

İN SITU VE İNVAZİV MEME KANSERLERİNDE C-erbB-2'NİN DİĞER PROGNOSTİK PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ

Dr. Nagehan ÖZDEMİR BARIŞIK, Dr. Nilüfer ONAK KANDEMİR, Dr. Aylin EGE GÜL, Dr. Sibel ŞENSU,
Dr. Dilek YAVUZER, Dr. Nimet KARADAYI

ÖZET: Bu çalışmanın amacı meme kanserlerinde c-erbB-2'nin diğer prognostik parametrelerle ilişkisini incelemektir. İn situ ve invaziv duktal karsinom komponenti içeren 46 mastektomi piyesinden hazırlanan parafin bloklara immünohistokimyasal olarak c-erbB-2 uygulandı. Histolojik grade, nekroz, lenfositik infiltrasyon, stromal elastozis ve vasküler invazyon ile ilişkisi incelendi. İn situ veya invaziv komponentli yüksek grade'li tümörlerin düşük grade'li tümörlerden daha fazla c-erbB-2 ekspresyonu gösterdiği saptandı ($p<0.01$, $p<0.05$). İnvaziv alandaki stromal elastozis ile c-erbB-2 arasında anlamlı bir ilişki tespit edildi ($p<0.038$). Lenfositik infiltrasyon, nekroz, vasküler invazyon ve c-erbB-2 ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı. Sonuçlar meme kanserlerinin biyolojik davranışını belirlemede c-erbB-2 ekspresyonunun değerli bir prognostik parametre olabileceğini göstermiştir.

ANAHTAR KELİMELEER: İn situ karsinom, invaziv duktal karsinom, c-erbB-2

SUMMARY: c-erbB-2 OVEREXPRESSION IN IN SITU AND INVASIVE BREAST CARCINOMA AND ITS RELATIONSHIP TO OTHER PROGNOSTIC PARAMETERS.

The purpose of this study was to investigate c-erbB-2 oncoprotein expression in female breast carcinoma and to compare it with other prognostic parameters. The expression of c-erbB-2 oncoprotein was studied immunohistochemically in paraffin embedded biopsy specimens of 46 invasive ductal carcinoma with in situ component and was analysed in relation to histological grade, necrosis, lymphocytic infiltration, stromal elastosis and vascular invasion. High grade tumors with invasive or in situ component showed higher c-erbB-2 expression than low grade tumors. The c-erbB-2 protein was also related to the stromal elastosis in invasive areas. A significant association between c-erbB-2 expression and lymphocytic infiltration, necrosis, vascular invasion was not determined. The results suggest that c-erbB-2 expression can be used as a valuable prognostic parameter in predicting the biological behavior of female breast carcinoma.

KEY WORDS: İn situ carcinoma, invasive ductal carcinoma, c-erbB-2

GİRİŞ

Meme karsinomu kadınlarda en sık görülen kanser tipidir. Tüm meme karsinomlarının 2/3'ten fazlasını oluşturan duktal meme kanserleri klinik, histolojik ve biyolojik özelliklerine göre in situ ve invaziv karsinomlar olarak ayrılır (1,2,3). İn situ karsinomlar nükleer atipi ve nekroz varlığı dikkate alınarak düşük, intermediate ve yüksek grade olarak gruplandırılır (1). Meme karsinomlarının prognozu histolojik immünohistokimyasal, biyolojik ve moleküler markerlerle ilişkilidir. Bu parametreler arasında grade, stage, lenfosit infiltrasyonu, nekroz ve elastozis yer alır. c-erbB-2 protoonkogeni 190 Kd ağırlığında olup, epidermal growth faktörün yapısına benzer transmembran bir glikoproteindir (2,4). c-erbB-2 protoonkogeninin karsinom hücrelerinin diferansiyasyonunda ve büyümenin düzenlenmesinde temel rol oynadığı belirtilmiştir (5). Bu genin bazı insan adenokarsinomlarında amplifikasyonu saptanmış olup, meme karsinomlarının %30'undan fazlasında gösterilmiştir. Protoonkogen amplifikasyonu c-erbB-2'ye ait mRNA ve proteinin overekspresyonu sonucunda gerçekleşir. Bu bulgu, c-erbB-2 protein antikoru kullanılarak kuvvetli membran boyanması olarak gösterilir (6). Bu çalışmada kadınlardaki in situ ve invaziv duktal meme karsinomlarında c-erbB-2 onkoprotein ekspresyonu ile diğer prognostik parametreler arasındaki ilişki incelendi.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya meme karsinomu tanısıyla yapılan 80 adet mastektomi piyesinden in situ karsinomun eşlik ettiği 46 invaziv duktal karsinom olgusu alındı.

