bu oranın invaziv duktal karsinomlara göre yüksek oluşu, ya c-erbB-2'nin karsinogenezin sadece erken evrelerinde eksprese olduğunu ya da bir grup invaziv tümörün in situ aşama olmaksızın veya c-erbB-2 ile ilişkisiz ortaya çıktığını düşündürmektedir.

De Potter ve ark. (19) c-erbB-2 proteininin hücre motilitesiyle ilişkili olduğuna dair gözlemlerinden yola çıkarak İSDK'ların yaygınlığı ile c-erbB-2 ekspresyon özelliklerini kıyaslamışlar ve c-erbB-2'nin aşırı ekspresyonunun lezyon yaygınlığı ile ilişkili olduğunu savunmuşlardır. 1.5 cm referans noktası alındığında serimizdeki veriler c-erbB-2 aşırı ekspresyonu ile tümör boyutu ilişkisini doğrulamamıştır. Walker ve ark (29) da, mammografi ile saptanan İSDK vakalarını semptomatik İSDK'lar ile kıyasladıklarında, c-erbB-2'nin semptomatik vakalarda anlamlı biçimde pozitif olduğunu belirtmektedirler, ancak bu pozitiflik vaka grubumuzda olduğu gibi yüksek grade vakalar üzerinde yoğunlaşmaktadır.

Tümör içi ve tümör çevresi mikrodamar yoğunluğunun



Resim 6: Yüksek grade bir İSDK vakasında duktus bazal membranı ile ilişkili belirgin anjiyogenez (8530 / 99, CD34 X310).

prognoz ile ilişkisi ile ilgili çalışmaların çoğu invaziv meme kansinimleri ile ilgilidir (22,27). İn situ kansinimler ile ilgili çalışmalar sınırlı sayıdadır. İlk kez Weidner (21), F VIII Rag ile İSDK'larda duktusları %23 oranında çepeçevre kuşatan neovaskülarizasyonu tanımlamıştır. Guidi ve ark. (23) ise İSDK'larda iki tür neovaskülarizasyon patterni tanımlamışlardır. Bunlardan biri stromal desmoplazinin belirgin olduğu vakalarda tümör boşlukların etrafında görülen neovaskülarizasyon olup komedo kansinimlerde daha sıktır. Diğer de bazal membranı kuşatacak tarzda görülen neovaskülarizasyondur. Engels ve ark (25), bu farklı patternleri iki ayrı mekanizma ile açıklamaktadır: Periduktal anjiyogenez tümör hücreleri ile ilişkiliyken, stromal anjiyogenez makrofajlar ve endotel hücreleri gibi hücrelerin salgıladığı anjiyogenik faktörler ile oluşmaktadır. Serimizde anjiyogenezin tümör büyümesi ile ilişkisi mantığından yola çıkarak tümör boyutu ile anjiyogenez ilişkisini araştırdık. Vakalarımızda semikantitatif olarak ölçülen belirgin mikrodamar artışının, 1.5 cm'den küçük tümörlerde daha seyrek görüldüğü (% 25) gözlenmekle birlikte, 1.5 cm'den büyük İSDK'lardan (% 66) istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdiği saptandı ($p=0.29$). Ancak anjiyogenez ile İSDK boyutu ilişkisinin, daha fazla sayıda vaka serileri ile araştırılması gerektiği kanısındayız. Serimizde periduktal anjiyogenez ile tümör grade'i ve reseptör durumu ile de anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Guidi ve ark. (23), stromal damarlanma artışının komedo tipte lezyonlarda daha sık olduğunu ve stromal desmoplazi, c-erbB-2 aşırı ekspresyonu ve yüksek proliferatif indeks ile birlikteliğini savunmuşlardır. Engels ve ark. (25) da, her iki patternin de yüksek grade İSDK'larda belirgin olduğunu belirtmektedirler. Lee ve ark. (26) ise, yine semikantitatif ölçülen mikrodamar yoğunluğu artışının, perivasküler inflamasyon ile ilişkili olduğunu saptamışlardır. Artan anjiyogenez ve inflamasyonun da c-erbB-2 aşırı ekspresyonu ve tümörün yaygınlığı ile ilişkili olduğunu belirtmektedir.

Bose ve ark (24), FVIII Rag ve CD 34 antikorları ile yaptıkları çalışmada, PDA'nın İSDK türleri arasında anlamlı bir farklılık göstermemekle birlikte komedo tip İSDK'larda non-komedo İSDK'lara göre daha belirgin olduğunu vurgulamaktadır.

