



**T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**İNVAZİV DUKTAL KARSİNOMA OLGULARINDA
HİSTOPATOLOJİK PARAMETRELER VE PROGNOSTİK FAKTÖRLER
İLE NÜKLEER MORFOMETRİK PARAMETRELERİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Gülşah İNAL

UZMANLIK TEZİ

BURSA 2005



**T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**İNVAZİV DUKTAL KARSİNOMA OLGULARINDA
HİSTOPATOLOJİK PARAMETRELER VE PROGNOSTİK FAKTÖRLER
İLE NÜKLEER MORFOMETRİK PARAMETRELERİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Gülşah İNAL

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof.Dr.Şahsine TOLUNAY

BURSA 2005

İÇİNDEKİLER

BÖLÜM	SAYFA
ÖZET.....	ii
SUMMARY.....	iv
GİRİŞ.....	1
GEREÇ VE YÖNTEM.....	23
BULGULAR.....	30
TARTIŞMA VE SONUÇ.....	40
KAYNAKLAR.....	50
TEŞEKKÜR.....	62
ÖZGEÇMİŞ.....	63

ÖZET

AMAÇ: İnvaziv duktal karsinoma olgularında histopatolojik parametreler ve prognostik faktörler ile tanı koyma ve prognozun belirlenmesinde objektif ve tekrarlanabilir oldukları çeşitli çalışmalarda gösterilmiş olan nükleer morfometrik parametrelerin karşılaştırılmasıdır.

GEREÇ VE YÖNTEM: 1997-2004 yılları arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Meme Cerrahisi Bilim Dalı tarafından invaziv duktal karsinoma nedeniyle modifiye radikal mastektomi ve aksiller lenf nodu diseksiyonu uygulanmış 75 kadın hasta çalışma kapsamına alındı. Olgulara ait Hematoksilen-Eozin (H&E) boyalı preparatlar patolojik parametreler açısından ışık mikroskobu altında incelendi. Olgular histolojik grade'e, Modifiye Bloom-Richardson yönteminde kullanılan parametreler için aldıkları puanlara, tümör çapına, lenf nodu metastazı ve nekroz bulunup bulunmadığına göre gruplandırıldı. Morfometrik çalışmada Scion Image Yazılım programı kullanılarak her bir olgu için rastgele seçilmiş 50 hücre işaretlendi. Program tarafından otomatik olarak nükleer alan ve nükleer çevre değerleri belirlendikten sonra bu ölçüm değerlerinin kullanıldığı formüllere göre şekil faktörü ve nükleer yuvarlaklık ölçütleri hesaplandı. Değişkenlerin normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro-Wilk Testi ile test edildi. Normal dağılım gösteren değişkenler için iki grup karşılaştırmasında t-testi, üç ve daha fazla grup karşılaştırmasında tek yönlü varyans analizi kullanıldı. Tek yönlü varyans analizinde farklılık olması durumunda gruplar arasındaki farklılık Bon-ferroni Çoklu Karşılaştırma Testi ile incelendi. Normal dağılım göstermeyen değişkenlerde iki grup karşılaştırması için Mann-Whitney U Testi, üç ve daha fazla grup karşılaştırması için Kruskal Wallis Testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Pearson Ki-Kare Testi kullanıldı.

BULGULAR: Olguların histolojik ve nükleer grade'leri ile bütün morfometrik parametreler arasında anlamlı bir ilişki tespit edildi. İkili karşılaştırmalarda ise grade-1 ve grade-2 ile grade-1 ve grade-3 olgular arasında, yine mitoz sayısına göre 1 ve 2 puan alan olgular ile 2 ve 3 puan alan olgular arasında bütün morfometrik parametreler açısından anlamlı farklılık saptandı. Histolojik ve nükleer grade'e göre grade-2 ve grade-3 olgular arasında ise sadece nükleer alan ve çevre açısından anlamlı farklılık olduğu tespit edildi. Histolojik grade, nükleer grade ve mitoz sayısı arttıkça nükleer alan ve çevre değerlerinde de artış olduğu dikkati çekti. Tübül formasyonuna göre 2 ve 3 puan alan olgular arasında sadece nükleer alan açısından anlamlı farklılık saptandı. Lenf nodu metastazı olmayan olgulara göre, metastaz olan olgularda nükleer alan ve çevre değerlerinde hafif artış saptanırken bu parametreler arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki tespit edilmedi.

SONUÇ: Çalışmadaki verilere göre istatistiksel açıdan en güçlü ve anlamlı ilişkinin nükleer morfometrik parametreler ile histolojik ve nükleer grade arasında olduğu tespit edilmiştir. Yine histolojik ve nükleer grade arttıkça nükleer alan ve çevre değerleri de belirgin olarak artmaktadır. Kaynaklardaki bilgiler ile paralel olan bu bulgulara dayanarak morfometrik görüntü analiz yönteminin, invaziv duktal karsinoma olguları için en önemli prognostik faktörlerden biri olan grade'in belirlenmesinde objektif ve tekrarlanabilir bir yöntem olarak kullanılabileceği düşünülmüştür.

ANAHTAR KELİMELER: Meme kanseri, morfometri, görüntü analizi

THE COMPARISON OF NUCLEAR MORPHOMETRIC PARAMETERS WITH HISTOPATHOLOGIC PARAMETERS AND PROGNOSTIC FACTORS IN INVASIVE DUCTAL CARCINOMA

SUMMARY

OBJECTIVE: To compare the nuclear morphometric parameters which are proved to be objective and reproducible in diagnosis and predicting prognosis by many studies with histopathologic parameters and prognostic factors in invasive ductal carcinoma.

MATERIALS AND METHODS: Seventy-five women with invasive ductal carcinoma who had undergone modified radical mastectomy and axillary lymph node dissection at Uludag University Medical School Department of Breast Surgery were included in the study. Haematoxylin-Eosin (H&E) stained slides were reevaluated for the pathological parameters under the light microscope. Cases were grouped according to histological grade, number of points they got from the Modified Bloom-Richardson parameters, tumor dimension, lymph node metastasis, and presence of necrosis. In this morphometric study, randomly selected 50 cells from each case were labeled using Scion Image Analysis software programme. Nuclear area and nuclear perimeter were calculated automatically by the programme, and shape factor and nuclear rounding measures were calculated with formulas using these measured values. Whether the variables showed a normal range or not was tested with Shapiro-wilk test. For variables with a normal distribution rank, t test was used for comparing two groups and one-way variance analysis for comparing three or more groups. If there was difference in one-way variance analysis, difference between the groups were examined by Bon-ferroni multiple comparison test. For variables which did not show a normal distribution, comparison of two groups was done by Mann Whitney U test

and Kruskal Wallis was used for three or more groups. Pearson chi-square test was used for categorical variables.

FINDINGS: A meaningful relationship was found between the histological and nuclear grades and all morphometric parameters. When comparing two variables there was a meaningful difference between cases which got 1 or 2 points and cases which got 2 or 3 points from mitosis; between grade-1 and 2 cases, and grade-1 and 3 cases. There was a meaningful difference, only with respect of nuclear area and perimeter, between histological and nuclear grade-2 and 3 cases. It was noted that nuclear area and perimeter values increased as histological grade, nuclear grade and the number of mitosis increased. Between the cases with 2 points and 3 points from tubuli formation, there was a meaningful relationship only in respect of nuclear area. Although there was a slight increase in nuclear area and perimeter values with metastatic cases compared with nonmetastatic ones, there was no statistically significant relationship between these parameters.

RESULT: According to the data in this study the most statistically powerful and meaningful relationship was found between nuclear morphometric parameters and histological and nuclear grade. Again as the histological and nuclear grade increased, nuclear area and perimeter values also increased prominently. These findings are consistent with the knowledge we got from the literature, it is thought that morphometric image analysis technique can be used in invasive carcinoma of breast for predicting grade which is one of the most important prognostic factors.

KEY WORDS: Breast cancer, morphometry, image analysis

GİRİŞ

Memenin Anatomi ve Histolojisi

Matür meme, büyük ölçüde pektoralis major kası üzerinde, göğüs duvarının uzun ekseni boyunca diagonal olarak yerleşmiştir. Pektoral fasyanın bulunduğu derin yüzey dışında memenin periferal anatomik sınırları kesin olarak belli değildir. Süperiorde serratus anterior kasının üst kısımlarına uzanır. İnferiorde eksternal oblik kas ve superior rektus kası kılıfı üzerinde bulunur. Anatomik olarak meme, süperfisiyal fasya içindeki alanda uzanır. Glandüler parankimin mikroskobik uzanımları bazen bu sınırları geçebilir (1).

Matür erişkin kadın memesi 15-20 tane segment ya da lobdan meydana gelmiştir. Operasyon sırasında, rezeke edilmiş meme dokusunun makroskobik incelemesinde ve histolojik kesitlerde her bir lobun boyutunun saptanmasını sağlayacak belirgin sınırlar yoktur (1). Her bir lob kollektin (laktiferöz) duktus tarafından direne edilir. Kollektin duktuslar meme başında bir noktaya yönelerek meme başına açılırlar. 13-15 yaşları arasında duktuslar uzar ve dallanmaya başlar (2). Duktus sisteminin farklı parçaları, lezyonların yerinin belirtilmesine yardımcı olmak amacıyla spesifik olarak isimlendirilmiştir. Örneğin; lobülü oluşturan asinilerle birlikte terminal duktusun küçük parçası için terminal dukt/lobüler ünit terimi kullanılmaktadır (3).

Fonksiyonel glandüler ve duktal elemanlar büyük oranda fibrolipomatöz doku içine gömülü şekilde bulunur. Yağ ve kollajenöz stromanın oranı, kişiler arasında ve yaşla birlikte değişkenlik gösterir. Stromal ve epitelyal komponentlerin kombinasyonu, normal ve patolojik durumlarda memenin radyografik görünümünden sorumludur (1).

Duktus sistemi memenin fonksiyonel komponentini oluşturur. Kollektin duktusun meme başı ağzındaki, skuamöz epitel ile döşeli olan küçük parçası dışında bütün duktus sistemi iki hücre tabakası ile döşelidir: lüminal yüzey boyunca uzanan içteki epitelyal hücre tabakası ve dıştaki myoepitelyal hücre tabakası. Bu iki hücre tabakası bazal lamina tarafından çevrelenmiştir. Duktusun çapına bağlı olarak bir ya da çok sayıda fibroblast tarafından kuşatılmış bu yapıların hepsi memenin ünit yapısını oluşturur. Hücre tabakalarının sayısındaki herhangi bir değişiklik patolojik durumlara neden olabilir (4).

Meme Kanseri

Meme kanseri dünyada kadınlar arasında en sık görülen malign tümör olup, kadınlarda görülen tüm kanserlerin yaklaşık %30'unu oluşturmaktadır. Avrupa'da yılda 180 bin, Amerika'da yılda 184 bin yeni olgu saptanmaktadır (5-6). 1948-1985 yılları arasında kadınlarda kanser nedeniyle oluşan ölümlerin %80'i meme kanserine bağlı iken, 1985'ten itibaren akciğer kanseri, kansere bağlı ölüm nedenleri sıralamasında meme kanserini geçmiştir (7). Meme kanseri görülme sıklığında olduğu gibi yıllık mortalite oranında da 1973 yılından itibaren bir artış görülmektedir. Bu artış meme kanserinin görülme sıklığında olduğu kadar belirgin değildir (8). Takip, Epidemiyoloji ve Sonuç Programı (ABD) verilerine göre (6), ABD'de 1980'den 1989'a kadar meme kanseri sıklığında (100.000'de 85'den 100.000'de 105'e) ve 5 yıllık genel sağkalım değerlerinde bir artış saptanırken, mortalitede herhangi bir değişiklik bulunmamıştır.

Meme kanseri 30 yaşından önce nadir olup, bu yaşı takip eden reproduktif yıllarda hızlı bir tırmanış gösterir. Menapoz dönemindeki hafif azalmayı takiben menopoz sonrası yıllarda yavaş eğilimle sürekli devam eden bir artış ortaya çıkar (9).

İnsanlarda meme kanserinin nedeni bilinmemektedir. Genetik, çevresel, hormonal, sosyobiolojik ve psikolojik etkenlerin rol aldığı kabul edilmekle birlikte, meme kanserli kadınların %70-80'i bu risk faktörlerine sahip değildir. Hayvanlarda ise bazı kimyasal maddeler, iyonizan radyasyon ve virüsler kanser oluşumuna neden olurlar. Tüm bu ajanların mutasyonlara neden olabileceği ve kromozomal mutasyonların da insanda kanser ortaya çıkışı ve gelişimi ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir (10).

Epidemiyolojik çalışmalar meme kanserinin son derece heterojen bir hastalık olduğunu göstermiştir. En açık risk faktörleri cinsiyet (kadın cinsiyet) ve yaştır (50 yaş üstü). 50 yaşın üzerinde saptanan meme kanserlerinin %75'inde başka bir risk faktörü gösterilememiştir. Hastaların %25'inde gösterilebilen risk faktörleri yüksek, orta ve az şeklinde 3 gruba ayrılabilir. Kadın cinsiyeti, 50 yaşın üstünde olmak, Kuzey Amerikalı ve Kuzey Avrupalı olmak, meme kanseri anamnezinin bulunması, aile hikayesi (bilateral, premenapozal), ailesel kanser sendromu bulunması ve atipik proliferatif benign meme hastalığı yüksek risk faktörlerini oluşturmaktadır (11).

Dupont ve Page tarafından yapılan çalışmada 3303 hastadan 10.000'den fazla biyopsi alınmıştır. Hastalar 17 yıl takip edilmiş ve çeşitli benign histopatolojik değişiklikler ile meme kanseri arasındaki ilişki araştırılmıştır. Meme biyopsisinde proliferatif değişikliklere (sklerozis, adenozis, papilloma) sahip olan ve grubun %51'ini oluşturan kadınlarda meme kanseri riskinin, proliferatif değişikliği bulunmayan kadınlardan 1.9 kat fazla olduğu hesaplanmıştır. Atipik hiperplazi saptanan kadınlarda meme kanseri oluşma riski 4.4 kat fazladır. Riskin en yüksek olduğu grup ise hem atipik hiperplazisi hem de aile hikayesi olanlardır. Bu gruptaki kadınlarda 25 yıl boyunca %40 olasılıkla meme kanseri oluşmakta ve bunların 1/3'ünden azı hastalık nedeniyle kaybedilmektedir (12).

1986 yılında Amerika Patologlar Derneği memenin benign lezyonları ile meme kanseri ilişkisini gösteren bir sınıflama yapmıştır. Hastaların %25'inde gösterilebilen risk faktörleri yüksek, orta ve az risk gruplarına ayrılmıştır. Buna göre hafif/orta hiperplazide risk artışı saptanmazken intraduktal karsinoma, atipik duktal hiperplazi ve aile öyküsü birlikteliği ile lobüler karsinoma in situ yüksek risk grubunu oluşturmaktadır (13).

Primer meme kanseri, bir veya birden fazla hücrenin normal proliferasyon ve diferansiasyon özelliğini kaybetmesi ile başlar. Bir süre duktus veya lobüllerin bazal membranını aşamayan bu çoğalma, zamanla bazal membranı geçerek çevre dokuya invaziv karakter kazanır. Bu olaylar erken veya geç, yani tümör gelişiminin her kademesinde olabilir. Bu nedenle meme kanseri kliniği de çok geniş bir yelpazede heterojenlik gösterir. Böylece bazı hastaların tümörleri uzun yıllar lokalize kalırken, bazı hastalarda çok erken evrede dahi uzak metastazlar görülür (11).

Prognostik Faktörler

Meme kanserli hastaya yaklaşımda en büyük umut, hastanın taşıdığı risk faktörlerini önceden belirleyebilmek ve en uygun tedavi modalitesini seçebilmektir. Lokal veya uzak nüks olasılıklarının belirlenmesi, etkili kemoterapotik ve hormonal tedavi seçeneklerinin ilk aşamada verilmesi önemlidir. Meme kanserindeki önemli prognostik faktörler Tablo-1'de (14) gösterilmiştir.

Tablo-1 Meme kanserinde prognostik faktörler (14)		
Tümöre ait	Hastaya ait	Tedaviye ait
<ul style="list-style-type: none"> • Tümör büyüklüğü • Aksiller lenf nodülü tutulumu • Histolojik tip • Tümör grade'i • Mitotik indeks • Lenfovasküler invazyon • Östrojen reseptörü(ER),Progesteron reseptörü (PR) içeriği • Her-2/neu • (p53, bcl-2) • (BRCA-1, BRCA-2) 	<ul style="list-style-type: none"> • Yaş • Menapozal durum • Birlikte olan hastalıklar • Tedavi tercihi 	<ul style="list-style-type: none"> • Zamanlama • Süre • Kullanılan ilaçlar • Uygulanan şemalar • Kemoterapinin endokrin etkileri • Cerrahi tedavi şekli • Farklı tedavi etkileşimleri

Meme kanseri tedavisinde kullanılan standart prognostik faktörler şunlardır:

1) Histopatolojik tip: En sık rastlanılan meme kanseri tipleri invaziv duktal ve invaziv lobuler karsinomlardır. Eğer birden fazla hücre tipi birarada görülür ise prognoz en malign olana göre belirlenir (4). İnvaziv duktal karsinomlu hastalarda aksiller lenf nodülü tutulumu daha sık ve buna bağlı olarak klinik gidiş daha kötüdür. Enflamatuvar histoloji ise hem lokal hem de uzak metastazı belirleyen kötü bir prognostik göstergedir. Hastalık erken evrede bile olsa, indüksiyon kemoterapisi ve radyoterapi total mastektomiye eklenmelidir (15).

2) Aksiller lenf nodu tutulumu: Aksiller lenf nodlarında metastatik tutulum primer meme kanserli hastalarda bilinen en güçlü prognostik faktördür. Birçok klinik çalışmada hastalar nod (-), 1-3 nod (+) ve >4 nod (+) olarak gruplanmakla birlikte, tutulan lenf nodu sayısı ile klinik seyir arasında doğrudan ilişki olduğu belirtilmektedir (16).

