







Meme Karsinomlarında Nükleer Morfometrinin Klinikopatolojik Prognostik Parametreler ve İmmünohistokimyasal ER, PR ve Cerb-B2 Ekspresyonları ile İlişkisi

Relation of Nuclear Morphometry with Clinicopathologic Prognostic Parameters and Immunohistochemical ER, PR and Cerb-B2 Expressions in Breast Carcinoma

Murat ÇELİK¹  Zeliha Esin ÇELİK¹  Pınar KARABAĞLI¹  Ceyhan UĞURLUOĞLU¹ 
Serdar ALTINAY²  Özlem ATA³ 

ÖZ

Amaç: Bilgisayarlı histomorfometrik analiz, meme karsinomlarını da içeren pek çok tümörün ayırıcı tanısında kullanılan bir araç olup, malign tümörlerin derecelendirilmesinde, prognoz ve tedavi yanıtının değerlendirilmesinde de denenmiştir. Bu çalışmada meme karsinomlarında nükleer morfometrik değişkenler ile klinikopatolojik prognostik parametreler ve immünohistokimyasal ER, PR, Cerb-B2 ekspresyonları arasındaki ilişkiyi araştırmak amaçlanmıştır.

Araçlar ve Yöntem: Çalışmada meme karsinomu tanısı alan 105 olguda, ortalama nükleus alanı (ONA), ortalama nükleus çevresi (ONÇ), ortalama nükleus uzun çapı (ONUÇ) ve ortalama nükleus kısa çapı (ONKÇ) dahil olmak üzere çeşitli nükleer morfometrik parametreler açısından değerlendirildi. Dijital görüntü analiz sistemi kullanılarak Hematoksilen-eosin ile boyanmış lamalar üzerinde, lezyon başına elli tümör hücre çekirdeğinde ölçümler yapıldı. Elde edilen veriler ile klinikopatolojik prognostik parametreler arasındaki ilişki istatistiksel yöntemler ile değerlendirildi.

Bulgular: Histolojik gruplar arasında, invaziv duktal karsinomada (IDK), diğer tümör gruplarına göre ONUÇ (p=0.04) daha yüksek saptanmıştır. Derece 3 IDK olgularında, derece 1 IDK olgularına göre ONKÇ (p=0.04); İnvaziv Lobler Karsinom olgularına göre de ONA (p<0.01), ONÇ (p=0.02), ONUÇ (p=0.01) ve ONKÇ (p=0.02) daha yüksek saptanmıştır. Tümör nekrozuna sahip olgularda, tümör nekrozu olmayan olgulara göre ONA (P=0.01), ONÇ (p<0.01), ONUÇ (P=0.01) ve ONKÇ (P<0.01) daha yüksek saptanmıştır. İmmünohistokimyasal olarak, Cerb-B2 pozitif meme karsinomlu olgular, Cerb-B2 negatif olgulara göre ONA (P<0.01), ONÇ (p=0.01), ONUÇ (P<0.01) ve ONKÇ (P=0.01) daha yüksek saptanmıştır.

Sonuç: Özellikle nükleus alanına dayalı nükleer morfometrik değerlendirme; tümör derecesi, histolojik subtip ve tümör nekrozu yanısıra Cerb-B2 ekspresyon profili ile ilişkili olduğundan prognostik değerlendirmede yol gösterici olabilir.

Anahtar Kelimeler: görüntü sitometrisi; immünohistokimya; karsinom; meme; prognoz

ABSTRACT

Purpose: Computerized histomorphometric analyses have been widely used as a diagnostic tool for the differential diagnosis of various tumors including breast carcinoma, as well as the grading of malignant tumors and evaluation of prognosis and therapeutic response. The aim of the present study is to determine the association between nuclear morphometric variables and clinicopathologic prognostic parameters including ER, PR, and Cerb-B2 expressions in breast carcinoma.

Materials and Methods: A hundred and five patients with breast carcinoma were evaluated in terms of various nuclear morphometric parameters, including mean nuclear area (MNA), mean nuclear perimeter (MNP), mean nuclear long diameter (MNLD), and mean nuclear short diameter (MNSD). Fifty tumor cell nuclei, per lesion, on Hematoxylin eosin-stained slides were measured using a digital image analysis system. The relation between calculated data and clinicopathologic prognostic parameters were assessed with statistical methods.

Results: Among histologic subtypes, invasive ductal carcinoma (IDC) had higher MNLD than other tumors group (p=0.04). Grade III IDC had higher MNA (p=0.04) and MNSD (p=0.02) than grade I IDC and higher MNA (p=0.01), MNP (p=0.02), MNLD (p=0.01), and MNSD (p=0.02) than invasive lobular carcinoma. MNA (p=0.01), MNP (p=0.009), MNLD (p=0.01), and MNSD (p=0.006) were higher in tumors having necrosis than tumors without necrosis. Immunohistochemically, Cerb-B2 positive tumors exhibited higher MNA (p=0.001), MNP (p=0.001), MNLD (p=0.001) and MNSD (p=0.001) than Cerb-B2 negative tumors.

Conclusion: Nuclear morphometric assessment, especially using MNA, is a valuable tool due to its significant association with clinicopathologic prognostic parameters including tumor grade, histologic subtype, tumor necrosis and Cerb-b2 expression profile.