Serimizde de diğer çalışmalarla uyumlu olarak (23,25,26) invaziv kansinimlerin aksine tümör hücre toplulukları içerisinde angiogenez saptanmamıştır. Bu İSDK'lar ile invaziv kansinimlerde yeni damar oluşumunun farklı anjiyogenik mekanizmalarla geliştiğini düşündürmektedir. Son yıllarda çalışmalar angiogenez ile ilişkili faktörler üzerinde yoğunlaşmıştır (30,31,32,33). Guidi ve ark. (30), vascular endothelial growth factor (VEGF)'ün İSDK'larda önemli bir anjiyogenik faktör olduğunu ve bunun mRNA ekspresyonunun, anjiyogenez miktarı ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Valtola ve ark. (31) da İSDK'larda duktus bazal membranı ile ilişkili yapılarda vascular endothelial growth factor receptor-3 (VEGF-3)'ün belirgin olduğunu ve tümör hücrelerinde de VEGF-C ile boyanma olduğunu saptamışlardır.

Guidi ve ark. (23) da, PDA ile histolojik tipler ve c-erbB-2 aşırı ekspresyonu ve proliferatif indeks arasında korelasyon saptamışlardır. Çalışmamızda da c-erbB-2 ile anjiyogenez arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Kullanılan iki derecelendirme yöntemi arasında yüksek grade'li vakalarda bir değişme olmamıştır. Ancak EUWG-BSP'nin nükleer grade'e dayanan sisteminde, Tavassoli'nin önerdiği sisteme kıyasla bazı düşük grade vakaların intermedyer grupta yoğunlaştığı izlenmiştir. Ancak her iki sistemde de düşük- intermedyer grade vakalar tek bir grup, yüksek

grade vakalar ikinci bir grup olarak ele alındığında incelenen parametrelerde iki sistem arasında bir farklılık görülmedi.

Sonuç olarak bulgularımız, yüksek grade'li İSDK'larda ve nonkomedo türlere göre komedokarsinimlerde c-erbB-2 aşırı ekspresyonunun ve küçük tümörlerde büyük tümörlere göre PR pozitifliğinin belirgin olduğunu göstermektedir. Bu bulgular c-erbB-2'nin İSDK'larda prognoza yönelik biyolojik göstergelerden biri olarak kullanılabileceğini göstermektedir. PDA'nın düşük olduğu tümörler daha küçük boyutlu olmakla birlikte, istatistiksel anlamlılık saptanmamıştır. Ancak tümör boyutu ile PDA ilişkisinin daha geniş vaka serileriyle araştırılmaya değer olduğu görüşündeyiz.