Metastatik lenf nodu boyutunun 2 mm'den küçük olması gizli metastaz olarak yorumlanmaktadır ve prognozun N0 gibi olduğu kabul edilir. Buna karşılık 2 cm'den büyük tutulmuş lenf nodu olması kötü prognozu gösterir (17).

3) Tümör büyüklüğü: Nod negatif hastalık alt grubunda en güçlü ve tutarlı prognoz belirleyicisi tümör büyüklüğüdür. St Gallen Konsensus Paneli (18) ve ESMO Konsensus Klavuzları'nda (19) tümör çapının 1 cm'nin altında olması, grade-1, ER/PR (+)'liği ve 35 yaş üzerinde olma düşük risk olarak kabul edilirken, tümör çapının ≥ 2 cm olmasının tek başına yüksek risk olduğu bildirilmiştir.

4) Tümör grade'i: Patoloji raporunun standart bir parçası olup meme kanseri açısından prognostik önem taşır. Tümör grade'lemesi ile ilgili en önemli sorun kişiler arası yorum farkıdır. Bazı sistemler sadece nükleer yapıları değerlendirir ve nükleer grade olarak sonuç verir. Bazı sistemler ise nükleer yapıları tümör yapısı ile birleştirerek histolojik grade olarak sonuç verir. En sık kullanılan grade'leme sistemleri Scarff-Bloom-Richardson sınıflaması ve Fisher'in nükleer grade'leme sistemidir. Ancak çoğu zaman bunların da modifiye şekilleri kullanılmaktadır (20,21).

5) Östrojen ve progesteron reseptör durumu: Steroid reseptör durumu, uzun yıllardan beri ileri evre meme kanserinde tedavinin belirlenmesi için kullanılmaktadır. Erken meme kanserinde ER'nün, erken nüks açısından

bağımsız prognostik öneme sahip olduğu, ER (+) hastalarda hastaliksız sağkalımın, ER (-) hastalara göre daha uzun olduğu gösterilmiştir (20).

6) Proliferasyon ölçümleri: Meme kanserinin gelişiminde büyüme fraksiyonu ya da proliferasyon yeteneği önemlidir. Bu özellik hücre siklusunun çeşitli fazlarında yer alan ve tümör hücresinin proliferasyon yeteneğini yansıtabilecek bazı ölçümleri değerlendirmek için yeni teknikler geliştirilmesine yol açmıştır. Histolojik grade'leme sistemlerinin çoğunda mitotik indeks önemli bir yer tutmaktadır. Timidin işaretleme indeksi ve bromodeoksiüridin gibi daha yeni yöntemler taze dokuda çalışılmaktadır (20).

Patolojik Bulgular

Meme kanserinin kesin tanısı histopatolojik inceleme ile konur. Histopatolojik incelemede doku örneği açık biyopsi, tam kat iğne biyopsisi veya ince iğne aspirasyon biyopsisi ile alınır. Meme kanseri olgularında tümörün patolojik tarafından değerlendirilen çeşitli özellikleri prognoz ve tedaviyi belirlemede büyük önem taşır. Bu nedenle patoloji raporlarında tümörün patolojik özelliklerini yansıtan maksimum bilginin verilmesi önemlidir. Tarama mamografileriyle nonpalpable meme karsinomu saptama sıklığındaki artış, koruyucu cerrahi yaklaşımlar, immünohistokimyasal ve moleküler biyolojik tekniklerle ilgili prognostik faktörlerin ortaya çıkışı, patoloğa düşen görevi arttırmaktadır. Prognoz ve tedaviyi belirlemede en önemli faktörlerden biri tümörün histopatolojik tipidir (22).

Meme kanseri en sık memenin terminal dukt/lobüler ünit bölümünden kaynaklanır. Sol memede görülme sıklığı hafif olarak daha fazladır. %40-50 oranında üst dış kadranda yerleşim gösterir (23). Memenin malign tümörlerinin büyük çoğunluğu adenokarsinomalardır ve mikroskopik görünüşlerine göre duktal ve lobuler olarak iki ana grupta incelenir (22).

İnvaziv Duktal Karsinoma

İnvaziv meme kanserlerinin en büyük grubunu oluşturmaktadır. Yayınlanmış serilerde görülme sıklığının %40-75 arasında olduğu bildirilmiştir. Böyle geniş bir dağılımın olması, muhtemelen tanı koyarken kesin kriterlerin olmamasına bağlıdır (23).

Makroskobik incelemede tipik olgularda tümör düzensiz sınırlı, kesit yüzeyi sert, pürüklü nitelikte olup çevre stromaya doğru ince uzantılar oluşturur. Sık olarak ince, sarı tebeşir izi gibi çizgilenmeler görülür. Nekroz ve kanama olabilir. Kistik değişiklikler seyrekdir. Yüzeyde cilt, derinde de fasya ve pektoral kas invazyonu görülebilir. Dermal lenfatiklerin tutulumu cilde karakteristik portakal kabuğu görünümünü verir. Bazen de tümör iyi sınırlı, nodüler şekilli olup kesit yüzeyi lobüler yapıda görülür. Tümör boyutu birkaç milimetre ile çok büyük boyutlar arasında değişkenlik gösterir (22).

Mikroskobik incelemede tümör hücreleri irili ufaklı gruplar, kordonlar, yuvalanmalar ve tek tek ya da küçük topluluklar halinde izlenir. Değişik derecede tübül ya da gland formasyonları bulunabilir. Tümör hücrelerinin şekil ve boyutları da değişkendir. Ancak invaziv lobüler karsinoma hücreleri ile kıyaslandığında daha büyük ve pleomorfiktir, nükleoller daha belirgindir. Tümörün genel görünümü, derecesine paralel olarak değişkenlik gösterir. Olguların yaklaşık %60'ında kalsifikasyon saptanır. Tümör lenf ve kan damarlarında ve perinöral alanda invazyonlar oluşturabilir (22).

İnvaziv duktal karsinomalı hastalar için en önemli prognostik faktörler aksiller lenf nodu durumu, tümör çapı ve histolojik grade'dir (24).

Tümör diferansiasyonunun histolojik olarak grade'lenmesi prognostik öneme sahiptir (25). Meme kanserli hastalarda histolojik grade'in önemli

bağımsız bir prognostik faktör olduğu gösterilmiştir (26). Histolojik grade'leme, invaziv duktal karsinomaların mikroskopik büyüme paternini tanımlamaktadır (27). Günümüzde invaziv meme kanseri için patoloğlar tarafından kullanılan tek evrensel bir grade'leme sistemi yoktur (26).

En yaygın şekilde kullanılan grade'leme sistemi, Bloom ve Richardson tarafından belirlenmiş kriterlere dayanır. Bloom-Richardson grade'leme sistemi sitolojik ve histolojik kriterlerin kombinasyonundan oluşur. Kullanılan parametreler tübül formasyonu, nükleer pleomorfizm ve mitoz sayısıdır. Bu yöntemle göre tümöral dokudaki tübül formasyonu %75'ten fazla ise "1", %10-75 arasında ise "2", %10 veya daha az ise "3" puan verilir. Nükleer pleomorfizmin değerlendirilmesinde hücre uniform ve küçük nükleuslu ise "1", orta derecede nükleer boyut ve şekil farklılığı varsa ve bazı hücrelerde nükleolus gözleniyorsa "2", boyut farklılıkları belirgin, bir veya birden fazla nükleolus bulunuyorsa "3" puan verilir. Tümörün mitotik aktivitesinin en yoğun olduğu alan seçilerek on büyük büyütme alanında mitoz sayısına bakılır. Mitoz sayısı 0-9 arasında ise "1", 10-19 arasında ise "2", 20 ve üzerinde ise "3" puan verilir. Toplam puan 3-5 arasında ise grade-1, 6-7 ise grade-2 ve 8-9 ise grade-3 olarak değerlendirilir (27). Bu sistem Elston ve Ellis tarafından modifiye edilerek, tümör çapı ve aksiller lenf nodu durumu ile birlikte Nottingham İndeks içine dahil edilmiştir (28).

Nükleer grade'leme, tümör hücresinin sitolojik değerlendirmesidir. Bu değerlendirme sırasında normal meme epitel hücreleri ile karşılaştırma yapılır. Nükleer grade'leme tümörün büyüme paterninin belirlenmesini içermez. İnvaziv duktal karsinoma dışında meme kanserinin diğer alt tiplerine de uygulanabilir. Nükleer grade'leme için en yaygın şekilde kullanılan sistem Black ve arkadaşları tarafından ortaya konmuştur. Bu sistem iyi, orta ve az diferansiye olmak üzere 3 kategoriyi içermektedir. Günümüzdeki grade'leme sistemlerinde iyi, orta ve az diferansiye nükleer ve histolojik grade'ler için grade-1, 2 ve 3 terimleri kullanılmaktadır (27).

Pinder ve arkadaşları (29), Uluslararası Meme Çalışma Grubu içinde, 465 hastayı içeren bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada tümörlerin büyük çoğunluğu Nottingham sistemi ile grade-1 ve Bloom-Richardson sistemi ile grade-3 olarak sınıflandırılmış olsa da bu iki sistem ile yapılmış grade'leme arasında güçlü bir ilişki olduğunu tespit etmişlerdir. İki sistem arasında, hastalığın serbest sağkalımı ve sonucu açısından farklılık olmadığı rapor edilmiştir.

Mastektomi yapılmış yüksek grade'li invaziv duktal karsinomalı hastaların, anlamlı şekilde yüksek aksiller lenf nodu metastazı sıklığına sahip olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Özellikle aksiller lenf nodu metastazı olmayanlar arasında olmakla birlikte nükleer ve histolojik grade'in, hastalığın evresine göre ayrılmış hastalar için kullanışlı prognostik faktörler oldukları saptanmıştır. Tübül formasyonu yokluğunun, az diferansiye nükleer sitoloji ile kombine edildiği zaman kötü histolojik bir özellik olduğu belirtilmiştir (30,31).

İnvaziv meme kanserindeki mitoz sayısının prognostik önemi açık olarak belirlenmiştir (32). Araştırmacılar tarafından çeşitli kantitatif yöntemler kullanılarak bu parametrenin güvenilirliği ve tekrarlanabilirliği arttırılmaya çalışılmıştır (33,34). Meme kanserinin grade'lemesinde kullanılan kriterlerin standardizasyonu ile birlikte mitoz sayısına göre yapılan meme kanseri sınıflamalarında artış ortaya çıkmıştır (35,36). Parham ve arkadaşları (37) mitoz sayısının, Bloom-Richardson grade'leme sistemindeki en önemli özellik olduğunu rapor etmişlerdir. Nekroz varlığının ve mitoz sayısının önemli prognostik faktörler olduğunu belirtmişlerdir.

Tümör dokusundaki tübüler diferansiasyonun derecesinin değerlendirilmesi, invaziv meme kanserinde histolojik malignite grade'lemesinin bir parçasıdır. Tübüler diferansiasyonun meme kanserindeki prognostik önemi tartışmalıdır (38). Bir çok yayında tübüler diferansiasyonun

meme kanseri için önemli bir prognostik faktör olduğu rapor edilmiştir (39,40). Bununla birlikte yayınların çoğunda tübüler diferansiasyonun prognostik öneminin olmadığı ya da nükleer grade ve mitoz sayısından daha az olduğu ifade edilmektedir (35,41). Bu çelişki, tübüler diferansiasyonun biyolojik öneminin olmamasından çok, değerlendirme yöntemlerinin subjektifliğini yansıtmaktadır (38). Meme kanseri için kullanılan geleneksel (27) veya modifiye (28,36,42,43) grade'leme sistemlerinin hiçbiri, tübüler yapıların tanımlanması ya da tümör dokusundaki tübüler diferansiasyonun derecesinin sayısal olarak ölçülmesi için ayrıntılı bilgiler vermemektedir. Kronqvist ve arkadaşları (38) yaptıkları bir çalışmada tübüler diferansiasyonun invaziv duktal karsinomada bağımsız prognostik bir faktör olduğunu, fakat prognostik öneminin muhtemelen nükleer grade ve mitoz sayısından daha az olduğunu belirtmişlerdir.

Aksiller lenf nodu tutulumu meme kanseri için en önemli prognostik faktörlerden biridir. Bu lenf nodları meme kanserlerinin çoğunda, ilk tedavinin bir parçası olarak ve prognostik evreleme için rutin şekilde çıkarılmaktadır. Meme kanseri tedavisindeki kararların çoğu tümör içeren lenf nodunun sayısına dayanmaktadır. Adjuvan kemoterapi genellikle lenf nodu pozitif hastalara verilmektedir (44). Aksiller lenf nodu tutulumu, prognostik olarak 0, 1-3 ve ≥ 4 pozitif lenf nodu şeklinde gruplandırılmaktadır (16). Klinik olarak tespit edilebilen meme kanserli hastaların %50'sinde histolojik olarak aksiller lenf nodu tutulumu saptanır (17).

Meme kanserinde tümörün büyüklüğü ile prognoz çok yakından ilişkilidir. Gustave-Russy Enstitüsü'nde yapılan bir çalışmada 10-25 yıl takip edilen 2648 hastada primer tümörün büyüklüğü ile uzak metastaz gelişimi arasında oldukça anlamlı bir ilişki olduğu gösterilmiştir (45). Rosen ve ark. (46) 2 cm'den küçük tümörlü ve aksiller lenf nodu (-), radikal mastektomi yapılarak ortalama 18.2 yıl takip edilmiş 382 hastanın sağkalım oranını bildirmişlerdir. 1 cm'den az olanlarda iyileşme oranını %80, 1.1-2 cm arasında olanlarda ise %70 bulmuşlardır. Chicago Üniversitesi'nden bildirilen

seride de benzer sonuçlar ortaya çıkmıştır. Küçük tümörlü olup 1-3 aksiller lenf nodu (+) olan hastaların benzer şekilde iyi prognoza sahip oldukları gösterilmiştir (47).

Tümör nekrozunun prognostik önemi yaygın olarak araştırılmıştır. Nekrozun tanımı ve sınıflaması hakkında tartışmalar olmakla birlikte meme kanserinin invaziv ve intraduktal komponentleri içindeki nekrozun dağılımının önemli olduğu düşünülmektedir. Tümör nekrozunun prognostik öneminin zamana bağımlı olduğunu gösteren kanıtlar vardır (27). Gilchrist ve arkadaşları (48), "invaziv tümör kesitinde, orta büyütmeye ayırt edilebilen herhangi bir boyuttaki nekroz" şeklinde tarif edilen tümör nekrozunun, 10 yıllık takipte sağkalım ve rekürrens zamanının önemli bir belirleyicisi olduğunu bulmuşlardır. Jimenez ve arkadaşları (49), 28 tane santral olarak nekrotizan özellikte meme kanseri olgusunu içeren bir çalışma yapmışlardır. Histolojik incelemede, santraldeki nekrozun az diferansiye karsinoma ile çevrelendiğini tespit etmişlerdir. Ortalama hasta yaşı 59.8 ± 11.9 olup hastaların %43'ünde aksiller lenf nodu metastazı saptamışlardır. Ortalama 19.5 aylık sağkalım ile birlikte yaklaşık 40 aylık takip sonrasında, değerlendirilebilen 24 tane hastanın 16 tanesi (%67) meme kanseri nedeniyle ölmüştür. Yaygın nekroz varlığının invaziv meme kanserinde prognostik olarak kötü bir özellik olduğunu belirtmişlerdir.

Evrelendirme

Meme kanserli hastalar hekime başvurduklarında hastalıklarının yayılımları bakımından farklılıklar gösterir. Evreleme, hastaları hastalıklarının yayılma derecesine göre gruplara ayırma işlemidir. Günümüzde hemen her yerde UICC (Union International Contre Cancere) ve AJCC (American Joint Committee on Cancer)'nin biçimlendirdiği TNM sistemi kullanılmaktadır (Tablo-2 ve 3) (50).