Keywords: breast; carcinoma; image cytometry; immunohistochemistry; prognosis

Gönderilme tarihi: 19.02.2021, Kabul edilme tarihi: 04.03.2021

¹Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Konya, Türkiye.

²Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

³Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Onkoloji Anabilim Dalı, Konya, Türkiye.

Sorumlu Yazar: Öğr. Gör. Murat ÇELİK, Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Konya, Türkiye. e-posta: mcelik87@hotmail.com

Makaleye atf için: Çelik M, Çelik ZE, Karabağlı P, Uğurluoğlu C, Altınay S, Ata Ö. Meme karsinomlarında nükleer morfometrinin klinikopatolojik prognostik parametreler ve immünohistokimyasal er, pr ve cerb-b2 ekspresyonları ile ilişkisi. Ahi Evran Med J. 2021;5(2):95-102. DOI: 10.46332/aejmj.882653

GİRİŞ

Meme kanseri dünyada kadınlarda en sık görülen malignitedir. Mortalite riski akciğer karsinomundan sonra ikinci sırada yer alır.¹ Meme kanseri prognozunda lenf nodu tutulumu, tümör çapı, yaş, lenfovasküler invazyon, evre, histolojik derece, histolojik subtip, hormon resöptör durumu ve Cerb-B2 onkojen aşırı sentezi gibi çeşitli faktörler yer alır.²

Histolojik derece sistemi yüksek prognostik potansiyele sahiptir ancak hala subjektiftir ve prognozu belirsiz geniş bir hasta grubunu dışarda bırakır.^{3,4} Nükleer morfolometri pahalı olmayan donanımı, basit kullanım şekli ve tekrarlanabilir sonuçları ile rutin patoloji pratiğinde kolaylıkla kullanılmaya imkân sağlar.^{5,6} Bu konuda böbrek, tiroid, deri tümörleri gibi pek çok farklı organ neoplazmlarında yapılmış birçok çalışma mevcuttur.⁷⁻¹⁰

Çalışmamızda bilgisayarlı morfometrik ölçüm ile meme karsinomlarında tümör hücrelerinin nükleer morfometrik özelliklerinin tümör histolojik tipi, tümör derecesi, tümör evresi, lenfovasküler invazyon (LVI), perinöral invazyon (PNI), lenf nodu tutulumu, lenf nodlarında ekstrasüpler yayılım (EKS) varlığı, tümör çapı, tümör nekrozu varlığı gibi klinikopatolojik prognostik parametrelerle ilişkisini araştırmayı amaçladık. Bunun yanında literatürde az sayıda çalışmada değerlendirilmiş olan tümör hücrelerinde ER, PR, CerB-B2 immünohistokimyasal belirteçlerinin ekspresyon derecesi ile nükleer morfometrik parametreler (NMP) arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

ARAÇLAR ve YÖNTEM

Çalışmamızda 01.01.2010-01.11.2015 tarihleri arasında Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalına gönderilen mastektomi materyallerinden meme karsinomu tanısı alan ve ER, PR, CerbB2 immünohistokimyasal boyaları uygulanmış 105 olgu retrospektif olarak incelenmiştir.

Olgulara ait yaş, tümör çapı, lenf nodu tutulumu, tutulan lenf nodu sayısı, EKS, LVI, PNI, nekroz varlığı, histolojik subtip gibi prognostik parametreler ve immünohistokimyasal ER, PR, CerB-B2 boyanma sonuçlarına ait bilgiler hasta patoloji raporlarından elde edilmiştir. Hasta klinik evre ve uzak metastazına ait

bilgilere hastanemiz Onkoloji Polikliniğinde bulunan hasta dosyalarından ulaşılmıştır. Hastanemiz Onkoloji bölümünde takip edilmeyen, mastektomi öncesi neoadjuvan tedavisi alan, klinik bilgisine ulaşılamayan ve patolojik spesmeninin bulunamadığı olgular çalışmamıza dahil edilmemiştir.

Olgular 7. TNM evreleme sistemine göre gruplandırılmıştır.¹¹ Histopatolojik derecelendirme Bloom ve Richardson derecelendirme sistemine göre tekrar gözden geçirilerek yapılmıştır. İmmünohistokimyasal ER, PR ve Cerb-B2 boyamalarının değerlendirilmesi Onitilo ve ark.'nın¹² kullandığı kriterlere ve skorlama sistemine uygun olarak yapılmıştır. Buna göre immünohistokimyasal ER ve PR boyamaları, boyanma göstermeyen Grup 1; % 0-10 arası boyanma gösteren Grup 2; %10-75 arası boyanma gösteren Grup 3; %75 ve üstü boyanma gösteren Grup 4 olarak sınıflandırılmıştır. İmmünohistokimyasal Cerb-B2 boyanma, boyanma göstermeyen veya tümör hücrelerinin %10 veya azında, inkomplet ve soluk membranöz boyanma skor 0; tümör hücrelerinin %10'undan fazlasında, inkomplet ve soluk membranöz boyanma skor 1; tümör hücrelerinin %10'ndan fazlasında, inkomplet ve / veya zayıf orta derecede membranöz boyanma skor 2; tümör hücrelerinin %10'ndan fazlasında, komplet, kuvvetli membranöz boyanma skor 3 olarak sınıflandırılmıştır. Çalışmamızda tüm olgular yanı sıra invaziv duktal karsinom (invaziv karsinom, NST) olguları da kendi içerisinde NMP bakımından ayrıca değerlendirilmiştir.