KAYNAKLAR

1. Tavassoli FA: Ductal Intraepithelial neoplasia: Pathology of the Breast, 2nd ed., Appleton and Lange, Stamford, Connecticut, 1999, s 205-324.
2. Ellis IO, Elston CW, Poller DN: Ductal carcinoma in situ: In Systemic Pathology Volume 13, The Breast. Ed CW Elston, IO Ellis, Churchill-Livingstone, Edinburgh, 1998; 249-281.
3. Silverstein MJ, Lagios MD, Craig PH, Waisman JR ve ark.: A prognostic index for ductal carcinoma in situ of the breast. Cancer 1996; 77: 2267-2274.
4. Bellamy COC, McDonald C, Salter DM, Chetty U, Anderson TJ: Noninvasive ductal carcinoma of the breast: The relevance of histologic categorization. Hum Pathol 1993; 24: 16-23.
5. Patchefsky AS, Schwartz G, Finkelstein SD, Prestipino A, Sohn SE, Singer JS, Feig SA: Heterogeneity of intraductal carcinoma of the breast. Cancer 1989; 63: 731-741.
6. Lagios MD: Heterogeneity of duct carcinoma in situ (DCIS): Relationship of grade and subtype analysis to local recurrence and risk of invasive transformation. Cancer Lett 1995; 90:97-102.
7. Holland R, Peterse JL, Millis RR, Eusebi V ve ark.: Ductal carcinoma in situ: A proposal for a new classification: Semin Diagn Pathol 1994; 11: 167-180.
8. Silverstein MJ, Poller DN, Waisman JR ve ark: Prognostic classification of breast ductal carcinoma in situ. Lancet 1995; 345: 1145-1157.
9. Schechter AL, Stern DF, Vaidyanathan L, Decker SJ ve ark.: The neu oncogene: An erb-B-related gene encoding a 185.000-MW tumour antigen. Nature 1984; 312: 513-516.
10. Coussens L, Yang-Fen TL, Liao YC, Chen E ve ark.: Tyrosine kinase receptor with extensive homology of EGF receptor shares chromosomal location with neu oncogene. Science 1985; 230: 1132-1139.
11. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ ve ark.: Human breast cancer: Correlation of relaps and survival with amplification of the Her-2/ neu oncogene. Science 1987; 235: 177-183.
12. Varley JM, Swallow JE, Brammer WJ, Whittake JL ve ark.: Alterations to either c-erbB-2 (neu) or c-myc proto-oncogenes in breast carcinomas correlate with poor short term prognosis. Oncogene 1987; 1: 423-430.
13. Zhou DJ, Ahuja H, Cline MJ. Proto-oncogene abnormalities in human breast cancer: c-erbB-2 amplification does not correlate with recurrence of disease. Oncogene 1989; 4: 105-108.
14. Vijver MJ, Peterse JL, Moor WJ, Wisman P ve ark.: Neu-protein overexpression in breast cancer. N Engl J Med 1988; 319: 1239-1245.
15. Bartkova J, Barnes DM, Millis RR, Gullick WJ: Immunohistochemical demonstration of c-erbB-2 protein in mammary ductal carcinoma in situ. Hum Pathol 1990; 21: 1164-1167.
16. Bacus SS, Ruby SG, Weinberg DS, Chin D ve ark.: Her-2/neu oncogene expression and proliferation in breast cancers. Am J Pathol 1990; 137: 103-111.
17. Schimmelpenninck H, Eriksson E, Pallis L, Skoog L ve ark.: Immunohistochemical c-erbB-2 proto-oncogene expression and nuclear DNA content in human mammary carcinoma in situ. Am J Clin Pathol 1992; 97 (Suppl 1): S48-S52.
18. Poller DN, Roberts EC, Bell JA, Elston CW ve ark.: p53 protein expression in mammary ductal carcinoma in situ: Relationship to immunohistochemical expression of estrogen receptor and c-erbB-2 protein. Hum Pathol 1993; 24: 463-468.
19. De Potter CR, Schelfhout A, Verbeeck P, Lakhani SR ve ark. Neu overexpression correlates with extent of disease in large cell ductal carcinoma in situ of the breast. Hum Pathol 1995; 26: 601-606.
20. Leal CB, Schmitt FC, Bento MJ, Maia NC ve ark.: Ductal carcinoma in situ of the breast. Histologic categorization and its relationship to ploidy and immunohistochemical expression of hormone receptors, p53, and c-erbB-2 protein. Cancer 1995; 75: 2123-2131.
21. Weidner N, Semple J, Welch W, Folkman J: Tumor angiogenesis and metastasis- Correlation in invasive breast carcinoma. N Engl J Med 1991; 324: 1-8.
22. Toi M, Kashitani J, Tominaga T: Tumor angiogenesis is an independent prognostic indicator in primary breast carcinoma. Int J Cancer 1999; 55: 371-374.
23. Guidi AJ, Fischer L, Harris JR, Schnitt SJ: Microvessel density and distribution in ductal carcinoma in situ of the breast. J Natl Cancer Inst 1994; 86: 614-619.
24. Bose S, Lesser ML, Norton L, Rosen PP: Immunophenotype of intraductal carcinoma. Arch Pathol Lab Med 1996; 120: 81-85.

30. Guidi A, Schnitt SJ, Fischer L, Tognazzi K: Vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) expression and angiogenesis in patients with ductal carcinoma in situ of the breast. *Cancer* 1997; 1945-1953.
31. Valtola R, Salven P, Heikkilä P, Taipale J: VEGFR-3 and its ligand VEGF-C are associated with angiogenesis in breast cancer. *Am J Pathol* 1999; 154: 1381-1390.
32. Lee A, Dublin EA, Bobrow LG: Angiogenesis and expression of thymidine phosphorylase by inflammatory and carcinoma cells in ductal carcinoma in situ of the breast. *J Pathol* 1999; 187: 285-290.
33. Engels K, Fox SB, Whitehouse RM, Gatter KC: Up regulation of thymidine phosphorylase expression is associated with a discrete pattern of angiogenesis in ductal carcinoma in situ of the breast. *J Pathol* 1997; 182: 414-420.