Tablo-2 TNM Sistemi

Primer tümör	
Tx	Değerlendirilemeyen primer tümör
T0	Primer tümöre ait bulgu yok
Tis	İn situ karsinom
Tis(DCİS)	Duktal karsinoma in situ
Tis (LCİS)	Lobuler karsinoma in situ
T1	En büyük çap ≤2 cm tümör
T1mic	En büyük çap ≤0.1 cm mikroinvaziv tümör
T1a	Tümör çapı >0.1 cm, ancak ≤0.5 cm
T1b	Tümör çapı >0.5 cm, ancak ≤1.0 cm
T1c	Tümör çapı >1.0 cm, ancak ≤2.0 cm
T2	Tümör çapı >2.0 cm, ancak ≤5.0 cm
T3	Tümör çapı >5cm üzerinde
T4	Aşağıda belirtilen dokulara direkt yayılımı olan herhangi bir büyüklükte tümör a-Göğüs duvarı b-Cilt
T4a	Pektoralis major kası dışında göğüs duvarına yayılım
T4b	Ödem "peau d'orange", cilt ülserasyonu, aynı memede satellit cilt nodülleri
T4c	T4a ve T4b
T4d	Enflamatuar karsinom

Bölgesel lenf nodları	
Nx	Daha önce çıkarıldığı için değerlendirilemeyen nodal tutulum
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1	Hareketli ipsilateral bölgesel lenf nodu metastazı
N2	Komşu dokulara yapışık ipsilateral aksiller lenf nodu metastazı veya aksiller metastaz olmaksızın klinik veya radyolojik olarak (lenfosintigrafi dışı) görülebilen ipsilateral intramammarian (İM) nodal metastaz.
N2a	Komşu dokulara yapışık ipsilateral aksiller lenf nodu metastazı
N2b	Aksiller metastaz olmaksızın klinik veya radyolojik olarak görülebilen ipsilateral İM nodal metastaz
N3	İpsilateral infraklaviküler lenf nodu metastazı veya klinik + radyolojik (lenfosintigrafi dışı) olarak görülebilen ipsilateral İM lenf nodu metastazı+aksiller lenf nodu metastazı veya supraklaviküler lenf nodu metastazı.
N3a	İpsilateral infraklaviküler lenf nodu metastazı+aksiller lenf nodu metastazı.
N3b	Klinik + radyolojik (lenfosintigrafi dışı) olarak görülebilen ipsilateral İM lenf nodu metastazı +aksiller lenf nodu metastazı
N3c	Supraklaviküler lenf nodu metastazı

Bölgesel lenf nodları

pNx	Değerlendirilemeyen bölgesel lenf nodülleri
pN0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
pN0(i-)	Bölgesel lenf nodu metastazı yok, İHK(-)
pN0(i+)	Bölgesel lenf nodu metastazı yok, İHK(+) ancak tümör infiltrasyon alanı ≤ 0.2 mm
pN0(mol-)	Bölgesel lenf nodu metastazı yok, RT-PCR(-)
pN0(mol+)	Bölgesel lenf nodu metastazı yok, RT-PCR(+)
pN2mi	Mikrometastaz, tümör infiltrasyon alanı >0.2 mm, ≤ 2.0 mm
pN1	1-3 aksiller lenf nodu tutulumu ve/veya klinik veya radyolojik olarak görüntülenemeyen ancak sentinel biyopside saptanabilen İM lenf nodunda mikrometastaz
pN1a	1-3 aksiller lenf nodu tutulumu
pN1b	Klinik veya radyolojik olarak görüntülenemeyen ancak sentinel biyopside saptanabilen İM lenf nodunda mikrometastaz
PN1c	1-3 aksiller lenf nodu tutulumu ve klinik veya radyolojik olarak görüntülenemeyen, ancak sentinel biyopside saptanabilen İM lenf nodunda mikrometastaz
pN2	4-9 aksiller lenf nodu metastazı veya aksiller tutulum olmaksızın İM lenf nodlarında klinik + radyolojik (lenfosintigrafi dışı) olarak görülebilen tutulum
PN2a	4-9 aksiller lenf nodu metastazı, en küçük tümör infiltrasyon alanı >2.0 mm
PN2b	Aksiller tutulum olmaksızın İM lenf nodlarında klinik + radyolojik (lenfosintigrafi dışı) olarak belirgin olan tutulum.
PN3	10 veya daha fazla aksiller lenf nodu metastazı veya infraklaviküler lenf nodu metastazı klinik + radyolojik (lenfosintigrafi dışı) olarak belirgin İM lenf nodu metastazı + en az 1 aksiller lenf nodu metastazı veya sentinel biyopsi ile tanısı konan mikroskopik İM lenf nodu metastazı + 3'den fazla aksiller lenf nodu metastazı.
PN3a	10 veya daha fazla aksiller lenf nodu metastazı, , en küçük tümör infiltrasyon alanı >2.0 mm veya infraklaviküler lenf nodu metastazı
PN3b	Klinik + radyolojik (lenfosintigrafi dışı) olarak belirgin İM lenf nodu metastazı + en az 1 aksiller lenf nodu metastazı veya sentinel biyopsi ile tanısı konan mikroskopik İM lenf nodu metastazı + 3'ten fazla aksiller lenf nodu metastazı.
PN3c	Supraklaviküler lenf nodu metastazı

Uzak metastaz

Mx	Değerlendirilemeyen uzak metastaz
Mo	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz var

Tablo-3 Yukarıdaki parametreler kullanılarak yapılan evreleme ise aşağıdaki gibidir

Evre	Primer tümör	Lenf nodu durumu	Uzak metastaz
Evre 0	Tis	N0	M0
Evre I	T1	N0	M0
Evre IIA	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
Evre IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
Evre IIIA	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T3	N2	M0
Evre IIIB	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
	T4	N2	M0
Evre IIIC	T*	N3	M0
Evre IV	T*	N*	M1

T*: Herhangi bir T, N*: Herhangi bir N
T1: T1 mic. kapsar

Nükleer Morfometri ve Patolojideki Yeri

Nükleer şekil bozuklukları ve nükleer büyüme, anaplazinin komponentleri ve kanserin işaretleri olarak tanımlanmıştır (51). Nükleer boyut, neoplazi derecesinde kullanılan en önemli özelliklerden bir tanesidir. Bununla birlikte malignite ile ilişkili nükleer özellikler sadece boyuttaki değişiklikleri içermez. Nükleer boyut ve şekildeki farklılıklar (pleomorfizm) ile kromatin paternindeki değişimleri de içerir (52).

Tümörlerin histopatolojik sınıflandırması ve malignite derecesi geleneksel olarak, iki boyutlu doku kesitlerinde, morfolojinin subjektif ve kalitatif şekilde değerlendirilmesine dayanır. Bu durum, hastalıklarla ilgili bilgilerimizin temelini oluşturan histopatoloji için uygun ve kantitatif olmayan bir disiplindir. Histopatolojideki genel eğilim, morfometrik, stereolojik ve sitomorfometrik yöntemlerle birlikte kantitatif olmaya yöneliktir (52).

Hücre görüntü analizi, tanıda kullanılan hücresel özellikler için sayısal değerler belirlenmesini amaçlar. Bu yöntemle yapılan ölçümler insan gözünün ayırt edemeyeceği kadar küçük farklılıkları ortaya çıkarır (53). Görüntü analiz yöntemleri, incelenen spesimde malign olmayan nükleus ya da hücrelerin elenmesi ile, her bir nükleus ya da hücrenin tek tek değerlendirilmesine olanak sağlar. Bazı klasik ışık mikroskobu kriterlerinden farklı olarak, görüntü analizindeki morfometrik özellikler ve ölçümler objektiftir (54). Hücrelerin ve dokuların kantitatif patolojik incelemesi önemli tanısal ve prognostik bilgiler sağlayabilir (55).

Kanser tanısı ve prognozu için görsel histolojik ve sitolojik grade'leme sistemi uzun bir geçmişe sahiptir (55). Meme (27,52) ve prostat (56,57) kanserini içeren birçok organ kanseri için tanımlanmıştır. Genellikle, kanserlerin prognozunun değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (58). Bazı

araştırmacılar bu yöntemi, preinvaziv neoplastik progresyonu değerlendirmek için kullanmıştır (59,60).

1908'de nükleus boyutunu büyük ölçekte hatasız olarak ölçen ilk araştırıcı Heiberg'tir. İki yıl sonra, çeşitli neoplazmların kapsamlı araştırması Nomikos tarafından yayınlanmıştır. Nomikos, Heiberg gibi, nükleer profil çaplarının ölçümlerini kullanmıştır. Nükleer profil çapının, normal epidermal keratinositlerden papillomlar ve invaziv kutanöz tümörlere doğru gidildikçe arttığını göstermiştir (52).

Kantitatif patoloji günümüzde birkaç tekniği içerir: morfometri, stereoloji, statik ve akım sitometri, dijital görüntü işlemleri ve uzman sistemler. Bu tekniklerin diagnostik patolojideki uygulamaları giderek artmaktadır. Morfometri, kantitatif patolojinin en basit ve pahalı olmayan tekniklerinden biridir. Son yıllarda patolojide yaygın olarak kullanılmaktadır. En basit tarifile, şeklin kantitatif tanımlamasıdır. Pratikte, interaktif analiz için basit ekipmanların kullanımı ile sınırlıdır. Sayım, hesaplama ve raporlama için bazı ek gereçlerle birlikte projeksiyon mikroskobu kullanılır (61).

Morfometrik yöntemlerle hücre ve dokuya ait nükleus, nükleolus, sinir lifleri, kas lifleri, tübüler yapılar ve damarlar gibi pek çok yapı incelenerek bir çok morfometrik parametre açısından değerlendirme yapılabilir. Bu parametreleri şöyle özetleyebiliriz (62):

a) Tek boyutlu parametreler:

- 1- Nükleus çapı (en geniş, en dar, ortalama)
- 2- Nükleolus çapı
- 3- Nükleus, hücre, gland, damar ve nöron sayısı
- 4- Mitoz sayısı
- 5- İki nükleus arası uzaklık

- 6- Tabaka kalınlığı, bazal membran kalınlığı
- 7- Nükleus çevresi

b) Alan ile ilgili parametreler:

- 1- Nükleus alanı
- 2- Sitoplazma alanı
- 3- Gland alanı
- 4- Tübüler yapıların kesit yüzeylelerinin alanları

c) Hesaplanabilen parametreler:

- 1- Yuvarlaklık indeksi
- 2- Yuvarlaklık (şekil) faktörü
- 3- Ağırlık merkezi
- 4- Değişkenlik katsayısı
- 5- Nükleus / sitoplazma oranı
- 6- Villus boyu / kript derinliği

d) Hesaplanabilen stereolojik parametreler (63-65):

- 1- Nükleolus hacmi
- 2- Göreceli hacimler

Mesane kanseri, malign melanoma gibi bazı kanserlerde, yüksek malignensi büyük nükleer volümlerle paralellik göstermektedir (52). Klinik olarak en agresif kanserlerden biri olan akciğerin küçük hücreli karsinomu ise küçük nükleer volümlerle karakterizedir (66). Farklı kanserlerdeki hücrelerin farklı cevapları, araştırmacıların nükleusla ilgili kantitatif bilgileri yorumlarken dikkatli olmalarını gerektirmektedir. Tümör-spesifik agresivite, spesifik kanser tiplerinde ortalama nükleer boyutun ölçülmesi ile elde edilebilir. Ortalama nükleer boyutun değerlendirilmesinden başka mitotik aktivite, nükleer

dansite, nükleer şekil faktörü ve çeşitli doku komponentlerinin hacmi de kullanılmaktadır (52).

Diamond ve arkadaşları (67) tarafından 1982'de nükleer yuvarlaklık (yuvarlaklık indeksi) adı verilen bir parametre tanımlanmıştır. Bu parametre "1" değerinden ne kadar uzaklaşırsa nükleusun o derece düzensizleştiğini göstermektedir. Yuvarlaklık indeksinin tanımlanmasından sonra nükleer özelliklere dayanan pek çok morfometrik parametre üzerinde çalışmalar yapılmış, bunların tanısal ve prognostik açıdan diğer histolojik grade'leme sistemlerinden daha üstün oldukları belirtilmiştir (67,68).

Bilgisayarlı görüntü analizi, nükleer morfolojinin objektif ve doğru olarak değerlendirilmesine olanak sağlar. Yapılan çeşitli morfometrik çalışmalarda nükleer boyuttaki artış ve şekil düzensizliğinin, borderline tümörlere göre malign tümörlerde daha fazla olduğu tespit edilmiştir (69,70). Çeşitli kanserlerde, tümör progresyonu ile paralel olarak nükleer morfometrik özelliklerin anormalliklerinde de artış rapor edilmiştir (71,72). Ikeguchi ve arkadaşları (73) yaptıkları çalışmada, kolorektal karsinoma olgularına ait hücrelerin ortalama nükleer alan (NA) değerlerinin, kolorektal adenoma olgularındaki hücrelerin değerlerinden ciddi anlamda büyük olduğunu bulmuşlardır.

Cagle ve arkadaşları (74) nükleer morfometrik analizde yüksek objektivite sağlanabilmesi için, uniform teknik ile her olgu için çok sayıda nükleus ölçümü yapılması gerektiğini vurgulamışlardır. Ikeguchi ve arkadaşlarının (73) yaptıkları çalışmada 3 patoloğ olgu başına 300 tümör hücresinin nükleusunu uniform teknikle ölçmüştür ve bu 3 patoloğun tespit ettiği NA değerlerinin her olguda birbirine benzer olduğu bulunmuştur. Bir patoloğ 100 olgunun her biri için NA'ı 3 kez ölçmüştür. Bu 3 ölçümden alınan veriler karşılaştırılmış ve ciddi farklılıklara rastlanmamıştır. Bu sonuçlar,

nükleer morfometrinin yararlılığını ve objektifliğini kuvvetli bir şekilde desteklemektedir.

Grade, Broders'in (55) çalışmasında rapor ettiğinden bu yana patolojinin bir parçası olmuştur. Hastalığın yaygınlığına dayanan evreden farklı olarak grade, primer tümörün histolojik özelliklerine dayanır (75). Çok değişkenli analizlerde, tümör grade'inin en önemli ve tek anlamlı prognostik faktör olduğu ortaya çıkmıştır (76). Günümüzde yaygın şekilde kullanılan çeşitli histolojik grade'leme sistemleri, nükleer özelliklerin subjektif şekilde değerlendirilmesine dayanmaktadır (51,66,77). Özellikle intermediate grade'lerde olmak üzere nükleer grade'in subjektifliği, nükleer özelliklerin değerlendirilmesi için kantitatif morfometrik yaklaşım tarzının geliştirilmesine neden olmuştur (78).

Herhangibir grade'leme sisteminin anahtar özelliği, aynı gözlemcinin farklı zamanlardaki gözlemleri ve farklı gözlemcilerin gözlemleri arasında tekrarlanabilir olmasıdır. Görüntü analiz sistemlerinin patoloji ve sitopatoloji içine girmesiyle birlikte bu alanda yeni kantitatif bir yaklaşım ortaya çıkmıştır. Bu sistemler, hücrelerin ve doku örneklerinin hızlı ve tekrarlanabilir analizini, nükleer boyut, şekil, yuvarlaklık ve yapısal özellikler gibi çeşitli morfolojik özelliklerin objektif olarak değerlendirilmesini sağlar (79).

Baak ve arkadaşları (80) grade'leme sistemlerinin dezavantajının, gözlemciler arasında tümör grade'i açısından düşük uyum oranına neden olan subjektif özellikleri olduğunu vurgulamışlardır. Genel olarak tekrarlanabilir tümör grade'i, gözlemciler arasında uyumu gerektirir (31). Bilgisayarlı sınıflama sistemleri ve dijital görüntü analiz teknolojisindeki yeni gelişmeler, tümör grade'lemesinde karşılaşılan çeşitli problemlere potansiyel çözümler sunmaktadır (81).

Meme kanserinde, nükleer ve yapısal özellikler tarafından tespit edilen tümör grade'inin sağkalımın belirleyicisi olduğu gösterilmiştir (21,27,32). Tümör grade'inin bu amaçla kullanımı, farklı gözlemcilerin gözlemleri arasında tekrarlanabilirliğinin zayıf olması nedeniyle sınırlıdır (81). Delides ve arkadaşlarının (82) yaptıkları bir çalışmada, meme kanseri grade'lemesinde 6 patolog arasındaki uyum sadece %15 olarak bulunmuştur. Bedrossian ve arkadaşları (83) tarafından meme kanserinin prognozunun belirlenmesinde, ağırlıklı olarak histopatolojik ve sitopatolojik örneklerin morfolojik karakteristiklerine dayanan, objektif ve tekrarlanabilir kriterlere ihtiyaç olduğu belirtilmiştir. Bu amaçla yapılan çalışmalarda nükleer morfometrinin meme kanserli hastalarda üstün tekrarlanabilirliğe sahip olduğu rapor edilmiştir (84,85).

Kronqvist ve arkadaşları (86), invaziv duktal karsinoma olgularında morfometrik malignite grade'lemesinin prognostik faktör olarak önemini araştırmışlardır. Meme kanserinin grade'lemesinde yaygın olarak kullanılan 3 parametre olan nükleer grade, tübüler diferansiasyon ve mitoz sayısının kantitatif ölçümlerine dayanan morfometrik grade'leme yapmışlardır. Morfometrik grade'leme sistemi kullanılarak hastaları iyi (grade-1), orta (grade-2) ve kötü (grade-3) prognozlu şekilde gruplara ayırmanın mümkün olduğunu, bu sistemin meme kanseri prognozunun belirlenmesinde önemli bir faktör olduğunu tespit etmişlerdir.

Kunze ve arkadaşları (87), invaziv duktal karsinomalı hastalarda nükleer morfometrinin prognostik önemini araştırdıkları 84 olguluk çalışmalarında, morfometrik parametreler ile prognoz arasında açık bir ilişki olduğunu, histolojik grade ve tümör evresi gibi prognostik faktörlere ek olarak nükleer görüntü analiz yöntemlerinin prognostik bilgiler sağlayabileceğini vurgulamışlardır. Bu yöntemi kullanarak, nod negatif ve nod pozitif hastaları, rekürrens risk artışı ile birlikte alt gruplara ayırmanın mümkün olabileceğini belirtmişlerdir.

Bilgisayar aracılı morfometri, histolojik materyallerin sistematik ve objektif şekilde araştırılması için güçlü bir araç sağlamaktadır (88,89). Son zamanlarda, malign tümörlerin nükleer karakteristiklerini ölçen tekniklerin uygulandığı çalışmalarda artış görülmektedir. Bu çalışmalar tam otomatik doku nitelendirmesi ve morfometrik tanıyı er geç mümkün kılacaktır (90).

GEREÇ VE YÖNTEM

1997-2004 yılları arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Meme Cerrahisi Bilim Dalı tarafından invaziv duktal karsinoma nedeniyle modifiye radikal mastektomi uygulanmış 75 kadın hasta çalışma kapsamına alındı. Olguların Uludağ Üniversitesi Tıp fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivindeki H&E boyalı preparatları üzerinde çalışıldı. Modifiye Bloom-Richardson yöntemine göre histolojik grade'leme yapılmış olan olguların 12 tanesi grade-1, 32 tanesi grade-2 ve 31 tanesi grade-3 olup yaş ortalaması 53.7 olarak bulundu.