Morfometrik Analiz

Nükleer morfometrik ölçüm için her bir olguya ait hematoksilen-eozin boyalı preparat seçilmiştir. Zeiss imager-D1 model ışık mikroskobuna bağlı Axio Vision Release 4.8.2 SP1 marka dijital görüntü analiz sistemi ile 400x büyük büyütme alanından fotoğraflar elde edilmiştir. Elde edilen fotoğraflardan bilgisayar faresi kullanılarak manuel olarak ölçümler yapılmıştır. Morfometrik parametre olarak her bir fotoğraf üzerinde ortalama 50 tümör hücresinin ortalama nükleus alanı (ONA), ortalama nükleus çevresi (ONÇ), ortalama nükleus uzun çapı (ONUÇ) ve ortalama nükleus kısa çapı (ONKÇ) ölçülüp, her olgu için ortalama değerler hesaplanmıştır. Tüm olgularla birlikte IDK'lı olgularda da kendi içinde NMP ile

prognostik faktörler arasındaki ilişki incelenmiştir. Üst üste binmiş, ezilme artefaktı gösteren, nükleus sınırları net seçilemeyen, nekrotik ve inflame alanlardaki tümör hücreleri ölçüme dahil edilmemiştir.

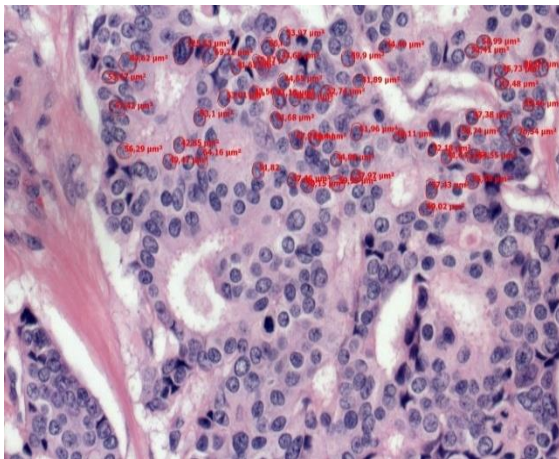
İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel olarak verilerin değerlendirilmesinde SPSS-18 (Scientific Package for Social Sciences) programı kullanılmıştır. Klinikopatolojik prognostik parametrelerin nükleer morфометrik parametreler ile olan ilişkisi bağımsız T-testi ve OneWay ANOVA testleri ile değerlendirilmiştir. İkili gruplar (Yaş, lenf nodu tutulum varlığı, EKY, LVİ, PNİ, tümör nekrozu varlığı) arasındaki karşılaştırma bağımsız T-testi ile yapılmıştır. İki'den çok gruplar (Çap, tutulan lenf nodu sayısı, histolojik derece, histolojik subtip, evre, ER, PR, Cerb-B2 ekspresyonu) arasındaki karşılaştırma OneWay ANOVA testi ile yapılmıştır. İstatistiksel anlamlılık $P < 0.05$ olarak kabul edilmiştir.

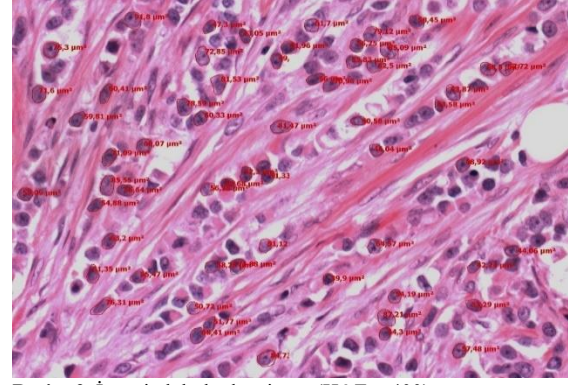
Bu retrospektif çalışma, 12 Ocak 2016 tarihinde 2016/5 sayılı Karar ile Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul tarafından onaylanmıştır.

BULGULAR

Çalışmamıza aldığımız tüm olgular kadındır ve yaş ortalaması 55'tir. Çalışmamızda 83 olgu (%79) invaziv duktal karsinom (IDK) (Resim 1),

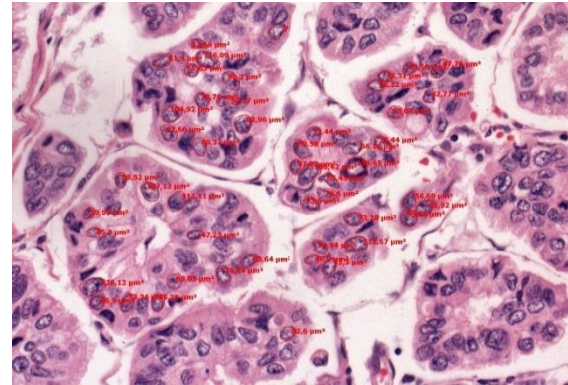


Resim 1. Derece 2 invaziv duktal karsinom (H&E, ×400).



Resim 2. İnvaziv lobüler karsinom (H&E, ×400).

