

T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**KOLUMNAR HÜCRELİ DEĞİŞİM, BENİGN PROLİFERATİF MEME  
LEZYONLARI VE MEME KARSİNOMLARINDA PI3K/AKT/MTOR YOLAK  
AKTİVASYONUNUN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRMESİ**

Dr. Selma Yeni Yıldırım

**UZMANLIK TEZİ**  
Olarak Hazırlanmıştır

ANKARA  
2023



T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**KOLUMNAR HÜCRELİ DEĞİŞİM, BENİGN PROLİFERATİF MEME  
LEZYONLARI VE MEME KARSİNOMLARINDA PI3K/AKT/MTOR YOLAK  
AKTİVASYONUNUN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRMESİ**

Dr. Selma Yeni Yıldırım

**UZMANLIK TEZİ**  
Olarak Hazırlanmıştır

**TEZ DANIŞMANI**  
Doç. Dr. Kemal KÖSEMEHMETOĞLU

ANKARA  
2023

## TEŞEKKÜR

Bu araştırma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından THD-2022-19656 numaralı bilimsel araştırma projesi olarak desteklenmiştir.

Hacettepe Üniversitesi Patoloji AD'nın değerli öğretim üyelerine;

Tezimin her aşamasında desteği ve bilgisi ile bana yol gösteren değerli tez danışmanım Doç. Dr. Kemal Kösemehmetoğlu'na;

Arşivden preparatları ve blokları temin eden Lokman Kale ve Şükrü Oral'a;

Doku mikrodizinlerinden kesitler alınmasında Ziya Birinci ve Orhan Başhan'a, immunhistokimyasal boyama işlemlerini gerçekleştiren Özlem Kalaycı'ya,

Amerika'da gözlemcilik için laboratuvarına gittiğim, bana bu fırsatı veren ve PTEN immünohistokimyasını benimle paylaşan değerli Dr. Jorge Reis-Filho'ya, orada bulunduğum sürede bana destekleri ve doku mikrodizinlerimin kesitlerinin immünohistokimyasal boyaması sırasındaki yardımları için Dr. Fresia Pareja ve Britta Weigelt'e,

Asistanlığım boyunca birlikte çalıştığım, bu süreci güzelleştiren, bana yoldaş olan ve ömrümüzün bu güzel çağında yollarımız iyi ki kesişmiş dediğim canım arkadaşlarım başta olmak üzere; Hacettepe Patoloji AD'nın tüm çalışanlarına;

*Teşekkür ederim...*

Bu hayattaki en büyük şansım olan annem, babam ve ablalarım,

Desteğini ve sevgisini her an hissettiğim sevgili eşim Abdulkadir Yıldırım,

*İyi ki varsınız...*

## ÖZET

**Yeni Yıldırım S., “Kolumnar hücreli lezyon, benign proliferatif meme lezyonları ve meme karsinomlarında PI3K/AKT/mTOR yolak aktivasyonunun immünohistokimyasal değerlendirmesi”, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Ankara, 2023.** Kolumnar hücreli lezyonlar (KHL), kolumnar epitel hücreleri ile döşeli, değişken derecede genişlemiş asinuslarla karakterize terminal duktolobüler ünitelerin (TDLÜ) klonal değişikliğidir. Atipili kolumnar hücreli lezyon olan flat epitelyal atipi (FEA), meme karsinomu için zorunlu olmayan preneoplastik lezyon olup, düşük dereceli meme karsinogenezinin ilk basamak lezyonu olarak düşünülmektedir. Burada, KHL’ler, KHL içerebilen benign proliferatif meme lezyonları, preneoplastik lezyonlar ve meme karsinomlarında, meme karsinogenezinde en sık mutasyon görülen PI3K/AKT yolağına ait bileşenlerin immünohistokimyasal profili irdelenmiştir. HÜTF Tıbbi Patoloji AD’de, KHL, benign meme lezyonları, preneoplastik lezyonlar, in-situ ve invaziv karsinom tanıları olan 188 olguya ait 452 lezyon incelenmiştir. Doku mikrodizini immünohistokimyasal olarak pAKT, INPP4B, pSGK3 ve PTEN antikorları ile boyanmıştır. Lezyonların 61/380’i (%16) pAKT ve 306/408’i (%75) pSGK3 pozitifdir. PTEN kaybı 205/376 (%54,5), INPP4B kaybı 131/416 (%31,5) olguda görülmüştür. pAKT ekspresyonu invaziv tümörlerden en fazla lobüler karsinomda (%70) görülmekteyken, intraduktal papiller karsinom, enkapsüle papiller karsinom, sklerozan adenozis ve şiddetli duktal epitel hiperplazisinde görülmemiştir. Nükleer pAKT ekspresyon oranı en çok intraduktal papillomda (%77,7) ve bifazik lezyonlarda (%63,6) izlenmiştir. INPP4B kaybı, malign lezyonlarda benign lezyonlardan daha fazladır (%49,1’e karşı %19,1,  $p<0,05$ ); metaplastik karsinom ve kompleks apokrin metaplazilerin tamamında, invaziv lobüler karsinomların %60,7’sinde görülmektedir. KHL’de PTEN kaybı, tümöre yakın FEA’de (%22,2), tümör eşlik etmeyen FEA’dan (%5,1) siktir ( $p=0,049$ ). FEA’de, atipik duktal hiperplazi ve düşük dereceli invaziv karsinoma kıyasla, pAKT ekspresyonu (%9,9), PTEN kaybı (%53), INPP4B kaybı (%6) daha az, pSGK3 ekspresyonu (%93) daha siktir. KHL’de kolumnar hücre içeren papiller lezyonlar ve bifazik lezyonlara göre daha fazla PTEN kaybı (%52,5) görülürken daha az INPP4B kaybı (%5,9) mevcuttur. pSGK3 ekspresyonu, KHL’de (%94,1) bifazik lezyonlarla (%96,9) benzer ve papiller lezyonlardan (%70) daha yüksektir. INPP4B pozitif lezyonlarda pSGK3’ün (%85,9) yüksek olduğu ( $p<0,05$ ), pAKT’nin (%13,5) azaldığı izlenmiştir ( $p=0,023$ ). Sonuç olarak, FEA’nın lezyon yerleşimine göre değişen ve tümorigenezde daha ileri lezyonlardan ayrılan immünekspresyon paterni ile düşük dereceli meme karsinogenez basamaklarındaki rolü vurgulanmıştır. INPP4B, PI3K/AKT yolağında ambivalan davranış göstermektedir: pAKT inhibiyonu ile tümör supresör rolü ve pSGK3 indüklemesi ile onkogenik rolü açığa çıkarılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Kolumnar hücreli lezyon, flat epitelyal atipi, intraduktal papillom, radyal skar, bifazik lezyon, meme karsinomu, PI3K/AKT/mTOR yolağı