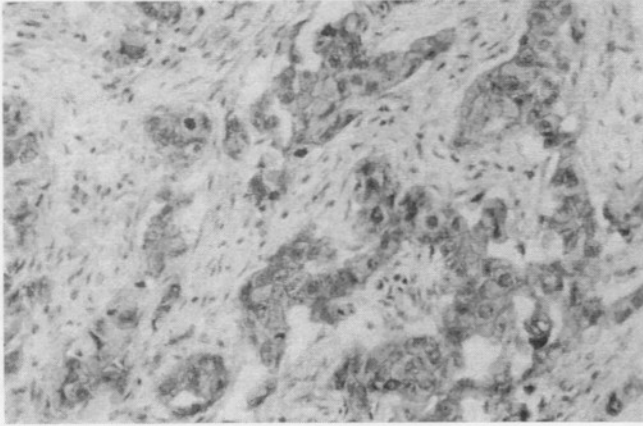
Tümöre ait invaziv duktal karsinom (NOS) komponenti Elston'un Bloom Richardson modifikasyonuna göre grade I

(düşük grade), grade II (intermediate grade) ve grade III (yüksek grade) olarak değerlendirildi (2). İn situ duktal karsinom komponenti ise nükleer atipi ve nekroz varlığına göre düşük, intermediate ve yüksek grade olmak üzere üç gruba ayrıldı (7). İnvaziv duktal karsinom (NOS) olguları nekroz varlığı ve derecesine göre negatif (-), pozitif (+), iki pozitif (++) ve üç pozitif (+++) olarak değerlendirildi (6). İn situ duktal karsinomlarda nekrozun varlığı ve derecesi ise Poller ve arkadaşlarının önerdiği gibi negatif (-), bir pozitif (+) ve iki pozitif (++) olarak gruplandırıldı (8). İnvaziv duktal karsinomlarda (NOS) lenfosit yoğunluğu pozitif (+), iki pozitif (++) ve üç pozitif (+++) olarak değerlendirildi.

Perivasküler ve stromal elastozis varlığı elastica van Gieson boyası ile boyanma miktarına göre pozitif (+), iki pozitif (++) ve üç pozitif (+++) olarak değerlendirildi.

İmmünohistokimya

Poly-L-Lysine ile kaplanmış lamlara 5 mikronluk kesitler alındı. Gece boyunca oda sıcaklığında bırakılan kesitler 60 derece sıcaklığındaki etüvde 75 dakika bekletildi. Deparafinizasyon amacıyla üç kez 5'er dakika ksilden ve iki kez 10'ar dakika %96'lık alkolden geçirildi. Rehidratasyon için 1 dakika distile suda bekletildi. 1/10 oranında distile suyla sulandırılan antijen retrieval solusyonu önce 5 dakika mikrodalgada ısıtıldı. Daha sonra bu solusyona alınan kesitler üç kez 5'er dakika arayla mikrodalgada ısıtıldı ve soğutmaya bırakıldı (9). Soğutma işlemi sonunda iki kez phosphate buffered saline (PBS) den geçirilen kesitler nemli ortama alındı; 20 dakika keçi serumu ile inkübe edildi (10). c-erbB-2 onkoprotein monoklonal antikoru uygulandı (Biogenex, San Ramon CA). LSAB alkalen fosfataz yöntemi ile rutin boyama işlemi tamamlandı (11). c-erbB-2 pozitif olduğu bilinen meme karsinomu pozitif kontrol olarak kullanıldı. İn situ ve invaziv duktal karsinomlar c-erbB-2 boyanma yoğunluğuna göre boyanma göstermeyen hafif ya da zayıf orta derecede ve kuvvetli membran boyanması gösteren olgular olarak gruplandırıldı (6,12). Ayrıca membran boyanması gösteren tümör hücrelerinin miktarına göre %0-5, %6-25, %26-50, %51-75



Resim 1: İnvaziv duktal karsinomda yoğun ve yaygın membranöz boyanma (c-erbB-2 x400).

ve %76-100 olmak üzere gruplara ayrıldı (Resim 1, 2). Sonuçların değerlendirilmesinde Spearman Rank korelasyon testi kullanıldı.

BULGULAR

Kırkaltı invaziv duktal karsinom olgusunda histolojik grade ile c-erbB-2 membran boyanma yoğunluğu ve yaygınlığı dağılımı Tablo 1'de gösterilmektedir.