3 olgu (%2.8) apokrin diferansiyasyon gösteren karsinom, 2 olgu (%1.9) müsinöz karsinom, 2 olgu (%1.9) tubüler karsinom, 1 olgu (%0.9) kribriform karsinom, 1 olgu (%0.9) sekretuar karsinom, 1 olgu (%0.9) nöroendokrin özellikler gösteren karsinom, 1 olgu (%0.9) medüller özellikler gösteren karsinom, 1 olgu (%0.9) invaziv papiller karsinom, 1 olgu (%0.9) invaziv mikropapiller karsinom (Resim 3) olarak belirlenmiştir.



Resim 3. İnvaziv mikropapiller karsinom (H&E, ×400).

Tüm olgularda, tümör nekrozuna sahip hastalar ile tümör nekrozu bulunmayan hastalar arasında ONA ($p=0.011$), ONÇ ($p=0.009$), ONUÇ ($p=0.014$) ve ONKÇ ($p=0.006$) bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmiştir. Buna göre tümör nekrozu olan olgularda ONA, ONÇ, ONUÇ ve ONKÇ tümör nekrozu olmayan hastalardan yüksek bulunmuştur (Tablo 1 ve 2). IDK'lı olgularda, tümör nekrozuna sahip hastalar ile tümör nekrozu bulunmayan hastalar arasında da ONÇ ($p=0.042$) ve ONKÇ ($p=0.018$) bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmiştir. Buna göre tümör nekrozu olan olgularda ONÇ ve ONKÇ tümör nekrozu olmayan hastalardan yüksektir (Tablo 1 ve 2).

Tablo 1. Tüm olgularda yaş, EKY, LVİ, PNİ, nekroz, uzak metastaz ve lenf nodu tutulumu ile NMP ilişkisi.

TÜM OLGULAR			ONA		ONÇ		ONUÇ		ONKÇ	
	N(%)		$\bar{x} \pm ss$	p	$\bar{x} \pm ss$	p	$\bar{x} \pm ss$	p	$\bar{x} \pm ss$	p
YAŞ	55<	56(%52.83)	57.54±19.80	0.947	28.32±5.14	0.959	8.63±1.58	0.569	8.69±1.67	0,959
	55>	50(%47.17)	57.31±14.66		28.28±3.91		8.79±1.22		8.68±1.18	
EKS	YOK	78(%73.58)	57.86±17.78	0.671	28.43±4.71	0.618	8.74±1.47	0.668	8.71±1.45	0,744
	VAR	28(%26.42)	56.21±16.87		27.92±4.24		8.60±1.25		8.60±1.47	
LNT	YOK	39(%36.79)	57.37±16.84	0.981	28.08±4.40	0.709	8.76±1.38	0.731	8.65±1.33	0,875
	VAR	67(%63.21)	57.46±17.96		28.42±4.70		8.66±1.44		8.70±1.53	
LVİ	YOK	63(%59.43)	58.62±17.86	0.398	28.62±4.60	0.383	8.81±1.42	0.325	8.75±1.45	0,537
	VAR	43(%40.57)	55.68±16.96		27.82±4.55		8.54±1.40		8.58±1.47	
NEKROZ	YOK	77(%72.64)	54.81±17.56	0.011*	27.59±4.68	0.009*	8.50±1.44	0.014*	8.45±1.46	0,006*
	VAR	29(%27.36)	64.36±15.48		30.17±3.75		9.24±1.19		9.31±1.24	
PNİ	YOK	90(%84.90)	57.83±17.49	0.577	28.43±4.49	0.483	8.73±1.38	0.639	8.73±1.41	0,45
	VAR	16(%15.1)	55.16±17.80		27.55±5.12		8.55±1.61		8.43±1.71	
UZAK METASTAZ	YOK	73(%68.86)	58.10±18.09	0.66	28.45±4.79	0.572	8.75±1.51	0.778	8.74±1.47	0,48
	VAR	9(%31.14)	60.88±14.58		29.39±3.53		8.90±0.80		9.11±1.35	

*(p<0,05) EKY: Ekstrakapsüler yayılım, LNT: Lenf nodu tutulumu, LVİ: Lenfovasküler invazyon, PNİ: Perinöral invazyon, NMP: Nükleer morfolojik parametreler, ONA: Ortalama nükleus alanı, ONÇ: Ortalama nükleus çevresi, ONUÇ: Ortalama nükleus uzun çapı, ONKÇ: Ortalama nükleus kısa çapı.

Tablo 2. IDK'lı olgularda yaş, EKY, LVİ, PNİ, nekroz, uzak metastaz ve lenf nodu tutulumu ile NMP ilişkisi.