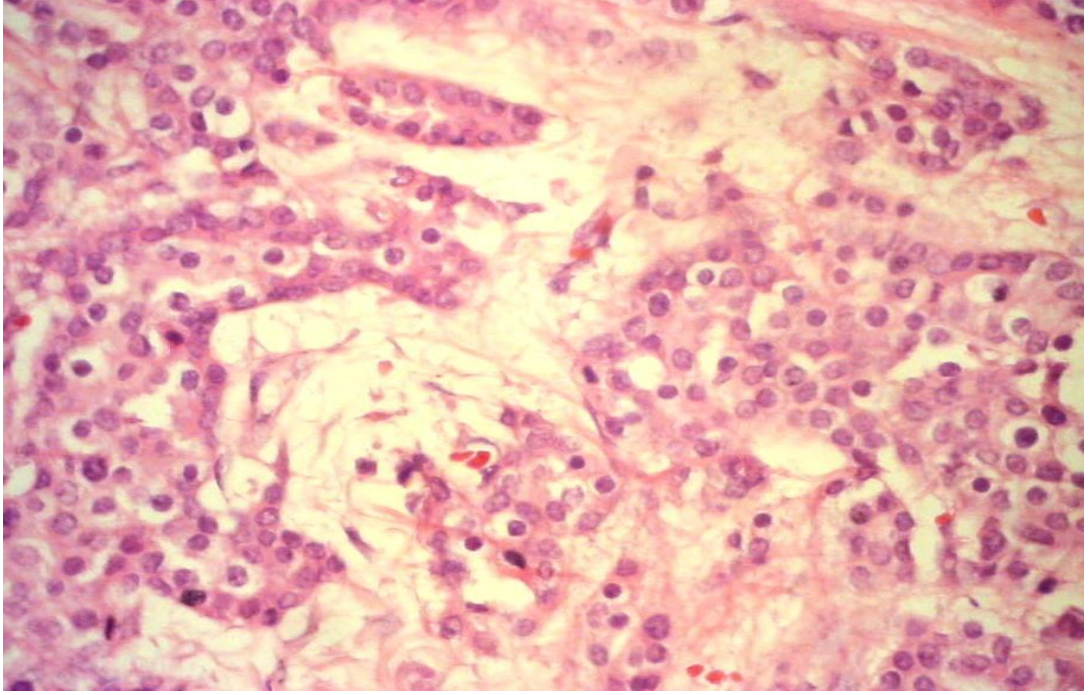
Patolojik Değerlendirme:

Histopatolojik parametreler olarak histolojik grade, histolojik grade'in belirlenmesinde kullanılan nükleer grade, tübül formasyonu ve mitoz sayısı ile nekroz varlığı, tümör çapı ve lenf nodu yayılım durumu değerlendirildi.

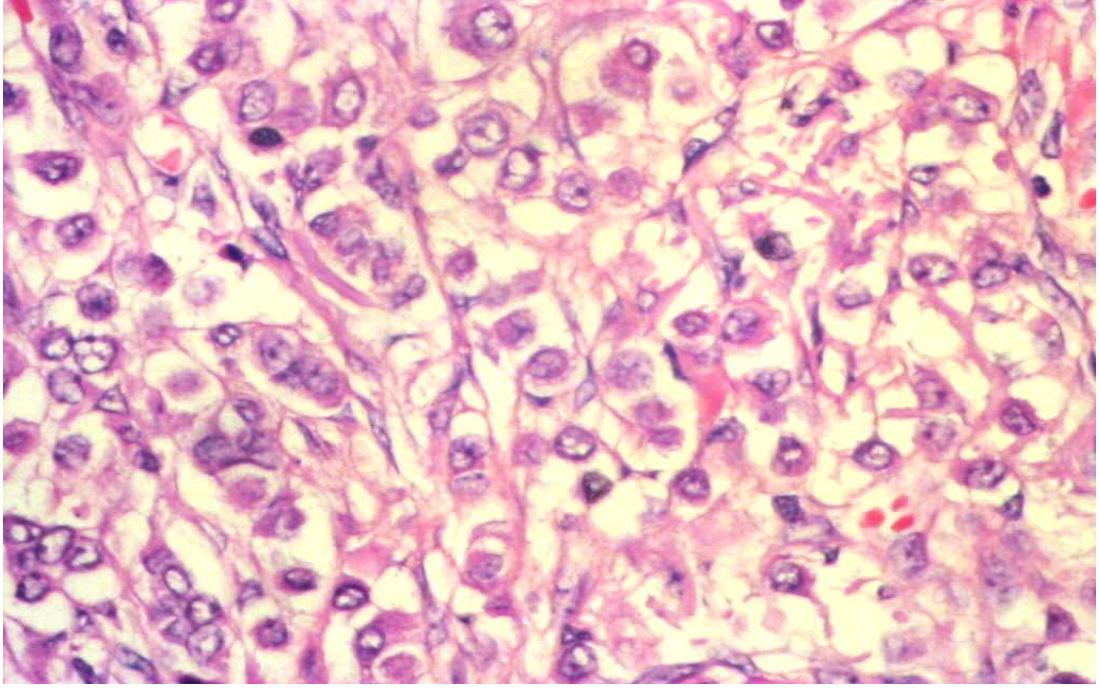
Histolojik grade'e göre olgular grade-1, grade-2 ve grade-3 şeklinde 3 grup altında incelendi. Nükleer grade, tübül formasyonu ve mitoz sayısı değerlendirilirken, olguların Modifiye Bloom-Richardson grade'leme sistemine göre aldıkları puanlara bağlı olarak gruplandırma yapıldı. Tübül formasyonuna göre 1 puan alan 3 tane olgu olduğu ve istatistiksel açıdan yeterli sayıya ulaşamadığı için bu grup değerlendirmeye alınmadı.

Tümör çapı, makroskobik patolojik incelemede ölçülen en büyük çap olarak "cm" biriminden alındı. Olgular tümör çapına göre T1 (tümör çapı \leq 2), T2 (tümör çapı $>$ 2.0, ancak \leq 5) ve T3 (tümör çapı $>$ 5) olarak gruplandırıldı. İnvaziv tümördeki nekroz, "var" veya "yok" şeklinde belirtildi. Komedo nekroz varlığı dikkate alınmadı. Aksiller lenf nodlarına yayılım

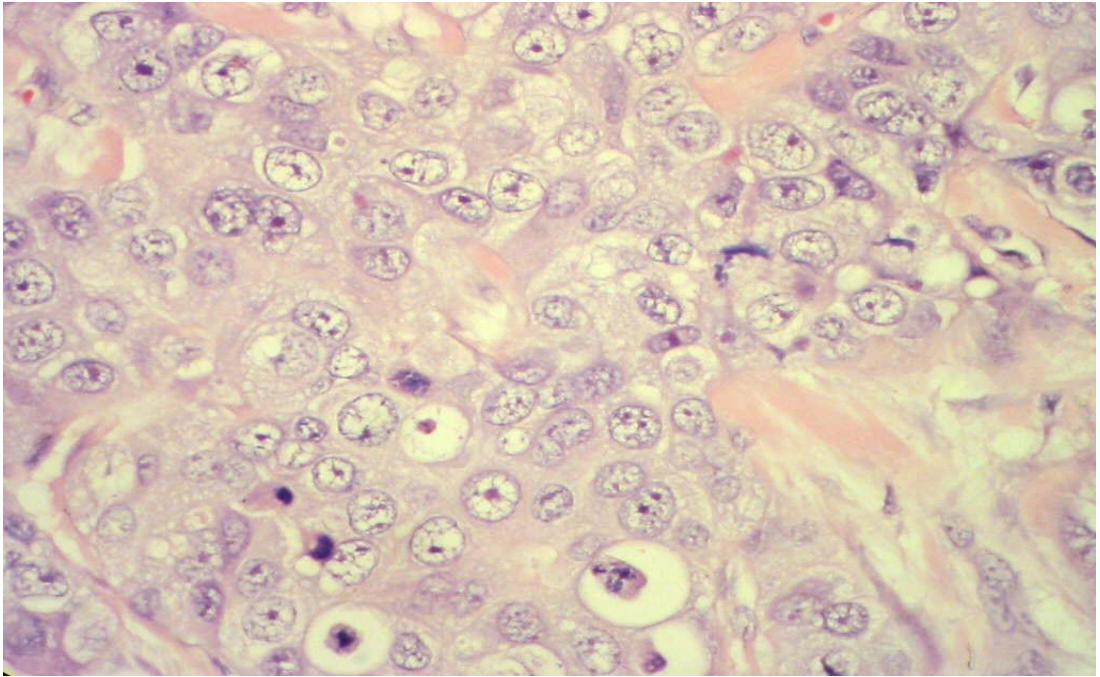
durumu değerlendirilirken tümör metastazı “var” veya “yok” Şeklinde ele alındı.



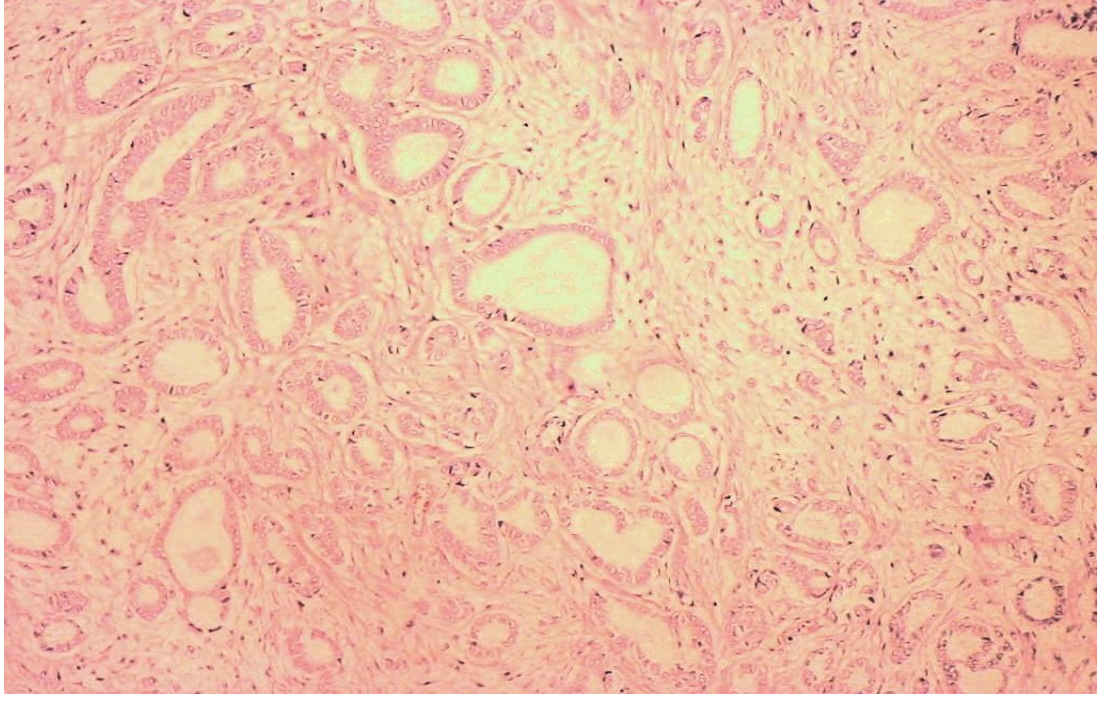
Resim-1: Nükleer pleomorfizm için 1 puan alan bir olguya ait resim (H&E, x400)



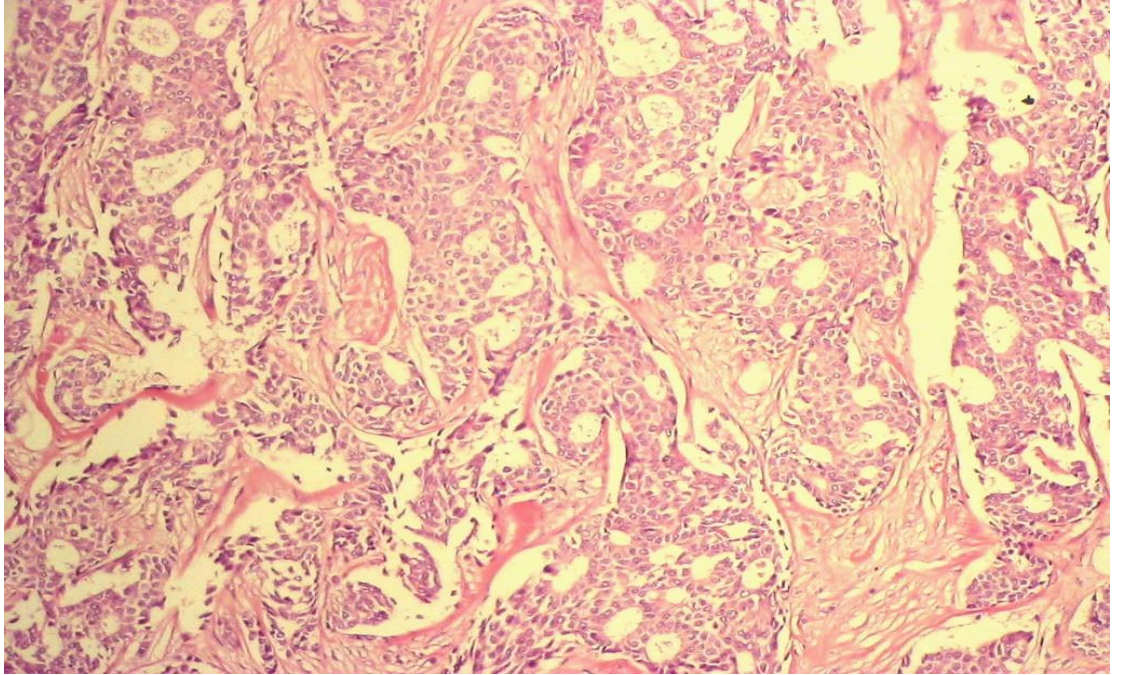
Resim-2: Nükleer pleomorfizm için 2 puan alan bir olguya ait resim (H&E, x400)



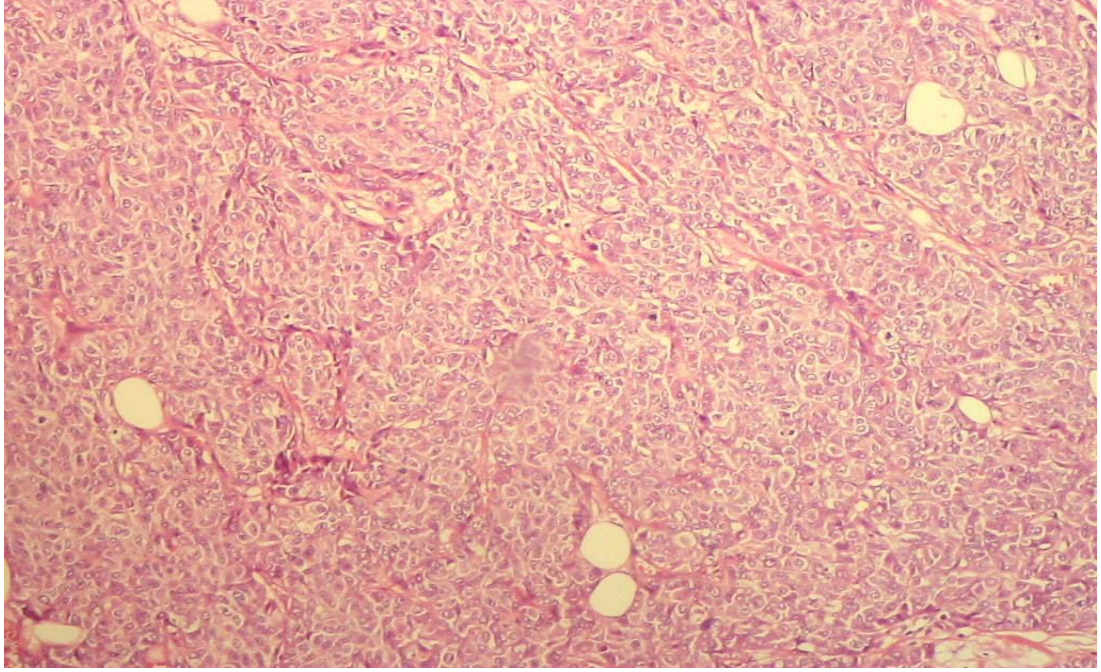
Resim-3: Nükleer pleomorfizm için 3 puan alan bir olguya ait resim (H&E, x400)



Resim-4: Tübül formasyonu açısından 1 puan alan bir olguya ait resim (H&E, x100)



Resim-5: Tübül formasyonu açısından 2 puan alan bir olguya ait resim (H&E, x100)



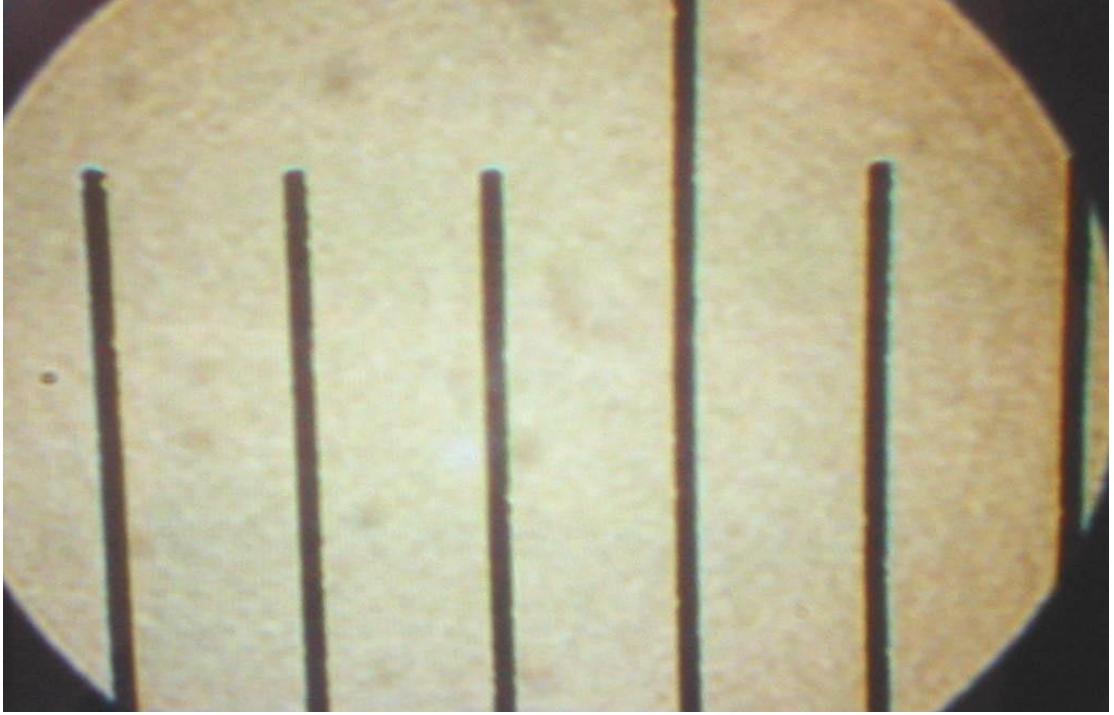
Resim-6: Tübül formasyonu açısından 3 puan alan bir olguya ait resim (H&E, x100)

Morfometrik Değerlendirme:

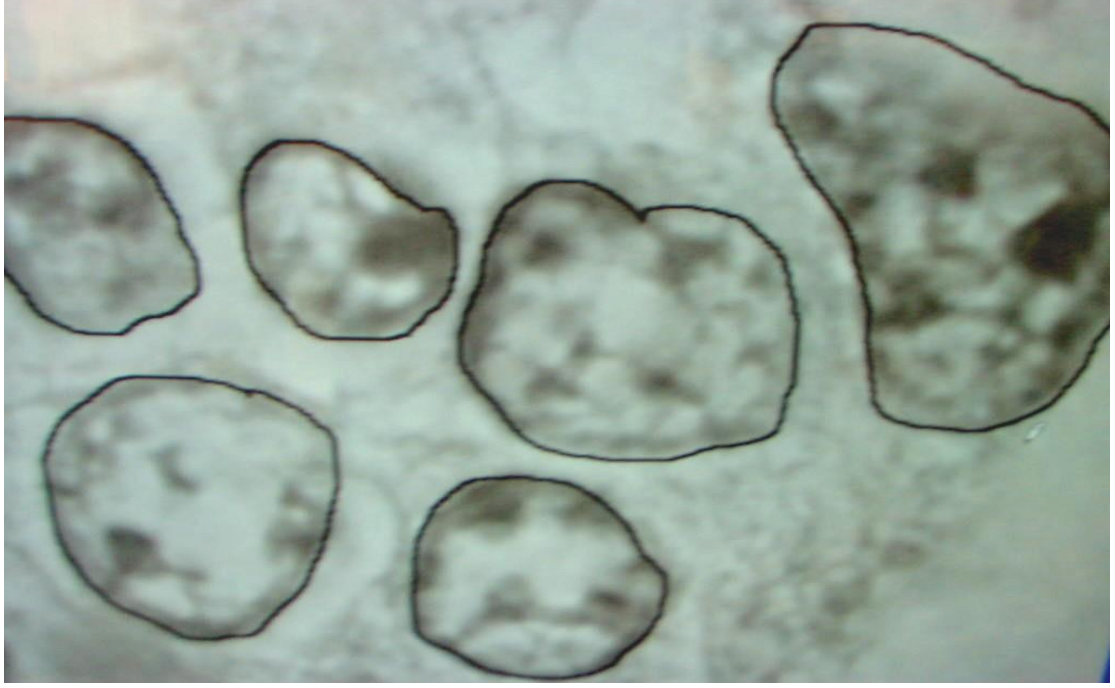
Olgulara ait H&E boyalı preparatlar ışık mikroskobu altında incelenerek en ince kesitlere sahip olanlar belirlendi. Görüntü alınmasında Nikon YSZ-HF alphaphot mikroskoba bağlı Sony Cybershot F-717 dijital kamera kullanıldı.

Her olguda ölçüm alanları en sellüler bölgelerden seçildi. Nekroz, doku artefaktı, in situ karsinoma ve enflamasyon alanları değerlendirme dışı bırakıldı. x100 immersiyon objektifi kullanılarak yapılan taramada, her mikroskobik alanda, nükleer sınırların belirgin olarak izlendiği malign epitelyal hücreler seçildi. Görüntüler JPEG olarak yakalandı (1280x960) ve Scion Image yazılımında analizlenmek için ACDsee yazılımı ile BMP imajlara dönüştürüldü.

Görüntüler Scion Image Yazılımı (Public domain) kullanılarak açıldı. Ölçüm bilgisayar ekranında x4200 büyütme taşınmış oldu. Aynı sistem kullanılarak görüntüsü yakalanan mikrometrik lam ile kalibrasyon yapıldı. Her vaka için sistematik gelişigüzel örnekleme yöntemi ile 50 nükleus seçildi ve bilgisayara bağlı mouse kullanılarak nükleus sınırları çizildi. Üst üste binmiş nükleuslar ölçülmedi. Her bir olguda morfometrik parametre olarak nükleer alan ve nükleer çevre elde edildi. Ölçüm değeri olarak mikrometre kullanıldı. Elde edilen nükleer alan ve nükleer çevre değerleri kullanılarak, nükleusun yuvarlaklığını gösteren parametreler olan yuvarlaklık faktörü (şekil faktörü- F_{circle}) [$(4 \times \pi \times \text{Alan}) / (\text{Çevre} \times \text{Çevre})$] ve nükleer yuvarlaklık (yuvarlaklık indeksi) [$(\text{Çevre} / 2 \times \pi) / (\sqrt{\text{Alan} / \pi})$] hesaplandı.



Resim-7: Mikrometrik lam (iki çizgi arası 10 μ 'u temsil etmektedir, x1000).



Resim-8: Scion Image Yazılımı kullanılarak nükleus çevrelerinin çizimi (x4200)

İstatistiksel Analiz:

Verilerin analizinde SPSS 13.0 istatistiksel paket programı kullanıldı. Değişkenlerin normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro-Wilk Testi ile test edildi. Normal dağılım gösteren değişkenler için iki grup karşılaştırmasında t-testi, üç ve daha fazla grup karşılaştırmasında tek yönlü varyans analizi kullanıldı. Tek yönlü varyans analizinde farklılık olması durumunda gruplar arasındaki farklılık Bon-ferroni Çoklu Karşılaştırma Testi ile incelendi. Normal dağılım göstermeyen değişkenlerde iki grup karşılaştırması için Mann-Whitney U Testi, üç ve daha fazla grup karşılaştırması için Kruskal Wallis Testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Pearson Ki-Kare Testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $\alpha=0.05$ olarak belirlendi.

BULGULAR

Çalışmaya 1997-2004 yılları arasında invaziv duktal karsinoma nedeniyle modifiye radikal mastektomi uygulanmış 75 olgu dahil edildi. Yaş ortalaması 53.7(±12.3) olup Modifiye Bloom-Richardson grade'leme sistemi ile belirlenmiş olan histolojik grade'e göre 12 olgu grade-1 (%16), 32 olgu grade-2 (%42.7) ve 31 olgu grade-3 (%41.3) idi.

Olguların, Modifiye Bloom-Richardson grade'leme sisteminde kullanılan nükleer grade, tübül formasyonu ve mitoz sayısına göre aldıkları puanlar açısından dağılımı Tablo-4'te gösterilmiştir.

Tablo-4:

	Nükleer grade			Tübül formasyonu			Mitotik aktivite		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Olgu sayısı	6	37	32	3	25	47	24	40	11

Olguların 53'ünde (%70.7) nekroz saptanmazken 22'sinde (%29.3) nekroz tespit edildi. Lenf nodu yayılım durumuna göre 22 olguda (%29.3) metastaz saptanmazken 53 olguda (%70.7) metastaz tespit edildi. Tümör çapına göre olguların 14 tanesi T1 (%18.7), 48 tanesi T2 (%64) ve 13 tanesi T3 (%17.3) olarak tespit edildi.

75 olguda incelenen nükleer morfometrik parametrelerin genel özellikleri Tablo-5'te gösterilmiştir.

Tablo-5:

	NA(μm^2)	NÇ(μm)	YF	Yİ
Ortalama	58.04	27.47	0.9237	1.0407
Ortalamanın st. hatası	2.83	0.64	0.0026	0.0015
Minimum	17.80	15.99	0.86	1.02
Maksimum	156.04	45.02	0.97	1.08
St. sapma	24.58	5.61	0.0227	0.0129

NA: Nükleer alan, NÇ: Nükleer çevre, YF: Yuvarlaklık faktörü Yİ: Yuvarlaklık indeksi

İncelenen bütün patolojik ve nükleer morfolometrik parametreler açısından bakıldığında en anlamlı ilişkinin histolojik ve nükleer grade ile bütün morfolometrik parametreler arasında olduğu tespit edildi (Tablo-6).

Tablo-6 Patolojik parametreler ve nükleer morfometri arasındaki ilişki

Parametre	ONA (μm^2)	ONÇ (μm)	OYF	OYİ
Histolojik grade				
1	34.91	21.66	0.9059	1.0509
2	54.32	26.74	0.9261	1.0394
3	70.83 (p<0.05)	30.47 (p<0.05)	0.9280 (p<0.05)	1.0382 (p<0.05)
Nükleer grade				
1	27.61	19.44	0.8953	1.0569
2	52.49	26.32	0.9231	1.0411
3	70.16 (p<0.05)	30.30 (p<0.05)	0.9296 (p<0.05)	1.0373 (p<0.05)
Tübül formasyonu				
2	51.11	25.98	0.9182	1.0438
3	62.91 (p<0.05)	28.53 (p>0.05)	0.9267 (p>0.05)	1.0390 (p>0.05)
Mitotik aktivite				
1	44.51	24.12	0.9202	1.0428
2	61.76	28.58	0.9225	1.0413
3	74.02 (p<0.05)	30.75 (p<0.05)	0.9355 (p>0.05)	1.0340 (p>0.05)
Tümör çapı				
T1	55.39	26.89	0.9275	1.0385
T2	55.06	26.79	0.9218	1.0418
T3	71.73 (p>0.05)	30.54 (p>0.05)	0.9239 (p>0.05)	1.0408 (p>0.05)
Lenf nodu metastazı				
Var	59.24	27.70	0.9237	1.0408
Yok	54.55 (p>0.05)	26.73 (p>0.05)	0.9251 (p>0.05)	1.0399 (p>0.05)
Nekroz				
Var	59.28	27.84	0.9264	1.0392
Yok	55.05 (p>0.05)	26.57 (p>0.05)	0.9172 (p>0.05)	1.0445 (p>0.05)

ONA: Ortalama nükleer alan, ONÇ: Ortalama nükleer çevre, OYF: Ortalama yuvarlaklık faktörü, OYİ: Ortalama yuvarlaklık indeksi

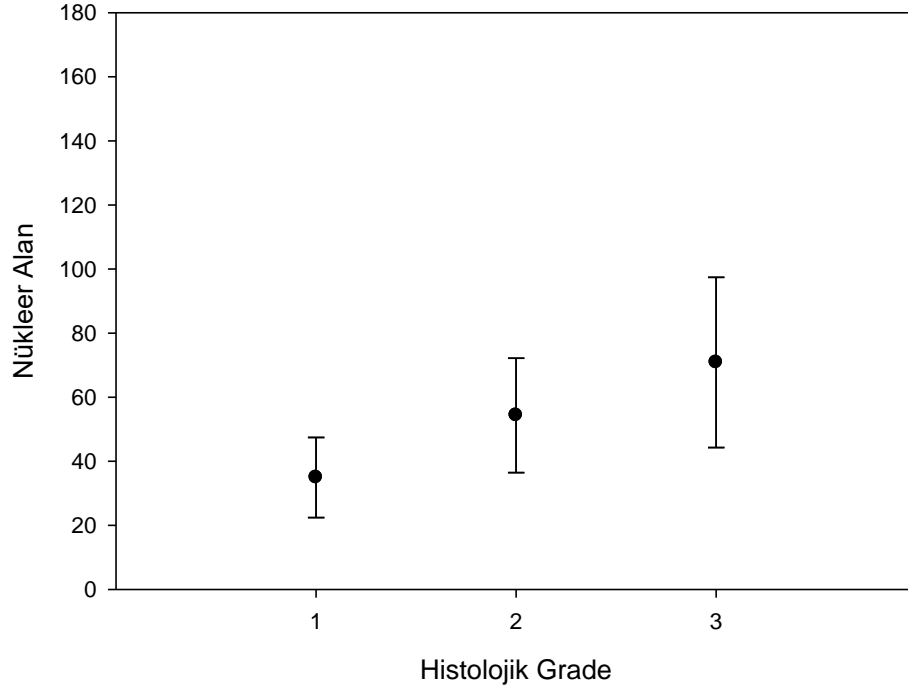
Histolojik grade'e göre olguların morfometrik parametreleri karşılaştırıldığında;

Her 3 grup arasında nükleer alan, nükleer çevre, yuvarlaklık faktörü ve yuvarlaklık indeksi açısından anlamlı farklılık saptandı ($p<0.05$) . Histolojik grade arttıkça nükleer alan ve çevre değerlerinde de artış olduğu dikkati çekti.

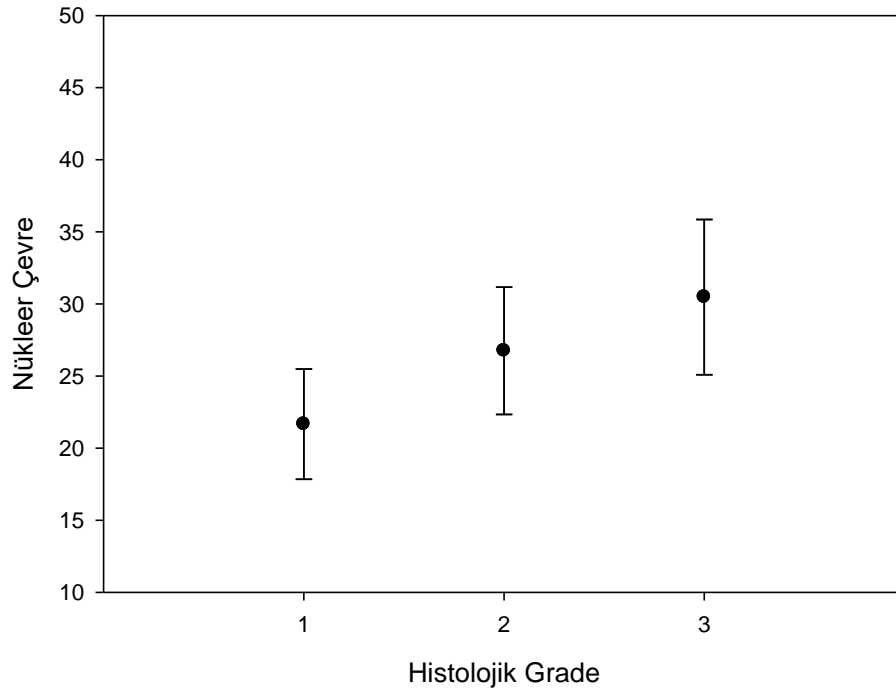
Tablo-7: Histolojik grade'e göre olguların nükleer morfometrik değerleri

Histolojik grade	NA(μm^2)	NÇ(μm)	YF	Yİ	
1	Minimum Maksimum Ortalama St. sapma	17.80 62.38 34.91 12.49	15.99 29.56 21.66 3.82	0.87 0.94 0.9059 0.0219	1.03 1.07 1.0509 0.0126
2	Minimum Maksimum Ortalama St. sapma	21.72 93.73 54.32 17.85	17.50 35.61 26.74 4.40	0.86 0.96 0.9261 0.0239	1.02 1.08 1.0394 0.0137
3	Minimum Maksimum Ortalama St. sapma	23.28 156.04 70.83 26.56	17.83 45.02 30.47 5.38	0.88 0.97 0.9280 0.0187	1.02 1.07 1.0382 0.0105

NA: Nükleer alan, NÇ: Nükleer çevre, YF: Yuvarlaklık faktörü Yİ: Yuvarlaklık indeksi



Grafik 1: Histolojik grade ile nükleer alan arasındaki ilişki ($p < 0.05$)



Grafik 2: Histolojik grade ile nükleer çevre arasındaki ilişki ($p < 0.05$)

İkili karşılaştırmalarda grade-1 ve grade-2 ile grade-1 ve grade-3 arasında bütün morfometrik parametreler açısından anlamlı farklılık olduğu saptandı ($p<0.05$). Histolojik grade'e göre grupların morfometrik parametreler açısından ikili karşılaştırmaları Tablo-8'de özetlenmiştir.

Tablo-8:

Gruplar	p	Sig.
1-2 ONA	0.000	<0.05
ONÇ	0.008	<0.05
OYF	0.006	<0.05
OYİ	0.006	<0.05
1-3 ONA	0.000	<0.05
ONÇ	0.008	<0.05
OYF	0.005	<0.05
OYİ	0.005	<0.05
2-3 ONA	0.002	<0.05
ONÇ	0.000	<0.05
OYF	0.978	>0.05
OYİ	0.978	>0.05

ONA: Ortalama nükleer alan, ONÇ: Ortalama nükleer çevre, OYF: Ortalama yuvarlaklık faktörü, OYİ: Ortalama yuvarlaklık indeksi

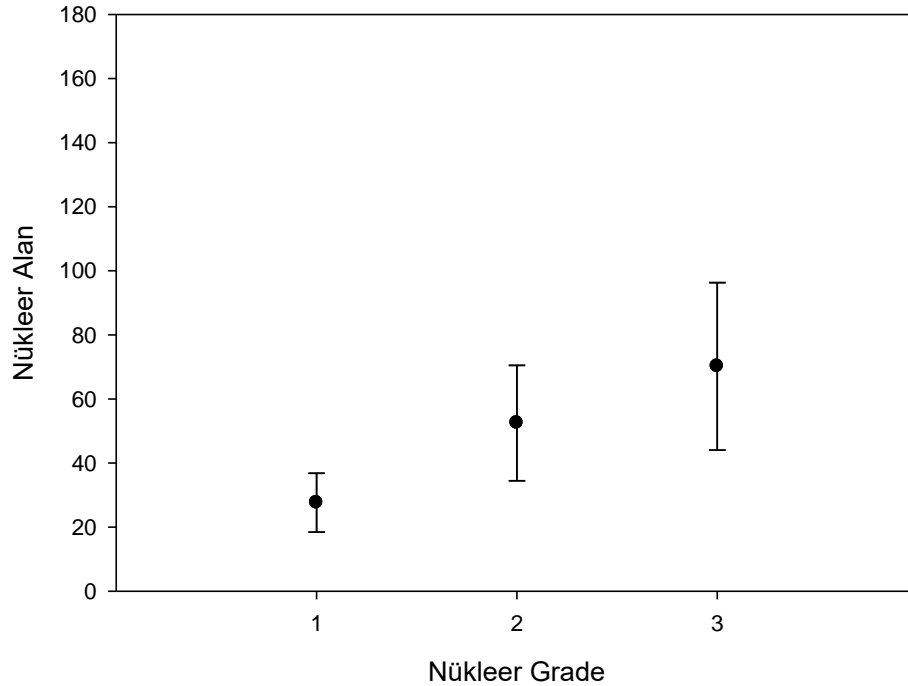
Nükleer grade'e göre olguların morfometrik parametreleri karşılaştırıldığında;

Her 3 grup arasında nükleer alan, nükleer çevre, yuvarlaklık faktörü ve yuvarlaklık indeksi açısından anlamlı farklılık saptandı ($p<0.05$). Nükleer grade arttıkça nükleer alan ve çevre değerlerinin de arttığı dikkati çekti.