## ABSTRACT

**Yeni Yıldırım S., "Immunohistochemical evaluation of PI3K/AKT/mTOR pathway activation in columnar cell lesions, benign proliferative breast lesions and breast carcinomas", Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Pathology, Ankara, 2023.** Columnar cell lesions (CCL) are clonal alterations of the terminal duct lobular unit (TDLU) characterized by enlarged, variably dilated acini lined by columnar epithelial cells. Flat epithelial atypia (FEA) –columnar cell lesion with atypia- is a non-obligatory preneoplastic lesion for breast carcinoma and is considered as the first line for low-grade breast carcinogenesis. Here, the immunohistochemical profile of the components of the PI3K/AKT pathway -the most frequently mutated pathway in breast carcinogenesis- is investigated in columnar cell lesion (CCL), benign proliferative breast lesions containing CCL, preneoplastic lesions and breast carcinomas. 452 lesions from 188 cases with the diagnosis of CCL, benign breast lesions, preneoplastic lesions, in-situ and invasive carcinoma were examined in Hacettepe University Faculty of Medicine, Pathology Department. Tissue microarrays were stained immunohistochemically with antibodies against pAKT, INPP4B, pSGK3, and PTEN. 61/380 (16%) and 306/408 (75%) of the lesions were pAKT and pSGK3 positive, respectively. PTEN loss was seen in 205/376 (54.5%) cases and INPP4B loss was observed in 131/416 (31.5%) cases. pAKT expression was most common in lobular carcinoma (70%) and was not found in any cases of intraductal papillary carcinoma, encapsulated papillary carcinoma, sclerosing adenosis, and florid ductal epithelial hyperplasia. Intraductal papilloma (77.7%) and biphasic lesions (63.6%) showed the highest nuclear pAKT expression rate. Loss of INPP4B was greater in malignant lesions than in benign lesions (19.1% vs. 49.1%,  $p < 0.05$ ); INPP4B loss was seen in all metaplastic carcinomas and complex apocrine metaplasias and 60.7% of invasive lobular carcinomas in particular. Loss of PTEN in CCL was more common in FEA near the tumor (22.2%) than in FEA without a tumor (5.1%) ( $p = 0.049$ ). In FEA, pAKT expression (9.9%), PTEN loss (53%), INPP4B loss (6%) are lower and pSGK3 expression (93%) was more common than atypical ductal hyperplasia and low-grade invasive carcinoma. Compared to papillary lesions and biphasic lesions containing columnar cells, more PTEN loss (52.5%) and less INPP4B loss (5.9%) were observed in CCL. pSGK3 expression in CCLs (94.1%) was similar to that in biphasic lesions (96.9%) and higher than in papillary lesions (70%). In INPP4B positive lesions, pSGK3 expression (85.9%) was high ( $p < 0.05$ ) while pAKT expression (13.5%) decreased ( $p = 0.023$ ). As a result, the role of the FEA in low-grade breast carcinogenesis is emphasized by the immunoexpression pattern which differs both spatially and temporally from the later steps in tumorigenesis. INPP4B exhibits an ambivalent role in the PI3K/AKT pathway: the tumor suppressor role by pAKT inactivation and the oncogenic role by pSGK3 expression has been uncovered.