İnvaziv duktal karsinomlarda (NOS) histolojik grade ve membran boyanması arasında anlamlı ilişki saptandı ($p < 0.05$).

Kırkaltı in situ duktal karsinomda grade ve c-erbB-2 boyanma yoğunluğu ve yaygınlığının dağılımı Tablo 2'de gösterilmektedir.

In situ duktal karsinomlarda da histolojik grade ve c-erbB-2 boyanması arasında anlamlı ilişki saptandı ($p < 0.01$).

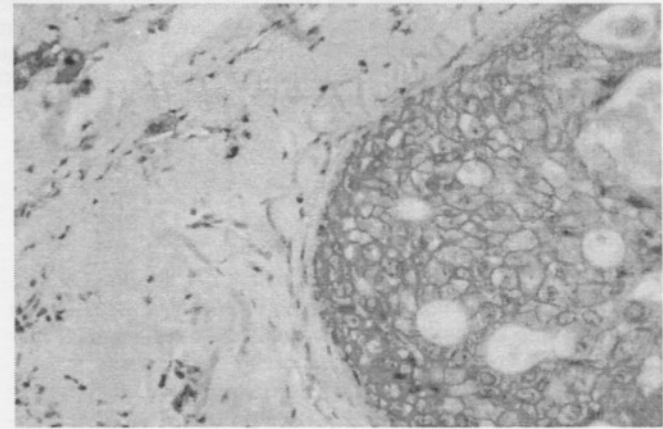
Kırkaltı in situ ve invaziv duktal karsinomda nekroz ve lenfosit infiltrasyonu ile c-erbB-2 boyanması arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p > 0.05$).

İnvaziv duktal karsinomlardaki elastoz miktarı ile c-erbB-2 membran boyanması arasında anlamlı ilişki saptandı ($p < 0.038$).

TARTIŞMA

c-erbB-2 onkogeni ile invaziv meme kanserleri arasındaki ilişkiyi inceleyen çok sayıda çalışma mevcuttur (6,10,12).

Lovekin ve arkadaşları, 602 operabl meme karsinomu olgusunda histolojik grade ile c-erbB-2 ekspresyonu arasında pozitif bir ilişki saptamıştır (13). Leal ve arkadaşları, in situ duktal karsinomlarda tümörün morfolojik ve biyolojik davranışındaki farklılığı ortaya koymak için histolojik tip ile grade'in yanı sıra, DNA ploidi ve c-erbB-2 ekspresyonundan yararlan-



Resim 2: İn situ duktal karsinomlarda yoğun ve yaygın membranöz boyanma (c-erbB-2 x400)

TABLO 1: İNVAZİV DUKTAL KARSİNOMLARDA c-erbB-2 BOYANMA YOĞUNLUĞU VE YAYGINLIĞI İLE HİSTOLOJİK GRADE ARASINDAKİ İLİŞKİ

	c-erbB-2										
	Boyanma yaygınlığı (%)						Boyanma yoğunluğu				
	0-5	6-25	26-50	51-75	76-100	Toplam	Yok	Hafif	Orta	Kuvvetli	Toplam
Grade I	4	-	-	7	4	15	2	2	8	3	15
Grade II	-	1	2	5	16	24	-	1	14	9	24
Grade III	-	-	1	1	5	7	-	1	1	5	7
Toplam	4	1	3	13	25	46	2	4	23	17	46

TABLO 2: İN SİTU DUKTAL KARSİNOMLARDA c-erbB-2 BOYANMA YOĞUNLUĞU VE YAYGINLIĞI İLE HİSTOLOJİK GRADE ARASINDAKİ İLİŞKİ

	c-erbB-2										
	Boyanma yaygınlığı (%)						Boyanma yoğunluğu				
	0-5	6-25	26-50	51-75	76-100	Toplam	Negatif	Hafif	Orta	Kuvvetli	Toplam
Düşük Grade	3	-	2	1	1	7	1	3	2	1	7
Intermediate Grade	1	3	4	4	14	26	-	3	15	8	26
Yüksek Grade	-	1	2	1	9	13	-	2	5	6	13
Toplam	4	4	8	6	24	46	1	8	22	15	46

mak gerektiğini bildirmişlerdir (7). Çalışmamızda in situ ve invaziv duktal karsinomların grade'i ile c-erbB-2 proteininin hem yoğunluğu hem de yaygınlığı arasında pozitif korelasyon saptanmış olup, c-erbB-2 ekspresyonu yüksek grade'li tümörlerde düşük grade'li tümörlerden daha yüksek bulundu ($p<0.01$, $p<0.05$).