IDK 'LI OLGULAR			MNA		MNP		MNLD		MNSD	
	N(%)		$\bar{x} \pm ss$	p	$\bar{x} \pm ss$	p	$\bar{x} \pm ss$	p	$\bar{x} \pm ss$	p
YAŞ	55<	43(%49.4)	60.26±18.62	0.691	29.07±4.67	0.625	8.87±1.45	0.835	8.90±1.51	0.61
	55>	44(%50.6)	58.82±14.84		28.61±4.03		8.93±1.19		8.75±1.22	
EKS	YOK	61(%70.11)	60.57±16.72	0.378	29.14±4.39	0.326	8.99±1.35	0.313	8.89±1.32	0.484
	VAR	26(%29.89)	57.09±16.82		28.13±4.21		8.68±1.23		8.66±1.48	
LNT	YOK	33(%37.93)	58.42±17.06	0.63	28.27±4.55	0.341	8.88±1.38	0.938	8.68±1.36	0.446
	VAR	54(%62.07)	60.21±16.65		29.19±4.21		8.91±1.29		8.91±1.37	
LVİ	YOK	52(%59.77)	60.36±17.73	0.577	29.00±4.66	0.667	8.98±1.39	0.463	8.82±1.45	0.991
	VAR	35(%40.23)	58.30±15.29		28.59±3.87		8.77±1.20		8.82±1.25	
NEKROZ	YOK	58(%66.66)	57.11±16.94	0.056	28.17±4.49	0.042*	8.73±1.35	0.084	8.58±1.37	0.018*
	VAR	29(%33.34)	64.36±15.48		30.17±3.75		9.24±1.19		9.31±1.24	
PNİ	YOK	72(%82.75)	59.83±17.33	0.714	28.91±4.49	0.731	8.91±1.36	0.856	8.84±1.39	0.766
	VAR	15(%17.25)	58.08±13.92		28.49±3.62		8.84±1.14		8.72±1.27	
UZAK METASTAZ	YOK	59(%88.05)	61.15±16.82	0.735	29.26±4.37	0.656	9.03±1.36	0.961	8.96±1.31	0.462
	VAR	8(%11.95)	63.26±13.60		29.98±3.28		9.01±0.78		9.33±1.27	

*(p<0,05) EKY: Ekstrakapsüler yayılım, LNT: Lenf nodu tutulumu, LVİ: Lenfovasküler invazyon, PNİ: Perinöral invazyon, NMP: Nükleer morfolojik parametreler, ONA: Ortalama nükleus alanı, ONÇ: Ortalama nükleus çevresi, ONUÇ: Ortalama nükleus uzun çapı, ONKÇ: Ortalama nükleus kısa çapı.

Histolojik subtipler IDK ile diğer tüm subtipler şeklinde 2 grup halinde karşılaştırıldığında ONUÇ (p=0,04) bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı

farklılık izlenmiştir. Buna göre IDK'lı hastalarda, diğer histolojik subtipli hastalara göre ONUÇ yüksek bulunmuştur (Tablo 3).

Tablo 3. Histolojik subtipler ile NMP arasındaki ilişki.

	N(%)	ONA		ONÇ		ONUÇ		ONKÇ	
		$\bar{x} \pm ss$	p	$\bar{x} \pm ss$	p	$\bar{x} \pm ss$	p	$\bar{x} \pm ss$	p
IDK	84(%79.24)	58.83±16.98		28.64±4.41		8.84±1.33		8.76±1.38	
			0.107		0.127		0.040*		0.292
DięERLERİ	22(%20.76)	52.07±18.71		26.97±5.04		8.15±1.59		8.39±1.71	

*(p<0,05) İDK: İnvaziv duktal kansinom, NMP: Nükleer morfolometrik parametreler, ONA: Ortalama nükleus alanı, ONÇ: Ortalama nükleus çevresi, ONUÇ: Ortalama nükleus uzun çapı, ONKÇ: Ortalama nükleus kısa çapı.

IDK; Derece 1, derece 2 ve derece 3 şeklinde gruplandırılıp kendi içinde ve İLK ile karşılaştırılmıştır. İDK derece 3 ile derece 1 arasında ONA (p=0,020) ve ONKÇ (p=0,045) bakımından anlamlı farklılık izlenmiştir. Buna göre derece 3 İDK'lı hastalarda derece 1 İDK'lı hastalara göre ONA ve ONKÇ yüksek bulunmuştur. İDK

derece 3 ile İLK arasında ONA (p=0,009), ONÇ (p=0,02), ONUÇ (p=0,014) ve ONKÇ (p=0,020) bakımından anlamlı farklılık izlenmiştir. Buna göre derece 3 İDK'lı hastalarda, İLK'lı hastalara göre ONA, ONÇ, ONUÇ ve ONKÇ yüksektir (Tablo 4).

Tablo 4. İDK dereceleri ve İLK ile NMP arasındaki ilişki.

	N(%)	ONA		ONÇ		ONUÇ		ONKÇ	
		$\bar{x} \pm ss$	p	$\bar{x} \pm ss$	p	$\bar{x} \pm ss$	p	$\bar{x} \pm ss$	p
İDK1	23(%23.95)	55.03±17.24		27.64±4.53		8.60±1.43		8.35±1.51	
İDK2	41(%42.72)	58.04±15.40	0.009*	28.59±4.18	0.021*	8.80±1.18	0.014*	8.75±1.27	0,020*
İDK3	23(%23.97)	66.69±16.94		30.48±4.09		9.38±1.37		9.42±1.20	
İLK	9(%9.36)	45.77±18.58		25.39±5.49		7.76±1.62		7.81±1.90	

*(p<0,05) İDK: İnvaziv duktal kansinom, İLK: İnvaziv lobüler kansinom, NMP: Nükleer morfolometrik parametreler, ONA: Ortalama nükleus alanı, ONÇ: Ortalama nükleus çevresi, ONUÇ: Ortalama nükleus uzun çapı, ONKÇ: Ortalama nükleus kısa çapı.

Tablo 5. Tüm olgularda ve İDK'lı olgularda Cerb-B2 boyanma oranları ile NMP arasındaki ilişki.