**Key words:** Columnar cell lesions, FEA, intraductal papilloma, radial scar, biphasic lesions, breast carcinoma, PI3K/AKT/mTOR pathway

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER	x
TABLULAR	xii
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	<b>3</b>
2.1. Normal Meme Dokusu	3
2.2. Kolumnar Hücreli Lezyonlar (KHL)	4
2.3. Flat Epitelyal Atipi (FEA)	6
2.4. Kolumnar Hücreli Lezyon/Flat Epitelyal Atipi Ayırıcı Tanısı	7
2.4.1. Olağan Duktal Hiperplazi	8
2.4.2. Apokrin Lezyonlar	9
2.4.3. Atipik Duktal Hiperplazi Ve Düşük Dereceli Duktal Karsinoma İn Situ	10
2.4.4. Yüksek Dereceli Flat (“Clinging”) Duktal Karsinoma İn Situ	11
2.5. Kolumnar Hücreli Alanlar İçerebilen Benign Proliferatif Lezyonlar	12
2.5.1. Sklerozan Adenozis	12
2.5.2. Radyal Skar	13
2.5.3. İntraduktal Papillom	14
2.5.4. Fibroadenom	16
2.6. “Rosen” Triad	17
2.7. Düşük Dereceli Meme Karsinogenezi Ve Prekürsör Lezyonlar	17
2.7.1. AKT/PKB Sinyal Yolağı	19
2.7.2. AKT Düzenlenmesi ve PI3K Bağımlı AKT Aktivasyonu	21
2.7.3. AKT Üzerindeki Majör Düzenleyici Fosforilasyon Olayları	22
2.7.4. PTEN	24
2.7.5. İnositol Polifosfat 4-Fosfataz (INPP4B)	26
2.7.6. Serum ve Glukokortikoid Regüle Kinaz 3 (SGK3)	29
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>32</b>

3.1. Meme Tümörleri Ve Proliferatif Lezyonları Tanılı Hasta Seçimi ve Doku Mikrodizini Hazırlanması	32
3.2. İmmünohistokimyasal Boyama ve Antikorlar	34
3.3. İmmünohistokimyasal Boyalı Preparatların Dijital Slayt Haline Getirilmesi ve İmmünohistokimyasal Skorlama	35
3.4. İmmünohistokimya Sonuçlarının Değerlendirilmesinde Kullanılan Lezyon Grupları	39
3.5. İstatistiksel Analiz	40
<b>4. BULGULAR</b>	<b>41</b>
4.1. pAKT	41
4.2. PTEN	47
4.3. INPP4B	52
4.4. pSGK3	55
4.5. Boyamaların Birbirleri İle İlişkilerine Yönelik Bulgular	59
<b>5. TARTIŞMA</b>	<b>62</b>
5.1. pAKT	63
5.2. PTEN	67
5.3. INPP4B	68
5.4. pSGK3	70
<b>6. SONUÇLAR</b>	<b>72</b>
<b>7. KAYNAKLAR</b>	<b>74</b>
<b>8. EKLER</b>	<b>83</b>
EK 1. Hazırlanan Doku Mikrodizini	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
EK 2. İmmünohistokimyasal Çalışmaların Skorlanmış Verileri	83
EK 3. İmmünohistokimyasal Çalışmaların Sonuç Verilerinde Numaralandırılmış Lezyonların Karşılıkları	93



**KISALTMALAR**

<b>FEA</b>	: “Flat” epitelyal atipi
<b>KHL</b>	: Kolumnar hücreli lezyon
<b>TDLÜ</b>	: Terminal duktalobüler ünite
<b>KHD</b>	: Kolumnar hücreli değişim
<b>KHH</b>	: Kolumnar hücreli hiperplazi
<b>AKL</b>	: Atipili kolumnar lezyon
<b>KL</b>	: Kolumnar lezyon, atipisiz
<b>PI3K</b>	: Fosfotidilinositol 3-kinaz
<b>RTK</b>	: Reseptör tirozin kinaz
<b>GPCR</b>	: G-protein bağlı reseptörler
<b>PDK1</b>	: Fosfoinositid bağımlı protein kinaz 1
<b>mTOR</b>	: Rapamisinin mekanistik hedefi
<b>mTORC2</b>	: mTOR kompleks 2
<b>pAKT</b>	: Fosforile serin-treonin kinaz
<b>PTEN</b>	: Fosfataz ve tensin homolog
<b>INPP4B</b>	: İnositol polifosfat 4-fosfataz tip II
<b>pSGK3</b>	: Fosforile serum ve glukokortikoid regüle kinaz 3
<b>ADH</b>	: Atipik duktal hiperplazi
<b>ALH</b>	: Atipik lobüler hiperplazi
<b>ODH</b>	: Olağan duktal hiperplazi
<b>DKİS</b>	: Duktal karsinoma in situ
<b>KAM</b>	: Kompleks apokrin metaplazi
<b>LOH</b>	: Heterozigosite kaybı
<b>FA</b>	: Fibroadenom
<b>TK</b>	: Tübüler karsinom
<b>LN</b>	: Lobüler neoplazi
<b>LKİS</b>	: Lobüler karsinoma in situ
<b>FISH</b>	: Floresan in situ hibridizasyon
<b>PIK3CA</b>	: Fosfotidilinositol 3-kinaz’ın katalitik alt birimini kodlayan gen

<b>PI3P</b>	: Fosfatidilinositol 3-fosfat
<b>PI(3,4)P2</b>	: Fosfatidilinositol 3,4-bifosfat
<b>PI(3,4,5)P2</b>	: Fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfat
<b>PH</b>	: Plekstrin homolog bölgesi
<b>SHIP</b>	: 5-fosfataz SH-2 bölgesi içeren inositol 5-fosfataz
<b>FFPE</b>	: Formalin fikse parafine gömülü
<b>TMA</b>	: Çoklu doku mikrodizini

## ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. Normal erişkin kadın meme dokusunun mikroanatomi; ekstralobüler duktuslar, terminal duktuslar ve lobüller.	3
2.2. İkili hücre popülasyonu ile döşeli meme duktal-lobüler sistemi.	4
2.3. Kolumnar hücreli lezyon; vertikal olarak oryantasyon gösteren nükleuslara sahip kolumnar şekilli epitelyal hücrelerle döşeli duktüller.	5
2.4. Flat epitelyal atipi; hafif nükleer atipili, yuvarlak veziküler nükleus ve ayırt edilebilen nükleole sahip, apikal “snout” içeren küboidal ya da kolumnar epitel hücreleri.	6
2.5. Kolumnar hücreli lezyon ve flat epitelyal atipiyeye algoritmik yaklaşım.	8
2.6. Apokrin değişim gösteren benign meme lezyonlarının kategorizasyonu.	10
2.7. ADH. Monomorfik nükleuslar ve epitel hücrelerinin boşluklar etrafında polarizasyonu.	11
2.8. Flat DKİS. Belirgin nükleole sahip, hiperkromatik, pleomorfik nükleuslar. Lümende kalsifikasyon ve nekroz.	12
2.9. Sklerozan adenozis. Glanduler sıkışıklık ve buna bağlı bazı lümenlerin kapanması.	13
2.10. Radyal skar. Santralinde elastoz, periferal olarak ise sağda ODH ve KHL, solda apokrin metaplazi ve fibrokistik değişiklikler içeren bir radyal skar.	14
2.11. İntraduktal papillom.	15
2.12. Fibroadenom. Yaygın KHL ve solda apokrin metaplazi içeren fibroadenom.	16
2.13. PI3K/AKT yolağının diyagram şeklinde gösterimi.	21
2.14. A. AKT regülasyonunun moleküler mekanizması.	23
2.15. AKT immunohistokimyasının “The Human Protein Atlas” görüntüleri.	24
2.16. PI3K sinyal yolağı. PI(3,4,5)P3 ve PI(3,4)P2’nin her ikisi de AKT aktivasyonunu kolaylaştırır.	25
2.17. PTEN immunohistokimyasının “The Human Protein Atlas” görüntüleri.	26
2.18. INPP4B’nin yapısı ve fonksiyonu.	27

<b>2.19.</b>	Sınıf I PI3K sinyal düzenlenmesinde PTEN ve INPP4B'nin rolü.	28
<b>2.20.</b>	INPP4B immunohistokimyasının "The Human Protein Atlas" görüntüleri.	28
<b>2.21.</b>	PDK1-mTORC2-SGK sinyal aksı.	30
<b>2.22.</b>	SGK3 immunohistokimyasının "The Human Protein Atlas" görüntüleri.	31
<b>3.1.</b>	Konvansiyonel immunhistokimya değerlendirme yöntemi.	36
<b>3.2.</b>	pAKT ile karsinom örneklerinde farklı yoğunluklarda boyanma.	36
<b>3.3.</b>	PTEN ile farklı yoğunluklarda boyanma.	37
<b>3.4.</b>	INPP4B ile farklı lezyonlar içeren örneklerde boyanma.	38
<b>3.5.</b>	pSGK3 immünohistokimyasının boyanma paternleri.	39
<b>4.1.</b>	pAKT ile farklı boyanma paternleri.	43
<b>4.2.</b>	PTEN ekspresyonuna göre pAKT ekspresyonu medyan değerlerinin karşılaştırması.	61

## TABLOLAR

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa</b>
<b>3.1.</b> Çalışmaya dahil edilen lezyon sayıları ve TMA bloklarından kesit alınması sonrası yapılan immünohistokimyasal boyamada doku dökülmesi nedeniyle azalmış değerlendirilebilen lezyon sayıları.	33
<b>3.2.</b> Çalışmada kullanılan antikorların bilgileri.	34
<b>4.1.</b> Lezyonlara göre pAKT sonuçları.	42
<b>4.2.</b> pAKT ile nükleer boyanma gösteren lezyonlar.	44
<b>4.3.</b> Kolumnar hücreli ve kolumnar hücre içeren lezyonlarda pAKT sonucu.	44
<b>4.4.</b> Düşük dereceli meme karsinogenez basamakları ve yüksek dereceli invaziv-in situ tümörlerde pAKT ekspresyonu.	46
<b>4.5.</b> Lezyonlara göre PTEN ekspresyonu.	48
<b>4.6.</b> Düşük dereceli meme karsinogenez basamakları ve yüksek dereceli invaziv-in situ tümörlerde PTEN ekspresyonu.	50
<b>4.7.</b> Kolumnar hücreli ve kolumnar hücre içeren lezyonlarda PTEN ekspresyonu.	51
<b>4.8.</b> Kolumnar hücreli lezyonlarda PTEN ekspresyonu.	51
<b>4.9.</b> Lezyonlara göre INPP4B ekspresyonu.	52
<b>4.10.</b> Malign ve benign lezyonlarda INPP4B ekspresyonu.	53
<b>4.11.</b> Düşük dereceli meme karsinogenez basamakları ve yüksek dereceli invaziv-in situ tümörlerde INPP4B ekspresyonu.	54
<b>4.12.</b> Kolumnar hücreli ve kolumnar hücre içeren lezyonlarda INPP4B ekspresyonu.	55
<b>4.13.</b> Lezyonlara göre pSGK3 ekspresyonu.	56
<b>4.14.</b> Düşük dereceli meme karsinogenez basamakları ve yüksek dereceli invaziv-in situ tümörlerde pSGK3 ekspresyonu.	58
<b>4.15.</b> Kolumnar hücreli ve kolumnar hücre içeren lezyonlarda pSGK3 ekspresyonu.	59
<b>4.16.</b> INPP4B ve pSGK3 ekspresyonlarının karşılaştırması.	59
<b>4.17.</b> INPP4B ve pAKT ekspresyonlarının karşılaştırması.	60
<b>4.18.</b> INPP4B ve PTEN ekspresyonlarının karşılaştırması.	60
<b>4.19.</b> PTEN ve pAKT ekspresyonlarının karşılaştırması.	60