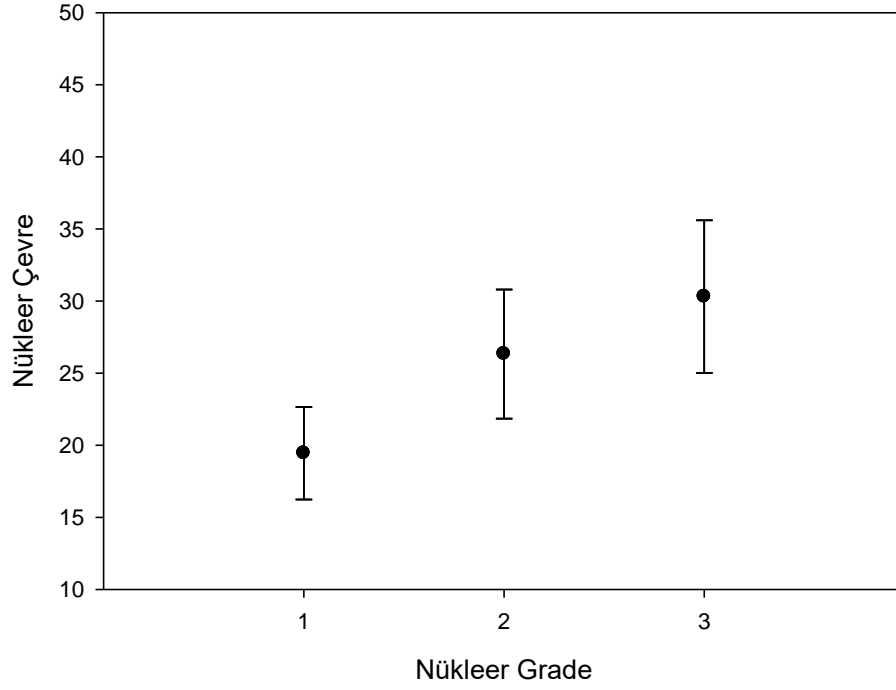
Tablo-9: Nükleer grade'e göre olguların nükleer morfolometrik değerleri

Nükleer grade	NA(μm^2)	NÇ(μm)	YF	Yİ
1 Minimum	17.80	15.99	0.87	1.04
1 Maksimum	38.38	23.16	0.92	1.07
1 Ortalama	27.61	19.44	0.8953	1.0569
1 St. sapma	9.18	3.20	0.0162	0.0095
2 Minimum	21.72	17.50	0.86	1.02
2 Maksimum	94.03	35.97	0.96	1.08
2 Ortalama	52.49	26.32	0.9231	1.0411
2 St. sapma	18.01	4.47	0.0233	0.0134
3 Minimum	23.28	17.83	0.88	1.02
3 Maksimum	156.04	45.02	0.97	1.07
3 Ortalama	70.16	30.30	0.9296	1.0373
3 St. sapma	26.16	5.29	0.0191	0.0107

NA: Nükleer alan, NÇ: Nükleer çevre, YF: Yuvarlaklık faktörü Yİ: Yuvarlaklık indeksi



Grafik 3: Nükleer grade ile nükleer alan arasındaki ilişki ($p < 0.05$)



Grafik 4: Nükleer grade ile nükleer çevre arasındaki ilişki ($p < 0.05$)

İkili karşılaştırmalarda grade-1 ve grade-2 ile grade-1 ve grade-3 arasında bütün morfolometrik parametreler açısından anlamlı farklılık saptandı ($p < 0.05$). Nükleer grade'e göre grupların morfolometrik parametreler açısından ikili karşılaştırmaları Tablo-10'da özetlenmiştir.

Tablo-10:

Gruplar	p	Sig.
1-2 ONA	0.001	<0.05
ONÇ	0.001	<0.05
OYF	0.005	<0.05
OYİ	0.005	<0.05
1-3 ONA	0.000	<0.05
ONÇ	0.000	<0.05
OYF	0.002	<0.05
OYİ	0.002	<0.05
2-3 ONA	0.001	<0.05
ONÇ	0.001	<0.05
OYF	0.220	>0.05
OYİ	0.220	>0.05

ONA: Ortalama nükleer alan, ONÇ: Ortalama nükleer çevre, OYF: Ortalama yuvarlaklık faktörü, OYİ: Ortalama yuvarlaklık indeksi

Tübül formasyonu açısından 2 ve 3 puan alan olgular arasında morfolometrik parametreler karşılaştırıldığında;

Nükleer alan açısından iki grup arasında anlamlı farklılık saptanırken nükleer çevre, yuvarlaklık faktörü ve yuvarlaklık indeksi açısından anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0.05$). 3 puan alan olguların nükleer alan ve çevre değerlerinin daha yüksek olduğu dikkati çekti.

Mitotik aktivite açısından olguların morfolometrik parametreleri karşılaştırıldığında;

Her 3 grup arasında nükleer alan ve nükleer çevre açısından anlamlı farklılık saptandı ($p<0.05$). İkili karşılaştırmalarda 1 ve 2 puan alan olgular ile 1 ve 3 puan alan olgular arasında nükleer alan ve nükleer çevre

açısından anlamlı farklılık bulundu ($p<0.05$). 2 ve 3 puan alan olgular arasında ise bu parametreler açısından fark tespit edilmedi ($p>0.05$). Mitoz sayısı arttıkça nükleer alan ve çevre değerlerinde artış olduğu dikkati çekti.

Nekroz varlığı, tümör çapı ve lenf nodu yayılım durumu ile morfometrik parametreler karşılaştırıldığında;

Nekroz olan ve olmayan olgular arasında, tümör çapına göre T1, T2 ve T3 olan olgular arasında ve lenf nodu metastazı olan ve olmayan olgular arasında nükleer alan, nükleer çevre, yuvarlaklık faktörü ve yuvarlaklık indeksi açısından anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Lenf nodu metastazı olan olgularda olmayanlara göre daha yüksek nükleer alan ve çevre değerleri olduğu dikkati çekti.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Meme kanseri dünyada kadınlar arasında en sık görülen malign tümör olup, kadınlarda görülen tüm kanserlerin yaklaşık %30'unu oluşturmaktadır. Avrupa'da yılda 180 bin, Amerika'da yılda 184 bin yeni olgu saptanmaktadır (5-6). 1948-1985 yılları arasında kadınlarda kanser nedeniyle oluşan ölümlerin %80'i meme kanserine bağlı iken, 1985'ten itibaren akciğer kanseri, kansere bağlı ölüm nedenleri sıralamasında meme kanserini geçmiştir (7).

İnvaziv duktal karsinomalı hastalar için en önemli prognostik faktörler aksiller lenf nodu durumu, tümör çapı ve histolojik grade'dir (24). Histolojik grade'in belirlenmesinde kullanılan parametreler ise tübül formasyonu, nükleer pleomorfizm ve mitotik aktivitedir (27). Meme kanserinde, nükleer ve yapısal özellikler tarafından tespit edilen tümör grade'inin sağkalımın belirleyicisi olduğu gösterilmiştir (21,27,32). Tümör grade'inin bu amaçla kullanımı, farklı gözlemcilerin gözlemleri arasında tekrarlanabilirliğinin zayıf olması nedeniyle sınırlıdır (81).

Theissig ve arkadaşları (91) tarafından yapılan 166 olguluk çalışmada, invaziv duktal karsinoma olgularında Bloom-Richardson kriterleri kullanılarak belirlenmiş histolojik grade'in, prognostik önemi ve tekrarlanabilirliği araştırılmıştır. 3 patoloğ tarafından bağımsız olarak değerlendirilmiş histopatolojik grade'lerin, olguların %72.3'ünde korele olduğu tespit edilmiştir.

Tümör diferansiasyonunun histolojik olarak grade'lenmesi prognostik öneme sahiptir (25). Histolojik kesitler üzerinde morfolojik ve sitolojik özelliklerin değerlendirilmesi ile yapılan malignite grade'lemesi, oldukça subjektif ve tekrarlanabilirliği zayıf olan kriterlere dayanmaktadır. Grade'lemenin solid kanserli hastaların spesifik tedavi seçimi ve prognoz

tahminindeki bilimsel ve klinik önemi açısından, bu şekilde yapılan bir değerlendirme uygun olmayabilir. Bu yüzden malignite grade'lemesi yapılırken histopatolojik disiplin içinde daha objektif yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır (92). Dijital görüntü analiz teknolojisi ve bilgisayarlı sınıflama sistemlerindeki gelişmeler, tümör grade'lemesindeki problemler için potansiyel çözümler sunmaktadır. Mikroskop tabanlı görüntü sistemleri, ayrı ayrı hücreler ya da nükleus üzerinde çok sayıda ölçümün yapılabilmesine olanak sağlamaktadır (81). Son yıllardaki çalışmalarda, nükleus şeklinin değerlendirilmesine yönelik bilgisayar aracılı morfometrik analizlerde de artış saptanmaktadır. Bu çalışmaların çoğunda nükleer kontur indeksi, şekil faktörü ve nükleer yuvarlaklık faktörü gibi çevre/alan ölçülerinin oranlarına dayanan nükleer şekil faktörleri kullanılmaktadır (93).

Nükleer morfometri, kanserli hastaların tanısında ve prognozlarının belirlenmesinde objektivite sağladığı için kantitatif patoloji içinde yaygın şekilde kullanılmaktadır (94). Bedrossian ve arkadaşları tarafından meme kanserinin prognozunun belirlenmesinde, ağırlıklı olarak histopatolojik ve sitopatolojik örneklerin morfolojik karakteristiklerine dayanan, objektif ve tekrarlanabilir kriterlere ihtiyaç olduğu belirtilmiştir (83). Nükleer morfometrinin üstün tekrarlanabilirliği meme kanserli hastalarda da rapor edilmiştir (84,85). Meme tümörlerindeki önemli prognostik faktörler ile çeşitli morfometrik parametreler arasındaki ilişki, yapılan bir çok çalışmada araştırılmıştır.

Kronqvist ve arkadaşları (95) tarafından yapılan bir çalışmada, invaziv meme kanserli hastalarda nükleer morfometrik ölçümlerin tekrarlanabilir olup olmadığı araştırılmıştır. Morfometrik parametreler içinde ortalama nükleer alan ve nükleer alanın standart sapmasının yüksek oranda tekrarlanabilir parametreler olduğu gösterilmiştir.

Aaltomaa ve arkadaşlarının (96) yaptıkları çalışmada aksiller lenf nodu durumu, tümör çapı, histolojik grade ve morfometrik parametrelerin meme kanserli hastalarda, hastalıkla ilişkili sağkalımın belirleyicisi olduğu rapor edilmiştir.

Meme kanserinde ortalama nükleer alanın önemli prognostik bir faktör olduğu çeşitli yayınlarda gösterilmiştir (97-99). Ortalama nükleer alanın prognostik önemi histolojik grade ile eşit bulunmuştur (100). Mitotik indeks, tümör çapı ve lenf nodu durumu gibi parametrelerle kombine edildiği zaman nükleer alanın prognostik belirleyiciliği daha ön plana çıkmaktadır (101).

Skjorten ve arkadaşlarının (102) yaptığı bir çalışmada 403 tane meme spesmeninde meme gland epitelinin ortalama nükleer alanı ölçülmüştür. Olguların 239 tanesi invaziv karsinoma (166 tane invaziv duktal karsinoma, 31 tane invaziv lobüler karsinoma ve 42 tane spesifik tip), 49 tanesi in situ duktal karsinoma (47 tane in situ duktal ve 2 tane in situ lobuler karsinoma), 60 tanesi intraduktal hiperplazi içermeyen fibrokistik hastalık, 45 tanesi intraduktal hiperplazili fibrokistik hastalık olup olguların 170 tanesinde de benign ya da malign lezyonlara komşu normal meme dokusunda ölçüm yapılmıştır. Bütün meme lezyonlarının ortalama nükleer alan değerleri normal meme dokusundan belirgin olarak yüksek bulunmuştur. İnvaziv duktal karsinoma ve duktal karsinoma in situ olgularının nükleer alan değerleri arasında fark saptanmazken invaziv lobuler karsinomalı olgularda, invaziv duktal karsinoma olgularından belirgin olarak daha düşük değerler elde edilmiştir. İnvaziv karsinomanın spesifik tiplerinde (medüller, apokrin, papiller ve müsinöz), invaziv duktal karsinomadan daha yüksek nükleer alan değerleri saptanmıştır. İntraduktal hiperplazili fibrokistik hastalıkta ise normal meme epitelinden %50 daha yüksek değerler elde edilmiştir. Bu bulgulara dayanarak normal meme epitelinden fibrokistik hastalık ve invaziv karsinomlara doğru gidildikçe ortalama nükleer alanda yavaş bir artış olduğu, ortalama nükleer alanın meme duktus epitelinin proliferatif aktivitesinin ölçümünde yardımcı olabileceği belirtilmiştir.

Baak ve arkadaşlarının (97) yaptığı bir çalışmada, 271 tane meme kanseri olgusunda klasik prognostik faktörlere karşılık morfometrinin prognostik önemi araştırılmıştır. Olguların 146 tanesinde lenf nodu tutulumu saptanırken 125 olguda nodal yayılım gözlenmemiştir. Tümör çapı 0.5-10 cm arasında değişmekte olup ortalama çap 2.7 cm olarak bulunmuştur. Her bir olguda 25 hücre seçilerek nükleer alan, çevre ve şekil faktörü hesaplanmıştır. Bu parametreler dışında mitotik aktivite indeksi, sellülarite indeksi, nükleus-sitoplazma oranı ve nükleolar-nükleer alan oranı da elde edilmiştir. Tek değişkenli analiz ile lenf nodu durumu, tümör çapı, nükleer ve histolojik grade ile morfometrik parametrelerden mitotik aktivite indeksi ve nükleer alanın prognostik açıdan anlamlı olduğu gösterilmiştir.

Wolberg ve arkadaşları (103) tarafından yapılan bir çalışmada, 353 tane invaziv meme kanserli hastada, meme kanseri prognozunun belirleyicileri olan lenf nodu durumu ve tümör çapına karşı nükleer alan ve çevreyi de içeren 10 tane morfometrik parametre ile prognoz arasındaki ilişki karşılaştırılmıştır. Çok yönlü analizlerde en güçlü prognostik faktörlerin nükleer alan, tümör çapı ve aksiller lenf nodu tutulum durumu olduğu tespit edilmiştir. Nükleer alanın kötü prognoz habercisi olduğu ve tümör çapının, aksiller lenf nodu durumundan daha güçlü bir prognostik faktör olduğu saptanmıştır. Tümör çapı ve lenf nodu durumunun prognostik öneminin, bilgisayar tabanlı görüntü analizi ile birlikte değerlendirilmesi gerektiği belirtilmiştir.

Frierson ve arkadaşları (24) 34 tane invaziv duktal karsinoma olgusunda, nükleer alanı da içeren 18 tane morfometrik parametreyi prognostik faktörlerle karşılaştırmışlardır. Nükleer alan ile histolojik grade, nükleer grade ve mitotik skor arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. Lenf nodu tutulumu olan ve olmayan olgular arasında nükleer alan açısından anlamlı farklılık saptanırken tümör çapı ve tübül formasyonu ile nükleer alan arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir. Bizim çalışmamızda histolojik grade, nükleer grade, tübül formasyonu ve mitotik skor ile nükleer alan arasında

anlamli iliŒki saptanirken tümör çapı ve lenf nodu durumu ile nükleer alan arasında böyle bir iliŒki gözlenmedi.

Ikpat ve arkadaŒları (104) 1983-1999 yılları arasında Nijerya-Calabar'da invaziv meme kanseri tanısı almıŒ 300 olguyu içeren bir alıŒma yapmıŒlardır. Bu alıŒmada olguların nükleer morfometrik özellikleri ve nükleer morfometrinin prognostik potansiyeli analiz edilmiŒtir. Olgulara ait H&E boyalı preparatlar incelenerek WHO 1981'e göre tiplendirme ve Bloom-Richardson sistemi ile grade'leme yapılmıŒtır. 242 tane invaziv duktal karsinoma, 10 tane invaziv lobüler karsinoma ve 48 tane diğer meme karsinomu tipleri alıŒmaya dahil edilmiŒtir. Nükleer morfometrik alıŒmada her bir olgu için 50 hücre seilmiŒ, mikrometre birimi kullanılarak alan, evre, çap, en uzun ve en kısa eksen hesaplanmıŒtır. Olguların 236 tanesinde (%78.7) lenf nodu pozitif olup 64 tanesinde (%21.3) lenf nodu metastazı saptanmamıŒtır. Tümör apı 1-11 cm arasında olup ortalama çap 5.3 cm olarak bulunmuŒ ve olgular tümör çapına göre 3 cm altında ve üstünde olmak üzere iki gruba ayrılarak incelenmiŒtir. Ortalama nükleer alan, lenf nodu pozitif olanlarda negatif olanlara göre ve tümör çapı 3 cm'nin üzerinde olanlarda 3 cm'nin altında olanlara göre anlamli Œekilde yüksek bulunmuŒtur. Ayrıca nükleer alan ile histolojik grade, nekrozun boyutu, tümör büyüklüğü ve klinik evre arasında anlamli iliŒki tespit edilmiŒtir. İnvaziv duktal karsinomalı olgularda invaziv lobüler karsinoma ve diğer meme kanseri tiplerine göre belirgin olarak yüksek ortalama nükleer alan değerleri elde dilmiŒtir. eŒitli nükleer parametreler arasında nükleer alanın sürekli en değerli prognostik faktör olduğu ortaya ıkmıŒtır. Ortalama nükleer alanın bütün materyal içinde istatistiksel olarak anlamli prognostik faktör olduğu tespit edilmiŒtir. Bizim alıŒmamızda nükleer alan ve evre açısından histolojik grade-1, 2 ve 3 tümörler arasında anlamli farklılık saptandı. Lenf nodu yayılım durumu, tümör çapı ve nekroz varlığı ile bu iki parametre arasında anlamli iliŒki tespit edilmedi.