	N(%)	ONA		ONÇ		ONUÇ		ONKÇ		
		$\bar{x} \pm ss$	p	$\bar{x} \pm ss$	p	$\bar{x} \pm ss$	p	$\bar{x} \pm ss$	p	
CerbB2 Tüm olgular	0	29(%27.6)	48.19±15.44	0.000*	25.99±4	0,000*	7.98±1.31	0.000*	8±1.33	0.000*
	1	3(%2.9)	51.58±35.86		26.30±11.12		7.91±3.34		8.11±3.29	
	2	31(%29.5)	54.47±16.37		27.57±4.65		8.44±1.31		8.44±1.41	
	3	42(%40)	66.62±14.02		30.62±3.21		9.47±1.01		9.39±1.07	
CerbB2 İDK olgular	0	21(%24.1)	49.44±15,93	0.000*	26.18±4,16	0,000*	8.16±1,34	0.000*	7.95±1,31	0.000*
	1	2(%2.3)	71.65±12.48		32.70±1.38		9.81±0.90		10.18±0.39	
	2	26(%29.9)	55.36±16.29		27.82±4.71		8.51±1.32		8.52±1.39	
	3	38(%43.7)	67.32±13.78		30.81±3.14		9.52±1.01		9.44±1.05	

*(p<0,05) İDK: İnvaziv duktal kansinom, NMP: Nükleer morfolometrik parametreler, ONA: Ortalama nükleus alanı, ONÇ: Ortalama nükleus çevresi, ONUÇ: Ortalama nükleus uzun çapı, ONKÇ: Ortalama nükleus kısa çapı

Tüm hastalarda, skor 3 CerB-B2 boyanma gösteren olgularda, skor 2 CerbB2 boyanma gösteren olgulara göre ONA (p=0.009), ONÇ (p=0.014), ONUÇ (p=0.006) ve ONKÇ (p=0.018) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Yine skor 3 CerbB2 boyanma, skor 0 CerB-B2 boyanmaya göre ONA (p=0.000), ONÇ (p=0.000), ONUÇ (p=0.000) ve ONKÇ (p=0.000) bakımından anlamlı yüksek bulunmuştur (Tablo 5).

IDK'lı hastalarda skor 3 CerB-B2 boyanma gösteren olgularda, skor 2 CerB-B2 boyanma gösteren olgulara göre ONA (p=0.013), ONÇ (p=0.018), ONUÇ (p=0.007) ve ONKÇ (p=0.021) bakımından anlamlı yüksek bulunmuştur. Yine skor 3 CerbB2 boyanma gösteren olgularda, skor 0 CerB-B2 boyanma gösteren olgulara göre ONA (p=0.000), ONÇ (p=0.000), ONUÇ (p=0.000) ve ONKÇ (p=0.000) bakımından anlamlı yüksek bulunmuştur (Tablo 5).

Tüm hastalar ve IDK 'lı hastalarda, yaş, EKY, LVİ, PNİ, lenf nodu tutulumu, tutulan lenf nodu sayısı, evre, uzak metastaz ve immünohistokimyasal ER, PR boyama ile NMP arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır (Tablo 1 ve 2).

TARTIŞMA

Meme kanseri kadınlarda en sık görülen malign tümördür. Dünyada, yılda ortalama 1 milyondan fazla meme kanseri tanısı almış kadın hasta vardır. Meme karsinomunun da içinde olduğu birçok farklı kanser türünde, nükleer morfolojinin prognostik önemi yapılan çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Meme karsinomunun prognostik gidişatının belirlenmesinde lenf nodu tutulumu, tümör çapı ve histolojik derecenin önemli bir yeri bulunmaktadır. Histolojik derece sistemi subjektif bir yöntem olan Bloom-Richardson yöntemi ile belirlenmektedir.

Bilgisayarlı görüntü analiz yöntemlerinin temelde kullanılma gayesi patolojik değerlendirmelere objektiflik getirmektir. Morfometrik çalışmalarda boy, kalınlık, çevre, çap, iki veya daha fazla ölçüm parametresinin birbirine oranı gibi değerler ve bunlardan elde edilen istatistiksel veriler elde edilir. Görüntü analizi maksadı ile

kullanılan algoritmaların ve hesaplamaların tümü matematik teorilerine dayanmaktadır. Günümüzde teknolojiye gelişmeler neticesinde yapılan ölçümler oldukça hızlanmış ve nispeten çeşitlenmiş olsa da temelde bu ilk ölçümlerden çok farklı olmamıştır. Bütün bu ölçümler "morfometri" olarak isimlendirilir.^{5,6,13}

Birçok çalışmada, nükleer morfometrik ölçümler için, ONA, ONÇ, ONKÇ ve ONUÇ gibi parametreler kullanılmış ancak genellikle bir veya bir kaç parametre daha belirleyici olmuştur. Kronqvist ve ark.'nın yaptığı çalışmada ONKÇ ile diğer NMP'e göre daha efektif sonuçlar alınırken, İkpatt ve ark., Abdalla ve ark. ve Buhmeida ve ark.'nın yaptığı çalışmalarda ONA ile daha verimli sonuçlar elde edilmiştir.^{3,4,6,14} Bizim çalışmamızda da ONA diğer parametrelere göre daha belirleyici olmuştur.