## 1. GİRİŞ

Memede normal terminal duktolobüler ünitelerin (TDLÜ) küboid epitelinin atipi içermeyen kolumnar epitel ile değişmesi ile kolumnar hücreli lezyon (KHL) oluşmaktadır. Benign proliferatif olan veya olmayan meme lezyonları da kolumnar hücreli değişiklik içerebilir. Örn: fibrokistik değişiklik, olağan duktal hiperplazi, sklerozan adenozis, radyal skar, intraduktal papillom, fibroadenom, filloides tümör.

Normal terminal duktolobüler ünitelerin küboid epitelinin, nükleer atipi içeren kolumnar epitel ile değişmesi sonucu atipili kolumnar değişim/hiperplazi (AKL;atipili kolumnar lezyon) oluşmaktadır. AKL, meme karsinomu için zorunlu olmayan preneoplastik lezyonlar olarak düşünülmektedir. Bu lezyonlar düşük dereceli meme karsinogenezinin ilk basamak lezyonu olarak kabul edilmiştir (1). FEA'nın ilişkili olduğu düşük dereceli meme kanserleri invaziv tübüler karsinom, invaziv kribriform karsinom, klasik invaziv lobüler karsinom ve düşük dereceli invaziv duktal karsinomdur (2).

Fosfatidilinositol-3-kinaz (PI3K) yolağı değişiklikleri ve AKT aktivasyonu çok çeşitli kanser tiplerinde rapor edilmiştir: meme, küçük hücreli ve küçük hücreli dışı akciğer, prostat, mide, pankreas, safra yolları, over, endometrium karsinomu yanı sıra glioblastom ve hematolojik tümörler (3). İnvaziv meme karsinomunda da en sık mutasyona uğrayan yolaklardan biridir, bir çalışmaya göre %60 meme tümörü PI3K/AKT yolağını hiperaktive eden genetik değişiklik (4), başka bir çalışmaya göre %70 primer meme tümöründe, PI3K yolağında bir veya daha fazla bileşende değişiklik görülür (5). Bunlardan en sık görüleni *PIK3CA* genindeki mutasyonlar olup, meme kanserlerinin 1/3'ünde görülmektedir (6). Ek olarak meme kanserlerinin yarısında PTEN kaybı, yaklaşık %5'inde AKT1 mutasyonu ile bu yolak aktive olur (7). Bir çalışmada kolumnar hücreli lezyonların yaklaşık yarısında *PIK3CA* geninde mutasyon saptanmıştır (8).

Tüm hücre ve dokularda, reseptör tirozin kinaz (RTK) ya da G-protein-bağlı reseptörlerin (GPCR) uyarılması ile aktive olan PI3K, AKT aktivasyonu ile sonuçlanır. PI3K ve onun lipid ürünleri, uygun bir AKT aktivasyonu için zorunlu ve hız kısıtlayıcıdır (9). Fosfoinositid bağımlı protein kinaz 1 (PDK1), AKT'nin aktivasyon

bölgesi olan T308'in (10), "mechanistic target of rapamycin (mTOR) complex 2" (mTORC2) ise hidrofobik motifteki S473'ün fosforilasyonunu sağlar (11). Böylece, AKT'nin maksimum aktivasyonu sağlanmış olur. Sonrasındaki aşağı akıştaki efektörler ile hücre büyümesi, proliferasyon ve hücre yaşam süresi artışı gerçekleşir. PI3K aktivitesi tümör supresör PTEN tarafından engellenir (12). INPP4B de AKT aktivasyonu için kullanılan 2 fosfatlı fosfotidilinositolü tek fosfatlı forma dönüştüren 4 fosfataz aktivitesi ile tümör süpresör olarak fonksiyon gösterir (13). SGK3 ise, PIK3CA mutant hücrelerde, PDK1'in AKT-bağımsız sinyal akışına katkı sağlamaktadır (14).