Larsimont ve arkadaşları (105) tarafından yapılan çalışmada 37 invaziv duktal karsinoma olgusunda morfometrik parametrelerden nükleer alan, proliferasyon indeksi ve nükleer optikal yoğunluk ile Bloom-Richardson skoru arasındaki ilişki araştırılmıştır. Olgular aldıkları toplam skora göre 6 gruba ayrılmıştır. Nükleer alan ve Bloom-Richardson skoru arasında belirgin pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Ayrıca skor arttıkça nükleer alanda da belirgin artış saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da nükleer alan açısından histolojik grade-1, 2 ve 3 tümörler arasında anlamlı farklılık saptanırken histolojik grade arttıkça nükleer alanda da artış olduğu dikkati çekti.

Tahlan ve arkadaşları (106) tarafından yapılan çalışmada 25 tane invaziv duktal karsinoma olgusunun ince iğne aspirasyon materyalleri değerlendirilmiş ve bütün olguların rezeksiyon spesmenleri üzerinde histolojik çalışma yapılmıştır. Morfometrik parametre olarak nükleer alan, nükleer çevre, nükleer yuvarlaklık ve nükleer çap hesaplanmıştır. Histoloji altın standart olmakla birlikte sitolojik ve histolojik grade arasındaki uyum %76 olarak bulunmuştur (25 olgunun 19'unda). Histolojik grade arttıkça nükleer alanda artış saptanmıştır. Histolojik olarak grade-1 ile grade-2 ve grade-1 ile grade-3 arasında bütün morfometrik parametreler açısından belirgin farklılık bulunurken grade-2 ve grade-3 arasında fark tespit edilmemiştir.

Bizim çalışmamızda grade-1 tümörlerden grade-2 ve 3'e doğru gidildikçe ortalama nükleer alan ve ortalama nükleer çevre değerlerinde artış ve 3 grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptandı. Grupların ikili karşılaştırmalarında da bu parametreler açısından anlamlı farklılık tespit edildi. Nükleer yuvarlaklık açısından ise grade-1, 2 ve 3 arasında anlamlı farklılık tespit edilirken ikili karşılaştırmalarda grade-2 ve 3 arasında fark saptanmadı.

Çeşitli çalışmalarda meme kanseri grade'lemesinin prognostik öneme sahip olduğu gösterilmiştir. Doku kesitlerinde cerrahi patoloj

tarafından belirlenmiş olan nükleusun sitolojik değerlendirmesine dayanan nükleer grade, meme kanseri için yapılan grade'lemede temel parametredir. Nükleer grade'in olumsuz noktaları, değerlendirmenin subjektif bir yapıya sahip olması ve tekrarlanabilir sonuçların olmamasıdır. Bu konuda daha objektif bir değerlendirme yapılabilmesi amacıyla bilgisayarlı görüntü analiz çalışmaları sitopatoloji içine de alınmıştır (106).

Pranab ve arkadaşlarının (107) yaptıkları çalışmada histolojik olarak desteklenmiş 24 tane invaziv duktal karsinoma (9 tane sitolojik grade-1, 10 tane grade-2 ve 5 tane grade-3) ve 10 tane fibroadenoma olgusuna ait H&E ile boyanmış ince iğne aspirasyon sitoloji yaymaları sitolojik grade ve otomatik görüntü morfometri analizi için seçilmiştir. İki patolog tarafından bağımsız şekilde Robinson grade'leme sistemi kullanılarak meme kanseri grade'lemesi yapılmıştır. Her olgu için 100 hücre seçilmiş ve mikrometre birimi kullanılarak her bir nükleus için nükleer alan, konveks alan, nükleer alanın standart sapması, çap, çevre ve konveks çevre ölçümü yapılmıştır. Bütün nükleer parametrelerin ortalamaları benignenden grade-1, 2 ve 3 tümörlere doğru gidildikçe artış göstermiştir. Ayrıca grade-1 tümörlere göre grade-2 ve 3 tümörlerde nükleer parametrelerde belirgin artış tespit edilmiştir. Fakat grade-2 ve 3 tümörler arasında belirgin farklılık saptanmamıştır.

Giardiani ve arkadaşlarının (108) yaptıkları bir çalışmada 57 tane meme kanseri aspirasyon yaymasında, nükleusun kontur düzensizliklerini ve asimetrisini gösteren nükleer alan, çevre, maksimum çap ve yuvarlaklık faktörü çalışılmıştır. Olgular tümör çapına göre T1 (<2cm,18 olgu) ve T2 (>2cm,<5cm,39 olgu) olmak üzere 2 gruba ayrılmıştır. T1 tümörler içinde, lenf nodu metastazı olan ve olmayan tümörlerin ayrımında bütün parametreler açısından yüksek oranda istatistiksel anlamlılık bulunmuştur. T2 tümörler arasında ise morfometrik parametreler açısından fark tespit edilmemiştir. Büyük tümörlere göre küçük çaptaki tümörlerde agresifliğin, nükleer boyut ve şekil bozukluğundaki artışla daha fazla ilişkili olduğu belirtilmiştir.

İnvaziv duktal karsinoma dışında duktal karsinoma in situ ile ilgili morfometrik çalışmalar da yapılmıştır. Tan ve arkadaşları (109) tarafından 64 tane duktal karsinoma in situ olgusunda patolojik parametreler ile nükleer morfometri arasındaki ilişki araştırılmıştır. Patolojik parametreler olarak tümör çapı, nükleer grade, nekroz varlığı, hücre polarizasyonu ve yapısal alt tip değerlendirilirken nükleer morfometri içinde nükleer alan, nükleer çevre, şekil faktörü (feret circle) ve feret oran (minimum feret çap/maksimum feret çap) çalışılmıştır. Her bir olgu için rastgele 150 tane hücre seçilmiştir. Olguların 20 tanesi grade-1, 24 tanesi grade-2 ve 20 tanesi grade-3 olup 19 tanesinde nekroz saptanırken 45 tanesinde nekroz tespit edilmemiştir. Tümör çapı 0.5-9 cm arasında değişmekte olup ortalama çap 1.5 cm olarak bulunmuştur. 39 olguda hücre polarizasyonu gözlenirken 25 olguda gözlenmemiştir. Alt tip olarak 13 tane komedo, 4 tane kribriiform, 10 tane papiller, 1 tane solid ve 34 tane mikst tipte olgu tespit edilmiştir. En anlamlı ilişki nükleer alan ve çevre ile nükleer grade arasında olmakla birlikte, nükleer alan ve çevre ile bütün patolojik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olduğu saptanmıştır. Yüksek grade'li olgularda yüksek nükleer alan ve çevre değerleri tespit edilmiştir. Feret circle ve feret oran ile patolojik parametreler arasında böyle bir ilişki bulunmamıştır. İstatistiksel açıdan en anlamlı ilişkinin nükleer grade ile nükleer morfometri arasında olmasının, kantitatif morfometrik yöntemler aracılığı ile belirlenmiş nükleer grade'in objektifliğini ve tekrarlanabilirliğini geçerli kıldığı belirtilmiştir.

Bizim çalışmamız invaziv duktal karsinoma olguları arasında yapılmış olsa da yukarıdaki çalışmanın bazı bulguları ile paralellik göstermektedir. Çalışmamızda histolojik ve nükleer grade ile nükleer alan, çevre ve şekil faktörü arasında anlamlı ilişki saptanmadı. Histolojik ve nükleer grade arttıkça daha yüksek nükleer alan ve çevre değerlerine ulaşıldı. Fakat tümör çapı, lenf nodu durumu ve nekroz varlığı ile morfometrik parametreler arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmedi.

Meme kanseri dışında diğer kanserlerle ilgili olarak yapılmış çeşitli morfolometrik çalışmalar da vardır.

Paraskevaku ve arkadaşları (110) renal hücreli karsinomalarda nükleer morfolometrinin kullanışlı olup olmadığını araştırdıkları çalışmalarında, 44 tane renal hücreli karsinoma olgusunda histolojik grade ile nükleer alan, çevre, elongasyon, yuvarlaklık, yoğunluk ve büyük eksen uzunluğunu karşılaştırmışlardır. Olgular iki patoloğ tarafından incelenerek histolojik grade'e göre 4 gruba ayrılmıştır. Bu 4 grup arasında, bütün morfolometrik parametrelerin ortalama değerleri açısından belirgin anlamlı farklılık tespit edilmiştir. Ayrıca yuvarlaklık ve yoğunluk hariç, histolojik grade arttıkça diğer parametrelerde belirgin artış dikkati çekmiştir. Renal hücreli karsinomanın grade'lemesinde, görüntü analizinin objektif ve tekrarlanabilir bir yöntem olduğu belirtilmiştir.

Salvesen ve arkadaşlarının (111) endometrial karsinomalarla ilgili yaptıkları çalışmada, morfolometrik nükleer grade'in histolojik grade, histolojik tip, DNA indeksi ve hormon reseptör konsantrasyonuna göre daha güçlü prognostik faktör olduğunu tespit etmişlerdir.

Ikeguchi ve arkadaşları (112), ilerlemiş mide kanserli hastalarda klinikopatolojik parametreler ve morfolometrik parametreler arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Nükleer morfolometrinin bu hastalarda, metastatik potansiyel için kullanışlı morfolojik bir belirleyici olduğunu rapor etmişlerdir. Çok değişkenli analizde nükleer alanın bağımsız prognostik faktör olduğu bulunmuştur.

Yaptığımız çalışmada invaziv duktal karsinoma olgularının nükleer morfolometrik özelliklerini araştırmayı, incelediğimiz morfolometrik parametreler ile meme kanserindeki histopatolojik parametreler ve önemli prognostik

faktörleri karşılaştırmayı amaçladık. Morfometrik çalışma ile 75 tane olgunun nükleer alan, nükleer çevre, yuvarlaklık faktörü ve yuvarlaklık indeksi değerleri hesaplanarak bu parametreler ile histolojik grade, nükleer grade, mitotik aktivite, tübül formasyonu, tümör çapı, lenf nodu durumu ve nekroz varlığı arasındaki ilişki araştırıldı.

Kaynaklardaki bulgular ile uyumlu olarak histolojik ve nükleer grade ile bütün morfometrik parametreler arasında anlamlı ilişki saptandı. Histolojik ve nükleer grade arttıkça nükleer alan ve çevre değerlerinde artış tespit edildi. İkili karşılaştırmalarda ise histolojik ve nükleer grade'e göre bütün ikili gruplar arasında nükleer alan ve çevre açısından anlamlı farklılık saptandı. Tümör çapı, lenf nodu yayılım durumu ve nekroz varlığı ile morfometrik parametreler arasında, kaynaklardaki bulgulardan farklı olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmedi. Özellikle tümör çapı ve lenf nodu durumu, hastaların prognozu ile birlikte incelendiğinde morfometrik parametreler açısından daha anlamlı sonuçlara ulaşılabileceği düşüncesindeyiz.

Çalışmamızda, istatistiksel açıdan en anlamlı ve güçlü ilişkinin nükleer morfometrik parametreler ile histolojik ve nükleer grade arasında olduğu tespit edilmiştir. Meme kanserinin prognozunun saptanmasında en önemli prognostik faktörlerden olan histolojik ve nükleer grade'in belirlenmesinde, nükleer morfometrinin objektif ve tekrarlanabilir bir yöntem olduğu kanısına varılmıştır. İncelenen olgu sayısı, morfometrik olarak değerlendirilen parametreler ve ölçülen nükleus sayısının artırılması, farklı görüntü analiz yöntemlerinin uygulanması ve prognostik bilgilerin de eklenmesi ile patolojik olarak benign ya da malign bir çok lezyonun kolay uygulanabilir, ucuz, objektif ve tekrarlanabilir yöntemler ile değerlendirilmesi sağlanabilir.

KAYNAKLAR

- 1) Rosen PP. Anatomy and Physiologic Morphology in Rosen's Breast Pathology Second edition, Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia; 2001, pp 1-21
- 2) Monaghan P, Perusinghe NP, Cowen P, Gusterson BA. Peripubertal human breast development. Anat Rec 226: 501-508; 1990
- 3) Wellings SR, Jensen HM, Marcum RG. An atlas of subgross pathology of the human breast with special reference to possible precancerous lesions. J Natl Cancer Inst 55: 231-273; 1975
- 4) Tavassoli FA. Pathology of the Breast Vol:1 Second edition, Appleton and Lange, Stamford, Connecticut; 1999, pp 1-25
- 5) Greenlee RT, Murray T, Bolden S, Wingo PA: Cancer statistics, 2000. CA Cancer J Clin 50: 7-33; 2000
- 6) Boring CC, Squires TS, Tong T: Cancer statistics 1993. CA Cancer J Clin 43: 4-26; 1993
- 7) Silverberg E, Lubera J: Cancer statistics 1987. CA Cancer J Clin 37: 2-19; 1987
- 8) Stanley K, Stjernsward J, Koraltchouk V: Cancer of the stomach, lung and breast. Mortality trends and strategies. World Health Stat Q Rep 41:107-126; 1988
- 9) Hoover R. Breast Cancer: Geographic, migrant, and time-trend patterns in: Fortner JSP(ed): Accomplishments in cancer research. New York: Lippincott-Raven, 1996
- 10) Güllüoğlu MG, İplikçi A. Meme Anatomisi. Topuz E, Aydın A, Dinçer M. Meme kanseri. Nobel Tıp Kitap Evi, İstanbul; 2003, syf 1-12
- 11) Üskent N. Meme kanserinin doğal seyri, gelişimi, risk faktörleri, dünyadaki dağılımı ve epidemiyolojisi. Karabece A. Olgular Işığında Meme Kanseri. Turgut Yayıncılık ve Ticaret, İstanbul; 2003, syf 1-15

- 12) Dupont WD, Page DL. Risk factors for breast cancer in women with proliferative breast disease. *N Engl J med* 312: 146-151; 1985
- 13) Concensus statement of the College of American Pathologists on breast disease. *Arch Pathol Lab Med.* 110: 171-173; 1986
- 14) Erkişi MK. Meme kanserinde prognostik ve prediktif faktörler. Karabece A. Olgular Işığında Meme Kanseri. Turgut Yayıncılık ve Ticaret, İstanbul; 2003, syf 91-98
- 15) Fisher ER, Gregorio RM, Fisher B, Redmond C, Vellios F, Sommers SC.:The pathology of invasive breast cancer. *Cancer* 36: 1-85; 1975
- 16) Fisher B, Bauer M, Wickerham DL et al: Relation of number of positive axillary lymph nodes to the prognosis of patients with primary breast cancer: an NSABP update. *Cancer* 52: 1551-1557; 1983
- 17) Carter CL, Allen C, Henson DE: Relation of tumor size, lymph node status and survival in 24.740 breast cancer cases. *Cancer* 63: 181-187; 1989
- 18) Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, Coates AS, Senn HJ: Meeting highlights: International Consensus Panel on the Treatment of Primary Breast Cancer. Seventh International Conference on Adjuvant Therapy of Primary Breast Cancer. *J Clin Oncol* 19: 3817-3827; 2001
- 19) ESMO Minimal Clinical Recommendation for diagnosis, adjuvant treatment and follow-up of primary breast cancer. *Ann Oncol* 12: 1047-1048; 2001
- 20) Bavbek S. Meme Kanserinde Prognostik Faktörler. Topuz E, Aydın A, Dinçer M. Meme Kanseri. Nobel Tıp Kitap Evi, İstanbul; 2003, syf 72-89
- 21) Davis BW, Gelber D, Goldhirsch A, et al. Prognostic significance of tumor grade in clinical trials of adjuvant therapy for breast cancer with axillary lymph node metastasis. *Cancer* 58: 2662-2670; 1986
- 22) Tuzlalı S. Memenin Malign Tümörlerinin Patolojik Özellikleri. Topuz E, Aydın A, Dinçer M. Meme Kanseri. Nobel Tıp kitap Evi, İstanbul; 2003, syf 242-261

- 23) Ellis IO, Scmhitt SJ, Sastre-Garau X et al. Invasive Breast Carcinoma in World Health Organization Classification of Tumours Pathology&Genetics of Tumours of The Breast and Female Genital Organs, IARC Pres Lyon, 2003, pp 9-59
- 24) Frierson HF, Wilbur DC, Gaffey MJ, Salmon I, Franquemont DW, Berean KW, Wolber RA, Kiss R. Quantitative image cytometry of infiltrating ductal carcinoma: Comparison with prognostic parameters and reproducibility of histological grade. *Hum Pathol* 27: 821-826; 1996
- 25) Wolberg WH, Street WN, Mangasarian OL. Importance of nuclear morphology in breast cancer prognosis. *Clin Cancer Res* 5: 3542-3548; 1999
- 26) Frierson HF, Wolber RA, Berean KW, Franquemont DW, Gaffey MJ, Boyd JC, Wilbur DC. Interobserver reproducibility of the Nottingham Modification of the Bloom-Richardson Histologic Grading Scheme for infiltrating ductal carcinoma. *Am J Clin Pathol* 103: 195-198; 1995
- 27) Rosen PP. Invasive Ductal Carcinoma in Rosen's Breast Pathology Second edition, Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia; 2001, pp 325-364
- 28) Haybittle JL, Blamey RW, Elston CW, Johnson J, Doyle PJ, Campbell FC, Nicholson RI, Griffiths K. A prognostic index in primary breast cancer. *Br J Cancer* 45: 361-366; 1982
- 29) Pinder SE, Murray S, Ellis IO, et al. The importance of the histologic grade of invasive breast carcinoma and response to chemotherapy. *Cancer* 83: 1529-1539; 1998
- 30) Rosen PP, Saigo PE, Braun DW Jr, et al. Predictors of recurrence in Stage I (T1N0M0) breast carcinoma. *Ann Surg* 193: 15-25; 1981
- 31) Le Doussal V, Tubiana-Hulin M, Friedman S, Hacene K, Spyrtos F, Brunet M. Prognostic value of histologic grade nuclear components of Scarff-Bloom-Richardson. An improved score modification based on a multivariate analysis of 1262 invasive ductal breast carcinoma. *Cancer* 643: 1914-1921;1989