Literatürde lenf nodu tutulumu ile NMP arasında anlamlı ilişki bulan birçok çalışma mevcuttur.^{3,4,14,15} Yine literatürde tümör çapı ile NMP arasında anlamlı ilişki bulan çalışmalar mevcuttur.^{3,14,16,17} Çalışmamızda lenf nodu tutulumu ve tümör çapı ile NMP arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Ayrıca bizim çalışmamızda tümör çapı ile NMP arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Bu çalışmalarda tümör çapı genellikle iki grup halinde NMP ile karşılaştırılmış iken, çalışmamızda TNM evreleme sistemine uygun olarak 3 grup halinde NMP ile karşılaştırılmıştır. Buna bağlı anlamlı farklılık izlenmemiş olabilir.

İkpatt ve Ark.'nın ve Abdalla ve ark.'nın yaptığı çalışmada IDK, İLK ve diğer tipler olarak gruplandırdıkları histolojik subtip ile nükleer morfoloji karşılaştırılmasında, IDK'nın, hem İLK hem de diğer subtiplere göre ONA bakımından yüksek olduğu saptanmıştır.^{3,14} Benzer şekilde 3 histolojik grup halinde yaptığımız karşılaştırmada literatürden farklı olarak NMP bakımından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Bunun sebebi diğer histolojik subtipler altında incelediğimiz bazı histolojik grupların sayıca az olmasından kaynaklı olabilir. Bununla birlikte IDK ile diğer tüm histolojik tipler şeklinde 2 grup halinde NMP bakımından karşılaştırıldığında IDK olgularında, diğer subtiplere göre ONUÇ (p=0.04) istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur.

Histolojik derece ile NMP arasında önemli bir ilişkinin bulunduğu yapılan çalışmalarca gösterilmiştir.^{3,6,14,15,18} Bizim çalışmamızda da benzer sonuçlar izlenmiştir. Bununla birlikte NMP farklı yaşam alanlarında farklı sonuçlar göstermektedir. Bizim çalışmamızda derece 3 IDK'lı hastalarda ONA 66.69 µm² iken, Ikpatt ve ark.¹⁴ afrikalı hastalarda yaptığı çalışmada 111.4 µm², Kronqvist ve ark.⁶ Avrupalı (Finlandiya) hastalarda yaptığı çalışmada 47 µm² bulunmuştur. Bu değişkenlik farklı fiksasyon materyallerinin kullanılmasından veya farklı ölçüm tekniklerinin kullanılmasından kaynaklı olabilir. Bu farklılıklardan kaynaklı olarak bir cutoff değerinin belirlenmesi uygun olmayabilir.

Literatürde tümör nekrozu ile NMP'ler arasındaki ilişkiyi inceleyen az sayıda çalışma mevcuttur. Tan ve ark.'nın duktal karsinoma in situ'lu hastalarda yaptıkları çalışmada ONA (p=0.0029) ve ONÇ (p=0.0053) nekroz içeren olgularda, nekroz içermeyen olgulara göre daha yüksek bulunmuştur.¹⁷ Çalışmamızda da hem tüm hastalar, hemde IDK'lı hastalar arasında tümör nekrozu ile NMP arasında kuvvetli bir ilişki bulunmuştur. Tümör nekrozunun prognoz üzerindeki etkisini gösterebilmek için yeni yapılacak çalışmalar ile desteklenmesi faydalı olabilir.

Lenfovasküler invazyon erken lokal rekürrens ve uzak metastazın önemli bir belirleyicisidir. Buhmeida ve ark.'nın yaptığı çalışmada LVİ olan hastalarda, LVİ olmayan hastalara göre ONA (p<0.01), ONÇ (p<0.02) ve çap (p<0.01), istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek bulunmuştur. Selvarajan ve Ark.'nın yaptığı çalışmada LVİ olan hastalar ile olmayan hastalar arasında NMP bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır.^{4,19} Çalışmamızda da benzer şekilde LVİ olan hastalar ile LVİ olmayan hastalar arasında NMP bakımından anlamlı farklılık saptanmamıştır.

İnvaziv karsinomların yaklaşık olarak %10'unda görülen perinöral invazyon, yüksek dereceli tümörlerde oluşma eğilimindedir ve sıklıkla lenfatik tümör embolisi ile birlikte görülür.²⁰ Literatürde perinöral invazyon ile NMP arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda perinöral invazyon olan hastalar ile perinöral invazyon olmayan hastalar arasında NMP bakımından anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Literatürde ER, PR immünohistokimyasal boyanma yüzdeleri ile NMP arasındaki ilişkinin araştırıldığı az sayıda çalışma mevcuttur. Selvarajan ve Ark.'nın yaptığı çalışmada ER, PR pozitif tümörlü vakalar ile ER, PR negatif tümörlü vakalar arasında NMP bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır.¹⁹ Çalışmamızda da ER, PR boyanma yüzdeleri ile NMP arasında anlamlı istatistiksel farklılık saptanmamıştır.

Cerb-B2 onkogeninin overekspresyonu ve amplifikasyonunun meme karsinomlarında kötü prognoz ile ilişkili olduğu çeşitli çalışmalarca gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda yüksek nükleer boyut ile artmış Cerb-B2 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki olduğu görülmüştür. Buna göre Cerb-B2'nin artmış ekspresyonu sonucu anormal genetik materyal birikiminin nükleus boyutunda artışa neden olduğu söylenebileceği ifade edilmiştir.^{19,21} Bizim sonuçlarımız da bu ifadeyi destekler niteliktedir.