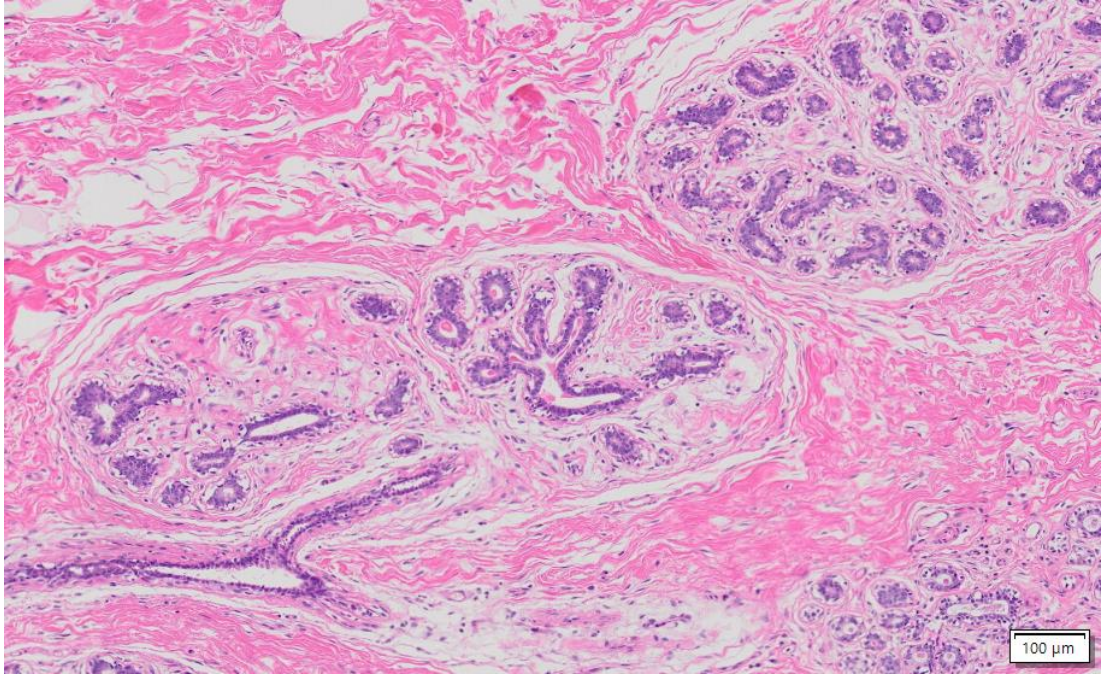
Bu tez çalışmasında, PI3K/AKT/mTOR yolağındaki primer efektör olan proto-onkoprotein serin/treonin kinaz fosforile AKT (pAKT), potansiyel bir tümör supresör olan Inositol Polyphosphate 4-phosphatase type II (INPP4B), *PIK3CA/PTEN* mutasyon statüsünün göstergesi olabilecek serum ve glukokortikoid-regüle kinaz 3'ün (SGK3) fosforile formu (pSGK3) ve bir tümör supresör olan fosfataz ve tensin homolog (PTEN) temsilci belirteçleri, atipili kolumnar değişim/hiperplazi ve kolumnar değişim gösteren benign proliferatif meme lezyonları (intraduktal papillom, radyal skar ve fibroadenom), kompleks apokrin metaplazi ve meme karsinomları üzerinde uygulanmış, bu lezyonlardaki kolumnar hücreli değişikliğin pür KHL'dan farklı bir PI3K/AKT/mTOR ekspresyon profilinin olup olmadığını aydınlatmak amaçlanmıştır.

Kolumnar hücreli değişim içeren benign meme lezyonlarında PI3K/AKT/mTOR yolağının aktivasyonu, hangi aşamada aktivasyon olduğu ve bu lezyonların birbirleri ile ilişkilerinin saptanması halinde hastanın prognozunu tahmin etmede ve sürecin yönetiminde yarar sağlayabileceğini araştırmak, ayrıca yüksek dereceli invaziv-in situ karsinom ile düşük dereceli meme karsinogenez basamakları olan düşük dereceli invaziv-in situ karsinom, atipik duktal hiperplazi ve kolumnar hücreli lezyonun farklarının araştırılması, kolumnar hücreli lezyonların, atipi içerip içermemesi, tümörün eşlik edip etmemesi ve tümöre yakınlığına göre farklarının araştırılması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