- 32) Kronqvist P, Kuopio T, Collan Y. Morphometric grading in breast cancer: Thresholds for mitotic counts. *Hum Pathol* 29: 1462-1468; 1998
- 33) Collan YU, Kuopio T, Baak JP, et al. Standardized mitotic counts in breast cancer: Evaluation of the method. *Pathol Res Pract* 192: 931-941; 1996
- 34) Jannink I, Risberg B, van Diest PJ, et al. Heterogeneity of mitotic activity in breast cancer. *Histopathology* 29: 421-428; 1996
- 35) Dalton LW, Page DL, Dupont WD. Histologic grading of breast carcinoma: A reproducibility study. *Cancer* 73: 2765-2770; 1994
- 36) Simpson JF, Page DL. Status of breast cancer prognostication based on histopathologic data. *Am J Clin Pathol* 102: S3-S8: 1994 (suppl)
- 37) Parham DM, Hagen N, Brown RA. Simplified method of grading primary carcinomas of the breast. *J Clin Pathol* 45: 517-520; 1992
- 38) Kronqvist P, Kuopio T, Collan Y. Morphometric grading in breast cancer: Thresholds for tubular differentiation. *Br J Cancer* 82: 1656-1661; 2000
- 39) Fisher ER, Sass R, Fisher B. Pathologic findings from the national surgical adjuvant project for breast cancer (protocol no 4). Discriminants for tenth year treatment failure. *Cancer* 53: 712-723; 1984
- 40) Robbins P, Pinder S, de Klerk N, Dawkins H, Harvey J, Sterett G, Ellis IO, Elston CW. Histological grading of breast carcinomas: A study of interobserver agreement. *Hum Pathol* 26: 873-879; 1995
- 41) Schumacher M, Schmoor C, Sauerbrei W, Schauer A, Ummenhof L, Gatzmeier W, Rauschecker H. The prognostic effect of histological tumour grade in node-negative breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 25: 235-245; 1993
- 42) Todd JH, Dowle C, Williams MR, Elston CW, Ellis IO, Hinton C, Blamey RW, Haybittle JL. Confirmation of a prognostic index in primary breast cancer. *Br J Cancer* 56: 489-492; 1986

- 43) Elston CW; Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histologic grade in breast cancer: Experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 19: 403-410; 1991
- 44) Wolberg WH, Street WN, Mangasarian OL. Computer-derived nuclear features compared with axillary lymph node status for breast carcinoma prognosis. *Cancer Cytopathol* 81: 172-179; 1997
- 45) Koscielny S, Tubiana M, le MG, Valleron AJ, Mouriesse H, Contesso G, Sarrazin D. Breast cancer: relationship between the size of the primary tumour and the probability of metastatic dissemination. *Br J Cancer* 49: 709-715; 1984
- 46) Rosen PR, Groshen S, Saigo PE, Kinne DW, Hellman S. A long-term follow-up study of survival in stage I (T1N0M0) and stage II (T1N1M0) breast carcinoma. *J Clin Oncol* 7: 355-366; 1989
- 47) Hellman S. Karnofsky Memorial Lecture. Natural history of small breast cancers. *J Clin Oncol* 12: 2229-2234; 1994
- 48) Gilchrist KW, Gray R, Fowble B, et al. Tumour necrosis is a prognostic predictor for early recurrence and death in lymph node-positive breast cancer: a 10-year follow-up study of 728 Eastern Cooperative Oncology Group patients. *J Clin Oncol* 11: 1929-1935; 1993
- 49) Jimenez RE, Wallis T, Visscher DW. Centrally necrotizing carcinoma: a distinct histologic subtype of breast cancer with aggressive clinical behavior. *Am J Surg Pathol* 25: 331-337; 2001
- 50) Singletary SE, Allred C, Ashley P, et al. Revision of the American Joint Committee on cancer staging system for breast cancer. *J Clin Oncol* 20: 3628-3636; 2002
- 51) Carducci MA, Piantadosi S, Pound CR et al. Nuclear morphometry adds significant prognostic information to stage and grade for renal cell carcinoma. *Urology* 53: 44-49; 1999

- 52) Sorensen FB. Quantitative analysis of nuclear size for objective malignancy grading: A review with emphasis on new, unbiased stereologic methods. *Lab Invest* 66: 4-23; 1992
- 53) Callaghan RC, Carda C, Pegdro-olaya A, Triche T, Bosch AL. Small round cell tumors of bone and soft tissue: A morphometric and stereometric comparative analysis of 119 cases. *Analyt Quant Cytol Histol* 17: 374-382; 1995
- 54) Geisler JP, Wiemann MC, Zhou Z, Miller GA, Geisler HE. Nuclear size, shape and summed optical density in endometrial cancer. *Int J Gynecol Cancer* 7: 139-143; 1997
- 55) Bacus JW, Boone CW, Follen M, Kelloff GJ, Kagan V, Lippman SM. Image morphometric nuclear grading of intraepithelial neoplastic lesions with applications to cancer chemoprevention trials. *Cancer Epidemiol Biomarkers and Prev* 8: 1087-1094; 1999
- 56) Bostwick DG, Amin MB, Dundore P, Marsh W, Schultz DS. Architectural patterns of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Hum Pathol* 24: 298-310; 1993
- 57) Bostwick DG. High grade prostatic intraepithelial neoplasia. The most likely precursor of prostate cancer. *Cancer (Phila.)* 75: 1823-1836; 1995
- 58) Bacus JW. Cervical cell recognition and morphometric grading by image analysis. *J Cell Biochem Suppl* 23: 33-42; 1995
- 59) Swank PR, Greenberg SD, Montalvo J, Hunter NR, Thompson JL, Winkler DG, Spjut HJ, Estrada R, Taylor GR. Classification of bronchial epithelial atypias by the atypia status index. *Anal Quant Cytol Histol* 5: 255-262; 1983
- 60) Mariuzzi GM, Mariuzzi L, Mombello A, Santinella A, Valli M, Rahal D, Thompson D, Bartels PH. Quantitative study of ductal breast cancer progression. A progression index (P.I) for premalignant lesions and in situ carcinoma. *Pathol Res Pract* 192: 428-436; 1996

- 61) Baak JPA. The principles and advances of quantitative pathology. *Anal Quant Cytol Histol* 9: 89-95; 1987
- 62) Özcan A, Kaya H, Celasun B, Küllü S. Prostatik adenokarsinomaların nükleer morfolometrik özellikleri. *Ankara Patoloji Bülteni* 17: 71-78; 2000
- 63) Sorenson FB, Braendgaard H, Chistiansen AO, et al. Stereological estimates of nuclear volume and other quantitative variables in supratentorial brain tumours. *J Neuro-Oncology* 10: 253-262; 1991
- 64) Hitoshi K, Yoichi K, Nobuo N, et al. Atypical adenomatous hyperplasia and bronchoalveolar lung carcinoma: analysis by morphometry and the expression of p53 and carcinoembryonic antigen. *Am J Surg Pathol* 20: 553-562; 1996
- 65) Mayhev TM. A review of recent advances in stereology for quantifying neural structure. *J Neurocytology* 21: 313-328; 1992
- 66) Aru A, Nielsen K. Stereological estimates of nuclear volume in primary lung cancer. *Pathol Res Pract* 185: 735-739; 1989
- 67) Diamond DA, Berry SJ, Jewett HJ, Eggleston JC, Coffey DS. A new method to assess metastatic potential of human prostate cancer; relative nuclear roundness. *J Urol* 128: 729-734; 1982
- 68) Mohler JL, Partin AW, Lohr WD, Coffey DS. Nuclear roundness factor measurement for assessment of prognosis of patients with prostatic carcinoma: I. Testing of a digitization system. *J Urol* 139: 1080-1084; 1988
- 69) Hytioglou P, Harpaz N, Heller DS, Liu Z, Deligdisch L, Gil J. Differential diagnosis of borderline and invasive serous cystadenocarcinomas of the ovary by computerized interactive morphometric analysis of nuclear features. *Cancer* 69: 988-992; 1992
- 70) Mulder J-WR, Offerhaus GJA, de Feyter EP, Floyd JJ, Kern SE, Vogelstein B, et al. The relationship of nuclear morphology to molecular genetic alterations in the adenoma-carcinoma sequence of the large bowel. *Am J Pathol* 141: 797-804; 1992

- 71) Pienta KJ, Coffey DS. Correlation of nuclear morphometry with progression of breast cancer. *Cancer* 68: 2012-2016; 1991
- 72) Mitmaker B, Begin LR, Gordon PH. Nuclear shape as a prognostic discriminant in colorectal carcinoma. *Dis Colon Rectum* 34: 249-259; 1991
- 73) Ikeguchi M, Sakatani T, Endo K, Makino M, Kaibara N. Computerized nuclear morphometry is a useful technique for evaluating the high metastatic potential of colorectal adenocarcinoma. *Cancer* 86: 1944-1951; 1999
- 74) Cagle PT, Langston C, Fraire AE, Roggli VL, Greenberg SD. Absence of correlation between nuclear morphometry and survival in Stage I non-small cell lung carcinoma. *Cancer* 69: 2454-2457; 1992
- 75) Henson DE. The histological grading of neoplasms. *Arch Pathol Lab Med* 112: 1091-1096; 1988
- 76) Galea MH, Blamey RW, Elston CE, Ellis IO. The Nottingham Prognostic Index in primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 22: 207-219; 1992
- 77) Mohler JL, Partin AW, Epstein JI, Lohr WD, Coffey DS. Nuclear roundness factor measurement for assessment of prognosis of patients with prostatic carcinoma: II. Standardization of methodology for histologic sections. *J Urol* 139: 1085-1090; 1988
- 78) Gutierrez JL, Val-Bernal JF, Garijo MF, Buelta L, Portillo JA. Nuclear morphometry in prognosis of renal adenocarcinoma. *Urology* 39: 130-134; 1992
- 79) Moroz K, Lipscomb J, Vial LJ, Dhurandhar N. Cytologic nuclear grade of malignant breast aspirates as a predictor of histologic grade: Light microscopy and image analysis characteristics. *Acta Cytol* 41: 1107-1111; 1997
- 80) Baak JPA, Kurver PHJ, De Snoo-Niewlaat AJE, De Graaf S, Makkink B, Boon ME. Prognostic indicators in breast cancer: Morphometric methods. *Histopathology* 6: 327-339; 1982

- 81) Dawson AE, Austin RE, Weinberg DS. Nuclear grading of breast carcinoma by image analysis: Classification by multivariate and neural network analysis. *Am J Clin Pathol* 95: 29-37; 1991
- 82) Delides GS, Garas G, Georgouli G, et al. Intralaboratory variations in the grading of breast carcinoma. *Arch Pathol Lab Med* 106: 126-128; 1982
- 83) Bedrossian CWM, Raber M, Barlogie B. Flow cytometry and cytomorphology in primary resectable breast cancer. *Analyt Quant Cytol* 3: 112-116; 1981
- 84) Ladekarl M. Quantitative histopathology in ductal carcinoma of the breast. *Cancer* 75: 2114-2122; 1995
- 85) Baak JPA, Ladekarl M, Sorenson FB. Reproducibility of mean nuclear volume and correlation with mean nuclear area in breast cancer. *Hum Pathol* 25: 80-85; 1994
- 86) Kronqvist P, Kuopio T, Jalava P, Collan Y. Morphometrical malignancy grading is a valuable prognostic factor in invasive ductal breast carcinoma. *Br J Cancer* 87: 1275-1280; 2002
- 87) Kunze KD, Haroske G, Dimmer V, Meyer W, Theissig F. Grading and prognosis of invasive ductal mammary carcinoma by nuclear image analysis in tissue sections. *Path Res Pract* 185: 689-693; 1989
- 88) Loud AV, Anversa P. Morphometric analysis of biologic processes. *Lab Invest* 50: 250-261; 1984
- 89) Crocker J. Morphometric and related quantitative techniques in the study of lymphoid neoplasms. A review. *J Pathol* 143: 69-80; 1984
- 90) Chan KW, Chiu KY, Fu KH, Ling JML. Observer variability in microcomputer-assisted morphometric study of nuclear parameters. *Pathology* 19: 407-409; 1987
- 91) Theissig F, Kunze KD, Haroske G, Meyer W. Histological grading of breast cancer. Interobserver reproducibility and prognostic significance. *Pathol Res Pract* 186: 732-736; 1990

- 92) Sorensen FB. Unbiased stereologic techniques for practical use in diagnostic histopathology. *Pathologica* 87: 262-278; 1995
- 93) Wydner KS, Godyn JJ, Lee ML, Sciorra LJ. A new approach to the computer-assisted quantitative analysis of nuclear shape. *Mod Pathol* 4: 154-160; 1991
- 94) Fleege JC, van Diest PJ, Baak JP. Systematic random sampling for selective interactive nuclear morphometry in breast cancer sections. Refinement and multiobserver evaluation. *Anal Quant Cytol Histol* 15: 281-289; 1993
- 95) Kronqvist P, Kuopio T, Collan Y, Horvath C, Tamm U. The reproducibility of nuclear morphometric measurements in invasive breast carcinoma. *Anal Cell Pathol* 15: 47-59; 1997
- 96) Aaltomaa S, Lipponen P, Eskelinen M, Kosma VM, Marin S, Alhava E, Syrjanen K. The significance of nuclear morphometric variables as prognostic predictors in breast cancer. *Anticancer Res* 11: 1663-1669; 1991
- 97) Baak JPA, Dop VH, Kruver PHJ, Hermans J. The value of morphometry to classic prognosticators in breast cancer. *Cancer* 56: 374-382; 1985
- 98) van der Linden HC, Baak JPA, Lindeman J, Hermans J, Meyer CJLM. Morphometry and breast cancer. II. Characterisation of breast cancer cells with high malignant potential in patients with spread to lymph nodes. preliminary results. *J Clin Pathol* 39: 603-609; 1986
- 99) Maehle BO, Skjaerven R. A prognostic index based on mean nuclear area of breast cancer cells and efferent vascular invasion in the axillary nodes. *Diagn Histopathol* 6: 221-228; 1983
- 100) Maehle BO, Thoresen S, Skjaerven R, Hartveit F. Mean nuclear area and histologic grade in breast cancer related to prognosis. *Br J Cancer* 46: 95-100; 1982
- 101) van der Linden HC, Baak JPA, Lindeman J, Hermans J, Meyer CJLM. Prospective evaluation of prognostic value of morphometry in primary breast cancer patients. *J Clin Pathol* 40: 302-306; 1987

- 102) Skjorten F, Kaaresen R, Jacobsen U, Skaane P, Amlies E. Nuclear morphometry of benign and malignant breast lesions. *Eup J Surg Oncol* 17: 350-353; 1991
- 103) Wolberg EH, Street WN. Computer-generated nuclear features compared with axillary lymph node status and tumour size as indicators of breast cancer survival. *Hum Pathol* 33: 1086-1091; 2002
- 104) Ikpatt OF, Kuopio T, Collan Y. Nuclear morphometry in African Breast Cancer. *Image Anal Stereol* 21: 145-150; 2002
- 105) Larsimont D, Kiss R, d'Oline D, de Launoit Y, Mattheiem W, Paridaens R, Pasteels JL, Verhest A. Relationship between computerized morphonuclear image analysis and histopathologic grading of breast cancer. *Anal Quant Cytol Histol* 11: 433-439; 1989
- 106) Tahlan A, Nijhawan R, Joshi K. Grading of ductal breast carcinoma by cytomorphology and image morphometry with histologic correlation. *Anal Quant Cytol Histol* 22: 193-198; 2000
- 107) Pranab D, Ghoshal S, Pattari SK. Nuclear image morphometry and cytologic grade of breast carcinoma. *Anal Quant Cytol Histol* 22: 483-485; 2000
- 108) Giardina C, Ricco R, Serio G, Vacca E, Pennella A, Renzulli G, Punzo C, Borzacchini AM, Delfino VP. Nuclear shape and axillary metastases in breast cancer. Analytic morphometry of aspiration smears. *Acta Cytol* 38: 341-346; 1994
- 109) Tan PH, Goh BB, Chiang G, Bay BH. Correlation of nuclear morphometry with pathologic parameters in ductal carcinoma in situ of the breast. *Mod Pathol* 14: 937-941; 2001
- 110) Paraskevaku E, Kavantzias N, Pavlopoulos PM, Delibasis A, Yova D, Davaris P. Computerized nuclear morphometry of renal cell carcinomas. *Gen Diagn Pathol* 142: 101-104; 1996
- 111) Salvesen HB, Iversen OE, Akslen LA. Prognostic impact of morphometric grade of endometrial carcinoma. *Cancer* 83: 956-964; 1998

112) Ikeguchi M, Saito H, Kondo A, Tsujitani S, Maeta M, Kaibara N. Computerized nuclear morphometry: a new morphologic assessment for advanced gastric adenocarcinoma. *Ann Surg* 229: 55-61; 1999

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında gösterdiği ilgi ve destekten dolayı tez hocam Prof.Dr.Şahsine Tolunay'a, üç yıl süren eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan tüm hocalarımıza ve uzmanlarımıza, değerli UÜTF Meme Cerrahisi Bilim Dalı hocalarımıza, tezime değişik aşamalarda yaptıkları katkılardan dolayı Doç.Dr.Gülaydan Filiz ve Doç.Dr.Ayberk Kurt'a, şimdiye kadar yan yana çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma, istatistik aşamasında yardımcı olan Araş.Gör.Güven Özkaya'ya, gösterdikleri sonsuz sevgi, sabır ve destek için aileme teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

13.11.1976 tarihinde Antalya'nın Manavgat ilçesinde doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi burada tamamladıktan sonra 1993 yılında Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi'ni kazandım. 1999 yılında mezun oldum. Bursa'nın Mustafakemalpaşa ilçesine bağlı Çaltılıbük Köyü'nde 2,5 yıl pratisyen doktor olarak çalıştım. 2002 Nisan ayında yapılan Tıpta Uzmanlık Sınavı'nı kazanarak 02.08.2002 tarihinde Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimime başladım.