Çalışmamızda artmış NMP'in yüksek tümör derecesi, tümör nekrozu varlığı ve Cerb-B2 overekspresyonu ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca bazı farklı histolojik subtipler arasında NMP'ler açısından farklılık olduğu izlenmiştir. Özellikle nükleus alanına dayalı nükleer morfolitik değerlendirme; tümör derecesi, histolojik subtip ve tümör nekrozu yanısıra Cerb-B2 ekspresyon profili ile ilişkili olduğundan değerli bir yöntemdir. Yüksek nükleer morfolitik parametre değerleri, agresif hastalığın biyolojik potansiyelinin göstergesi olan klinikopatolojik prognostik parametrelerle ilişkilidir.

Çıkar Beyannamesi

Yazarlar, herhangi bir çıkar çatışmasının olmadığını beyan etmektedirler.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyanı

Ana fikir/Planlama: MÇ, ZEÇ. Veri toplama/İşleme: MÇ, ÖA. Veri analizi ve yorumlama: MÇ, ZEÇ, SA, CU. Literatür taraması: MÇ. Yazım: MÇ, ZEÇ. Gözden geçirme ve düzeltme: MÇ, ZEÇ, PK. Danışmanlık: MÇ, ZEÇ.

KAYNAKÇA

1. Ullah MF. Breast Cancer: Current Perspectives on the Disease Status. Ahmed A Ed. Breast Cancer Metastasis and Drug Resistance. Springer:2019;51-64.
2. Kontzoglou K, Palla V, Karaolani G, et al. Correlation between Ki67 and breast cancer prognosis. *Oncology*. 2013;84(4):219-225.
3. Abdalla F, Boder J, Markus R, Hashmi H, Buhmeida A, Collan Y. Correlation of nuclear morphometry of breast cancer in histological sections with clinicopathological features and prognosis. *Anticancer Res*. 2009;29(5):1771-1776.
4. Buhmeida A, Al-Maghrabi J, Merdad A, et al. Nuclear morphometry in prognostication of breast cancer in Saudi Arabian patients: comparison with European and African breast cancer. *Anticancer Res*. 2010;30(6):2185-2191.
5. Kashyap A, Jain M, Shukla S, Andley M. Study of nuclear morphometry on cytology specimens of benign and malignant breast lesions: A study of 122 cases. *J Cytol*. 2017;34(1):10-15.
6. Kronqvist P, Kuopio T, Collan Y. Breast cancer prognostication: Morphometric thresholds for nuclear grading. *Br J Cancer*. 1998;78:800-805.
7. Sheela Devi CS, Suchitha S, Veerendrasagar RS. Evaluation of Nuclear Morphometry and Ki-67 Index in Clear Cell Renal Cell Carcinomas: a Five-Year Study. *Iran J Pathol*. 2017;12(2):150-157.
8. Ikeguchi M, Oka S, Saito H, et al. Computerized nuclear morphometry: a new morphologic assessment for advanced gastric adenocarcinoma. *Ann Surg*. 1999;229(1):55-61.
9. Veltri RW, Christudass CS, Isharwal S. Nuclear morphometry, nucleomics and prostate cancer progression. *Asian J Androl*. 2012;14(3):375-384.
10. Razavi MA, Wong J, Akkera M, et al. Nuclear morphometry in indeterminate thyroid nodules. *Gland Surg*. 2020;9(2):238-244.
11. Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind Ch. International Union Against Cancer (UICC) TNM Classification of Malignant Tumors. 7th ed. Oxford, UK: Wiley-Blackwell;2009.
12. Onitilo AA, Engel JM, Greenlee RT, Mukesh BN. Breast cancer subtypes based on ER/PR and Her2 expression: comparison of clinicopathologic features and survival. *Clin Med Res*. 2009;7(1-2):4-13.
13. Yin L, Duan JJ, Bian XW, Yu SC. Triple-negative breast cancer molecular subtyping and treatment progress. *Breast Cancer Res*. 2020;22(1):61.
14. Ikpatt OF, Kuopio T, Collan Y. Nuclear morphometry in African breast cancer. *Image Anal. Stereol*. 2002;21(2):145-150.
15. Chiusa L, Margaria E, Pich A. Nuclear morphometry in male breast carcinoma: association with cell proliferative activity, oncogene expression, DNA content and prognosis. *Int J Cancer*. 2000;89(6):494-499.
16. Ladekarl M, Sørensen FB. Quantitative histopathological variables in in situ and invasive ductal and lobular carcinomas of the breast. *APMIS*. 1993;101(7-12):895-903.
17. 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*. 2001;14(10):937-941.
18. Prvulović I, Kardum-Skelin I, Sustercić D, Jakić-Razumović J, Manojlović S. Morphometry of tumor cells in different grades and types of breast cancer. *Coll Antropol*. 2010;34(1):99-103.
19. Selvarajan S, Wong KY, Khoo KS, Bay BH, Tan PH. Overexpression of c-erbB-2 correlates with nuclear morphometry and prognosis in breast carcinoma in Asian women. *Pathology*. 2006;38(6):528-533.
20. Rosen PP. Rosen's breast pathology. 4th ed. Philadelphia, Pa, USA:Lippincott Williams & Wilkins;2014.
21. Poller DN, Galea M, Pearson D, et al. Nuclear and flow cytometric characteristics associated with overexpression of the c-erbB-2 oncoprotein in breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat*. 1991;20(1):3-10.