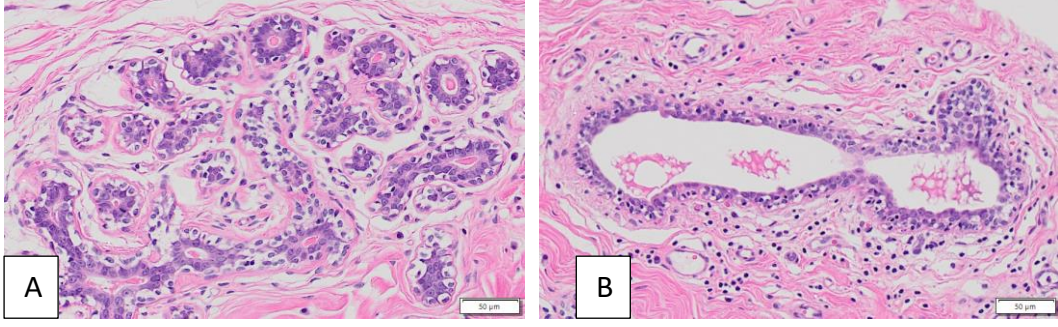
### 2.1. Normal Meme Dokusu

Erişkin kadın memesi farklı miktarlarda fibröz doku ve yağ dokudan oluşan stroma içine gömülü duktuslar, duktuluslar ve lobüler asiner ünitelerden oluşmaktadır (Şekil 2.1). Fibröz doku ve yağ dokunun oranları yaşa ve bireylere göre farklılık gösterir. Memenin duktal-lobüler sistemi segmentler ve loblar formunda düzenlenmiştir. Bu duktal-lobüler sistemin epitelı iki katlı olup içte lüminal epitelıyal hücre tabakası ve dışta myoepitelıyal hücre tabakası bulunmaktadır (Şekil 2.2). Çift katlı hücre tabakası benign lezyonları malign lezyonlardan ayırmada esas rehberlerden biri olması sebebiyle önemlidir. Dinlenme halindeki meme duktus ve lobüllerindeki lüminal epitel hücreleri küboidal ya da kolumnar şekilli, soluk eozinofilik sitoplazmaya ve görece oval nükleusa sahiptir (15).



**Şekil 2.1.** Normal erişkin kadın meme dokusunun mikroyanatomisi; ekstralobüler duktuslar, terminal duktuslar ve lobüller.



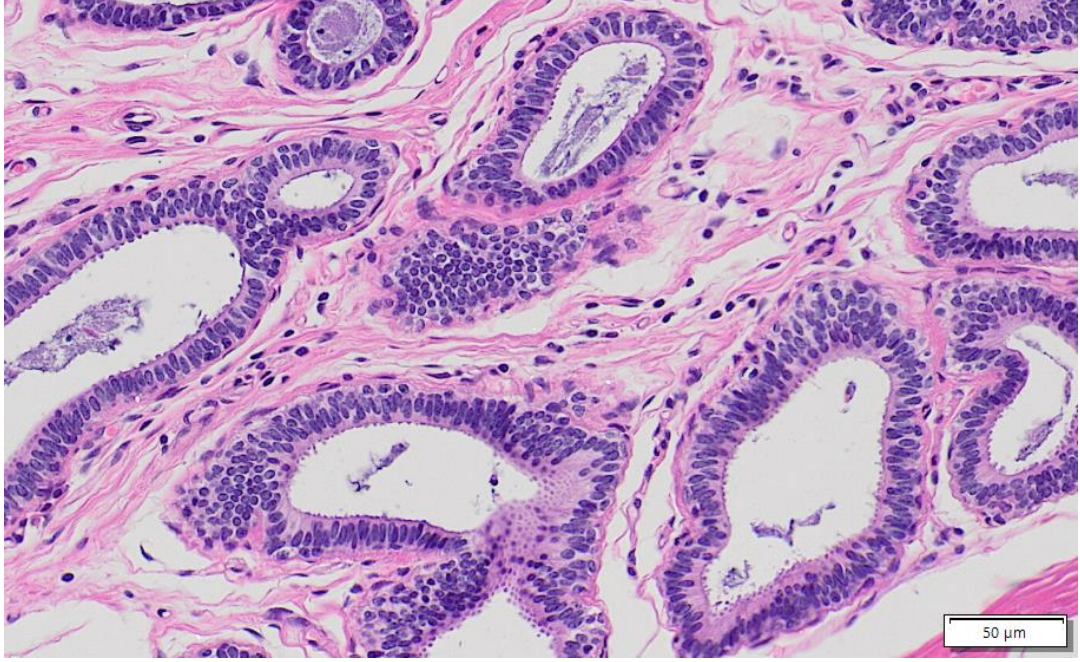


**Şekil 2.2.** İkili hücre popülasyonu ile döşeli meme duktal-lobüler sistemi. A) Lobülün büyük büyütme görüntüsü. B) Ekstralobüler duktusun büyük büyütme görüntüsü.

Lobül, terminal duktusu ile birlikte terminal duktolobüler ünite (TDLÜ) olarak isimlendirilir. Bunlar memenin yapısal ve fonksiyonel birimleridir. Anatomik çalışmalar gösterdi ki, 'duktal' olarak isimlendirilen lezyonların çoğu (örn; kistler, duktal epitel hiperplazisi, in situ ve invaziv karsinomlar) aslında TDLÜ'den köken alır. Geniş veya orta boyutlu duktuslardan köken alan tek lezyon soliter intraduktal papillom'dur (15).

## 2.2. Kolumnar Hücreli Lezyonlar (KHL)

Kolumnar hücreli lezyonların en basit formu kolumnar hücreli değişimdir (KHD). Bu lezyonlar bazal membrana dik olarak yerleşimli ovoid ve uzamış nükleuslara, ince dağınık kromatine ve belirsiz nükleole sahip kolumnar epitel hücrelerinin bir veya iki katlı (1-2) tabaka oluşturduğu, farklı boyutlarda genişleme gösteren TDLÜ'ler ile karakterizedir (Şekil 2.3). Epitelyal hücrelerin lüminal yüzeyinde apikal kabarcık ya da "snout"lar bulunur.



**Şekil 2.3.** Kolumnar hücreli lezyon; vertikal olarak oryantasyon gösteren nükleuslara sahip kolumnar şekilli epitelyal hücrelerle döşeli duktüller.