İn situ ve invaziv duktal karsinomlarda prognostik faktörlerden biri de stromal ve periduktal lenfositik infiltrasyondur. Sitotoksik supressör tipte T lenfositlerinden oluşan bu infiltrasyonun kötü prognoz ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (1,4). İnvaziv duktal karsinomlarda diğer bir prognostik parametre nekroz varlığı ve miktarıdır. Grade arttıkça nekrozun da arttığı bildirilmektedir (4). Çalışmamızda in situ ve invaziv duktal karsinomlarda c-erbB-2 yoğunluğu ve yaygınlığı ile nekroz arasında anlamlı ilişki saptanmadı. Ayrıca in situ ve invaziv duktal karsinomlardaki periduktal ve stromal lenfositik infiltrasyon ile c-erbB-2 yoğunluğu ve yaygınlığı arasında da bir ilişki saptanmadı. İnvaziv duktal karsinomlarda elastoz varlığında artış olabilmektedir. Ancak elastozun önemi tam olarak açıklanmamıştır (1,4). Çalışmamızda invaziv duktal karsinomlardaki stromal elastoz ve c-erbB-2 ekspresyonu arasındaki ilişki incelendi ve hafif derecede pozitif korelasyon saptandı ($p<0.038$).

Yüksek grade'li in situ ve invaziv duktal karsinomlar düşük grade'li karsinomlardan daha fazla c-erbB-2 ekspresyonu göstermektedir. İnvaziv duktal karsinomlardaki stromal elastozis ile c-erbB-2 onkoprotein ekspresyonu arasında da pozitif korelasyon saptanmıştır. Lenfositik infiltrasyon, nekroz ve vasküler invazyon ile c-erbB-2 arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Sonuçlar, kadınlardaki meme karsinomunun biyolojik davranışını belirlemede c-erbB-2 onkoprotein

ekspresyonunun faydalı bir prognostik parametre olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

KAYNAKLAR

1. Tavassoli FA, eds. Pathology of the Breast, Chapter 2. First ed. Connecticut: Appleton and Lange, 1992; pp: 25-62.
2. Tavassoli FA, eds. Pathology of the Breast, Chapter 9. First ed. Connecticut: Appleton and Lange, 1992; pp: 293-347.
3. Sharkey FS, Allred DC, Valente Ph T: Breast, Chapter 70. In: Anderson's Pathology. eds. Damjanov J, Linder J, Mosby-Year Book, St. Louis, 1996. Tenth ed. pp: 2354-2385.
4. Rosai J: Breast. In Ackerman's Surgical Pathology. ed. Rosai J, St. Louis Mosby, 1996, 8th ed. pp: 1565-1660.
5. Kalogeraki A, Tzardi M, Datsis G, et al: c-erbB-2 expression in patients with breast carcinoma in comparison to patients with benign breast diseases. *Anticancer Res* 1996; 16: 765-77.
6. Somerville JE, Clarke LA, Biggart JD: c-erbB-2 overexpression and histological type of insitu and invasive breast carcinoma. *J Clin Pathol* 1992; 45: 16-20.
7. Leal BC, Schmitt FC, Bento MJ et al: Ductal carcinoma insitu of the breast. *Cancer* 1995; 75: 2123-2131.
8. Pater DN, Snead DRJ, Roberts EC et al: Oestrogen receptor expression in ductal carcinoma insitu of the breast: relationship to flow cytometric analysis of DNA and expression of the c-erbB-2 oncoprotein. *Br J Cancer* 1993; 68: 156-161.
9. Marinho A, Soares R, Ferro J, et al: Angiogenesis in breast cancer is related to age but not to other prognostic parameters. *Pathol Res Pract* 1997; 193: 267-273.
10. Van de Vijver MJ, Peterse JL, Mool WJ, et al: Neu protein overexpression in breast cancer. *N Eng J Med* 1988; 319: 1239-1245.
11. Albonico G, Querzoli P, Ferretti S, et al: Biophenotypes of the breast carcinoma insitu defined by image analysis of biological parameters. *Pathol Res Pract* 1996; 192: 117-123.
12. Tervahauta A, Eskelinen M, Syrjänen S et al: Immunohistochemical demonstration of c-erbB-2 oncoprotein expression in female breast cancer and its prognostic significance. *Anticancer Res* 1991; 11: 1667-1682.
13. Lovekin C, Ellis IO, Locker A, et al: c-erbB-2 oncoprotein expression in primary and advanced breast cancer. *Br J Cancer* 1991; 63: 439-443.