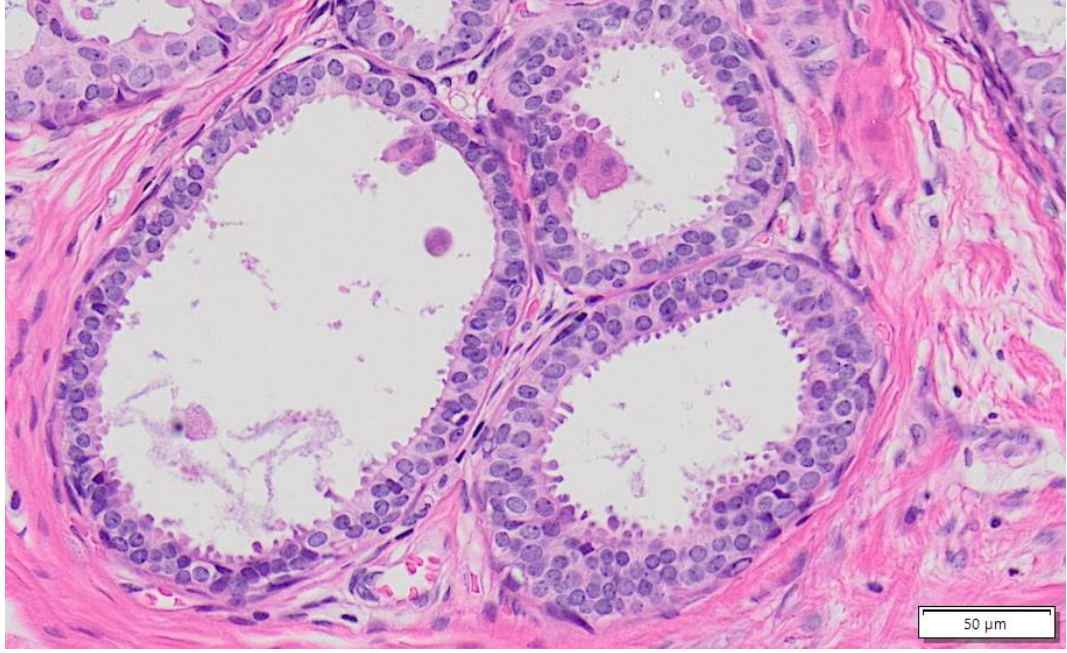
Kolumnar hücre hiperplazisi (KHH) de kolumnar hücreli değişime benzer sitolojik özelliklere sahip olup iki hücre katından daha fazla (>2) selüler tabakalanma gösterir. Çoğalan kolumnar hücreler küçük çıkıntılar ve mikropapillasyon oluşturabilir. Genelde abartılı “snout”lar ve aşırı intralüminal sekresyon görülür. Her iki lezyonda da lüminal kalsifikasyonlar izlenebilir. Bu lezyonlarda nükleer irileşme, oryantasyon bozukluğu, nükleol belirginliği gibi sitolojik atipi bulguları görülmez (16).

KHL varlığı kanser riskinde hafif artış ile ilişkili bulunmuştur. KHL'nin tek başına meme kanser riskini anlamlı ölçüde arttırma ihtimali tam olarak desteklenememiştir. KHL'ye atipik hiperplazi (atipik duktal hiperplazi (ADH)/atipik lobüler hiperplazi (ALH)) eşlik etme olasılığı etmeme olasılığına göre 2-3 kat fazla olduğundan, benign biyopside KHL görüldüğünde, daha endişe verici bir lezyon olan atipik hiperplazi aranmalıdır (17). Ancak KHL ilişkili kanser riski, KHL'ye eşlik eden proliferatif lezyonlarla ilişkili kanser riskinden bağımsız olarak net bir şekilde ayrılamaz (18).

### 2.3. Flat Epitelyal Atipi (FEA)

Sitolojik atipi içeren KHL, FEA kategorisinde yer alır (Şekil 2.4). Pratik olarak bu lezyonlar iki tanısıl kategoriye ayrılır;

1. Atipili kolumnar hücreli değişim
2. Atipili kolumnar hücre hiperplazisi



**Şekil 2.4.** Flat epitelyal atipi; hafif nükleer atipili, yuvarlak veziküler nükleus ve ayırt edilebilen nükleole sahip, apikal “snout” içeren küboidal ya da kolumnar epitel hücreleri.

Atipili kolumnar hücreli değişim, boyları değişen şekilde kolumnar şekilli, düşük dereceli sitolojik atipi gösteren hücrelerin oluşturduğu bir veya iki katlı (1-2) epitel tabakasına sahip genişlemiş asinuslar içeren TDLÜ’lerden oluşur. Bu atipi, yuvarlak-oval şekilli, bazal membrana düzgün dik bir yerleşim göstermeyen nükleuslar ve hafif artmış nükleositooplazmik oran ile karakterizedir. Nükleer kromatin ince olabilir ya da hafifçe marjinyasyon gösterebilir, nükleol değişken derecede belirgin olabilir. Atipili kolumnar hücre hiperplazisi de atipili kolumnar hücreli değişime benzer sitolojik özellikler içermekte olup, iki hücre tabakasından daha fazla (>2) selüler tabakalanma gösterir. Çoğalan epitelyal hücreler küçük

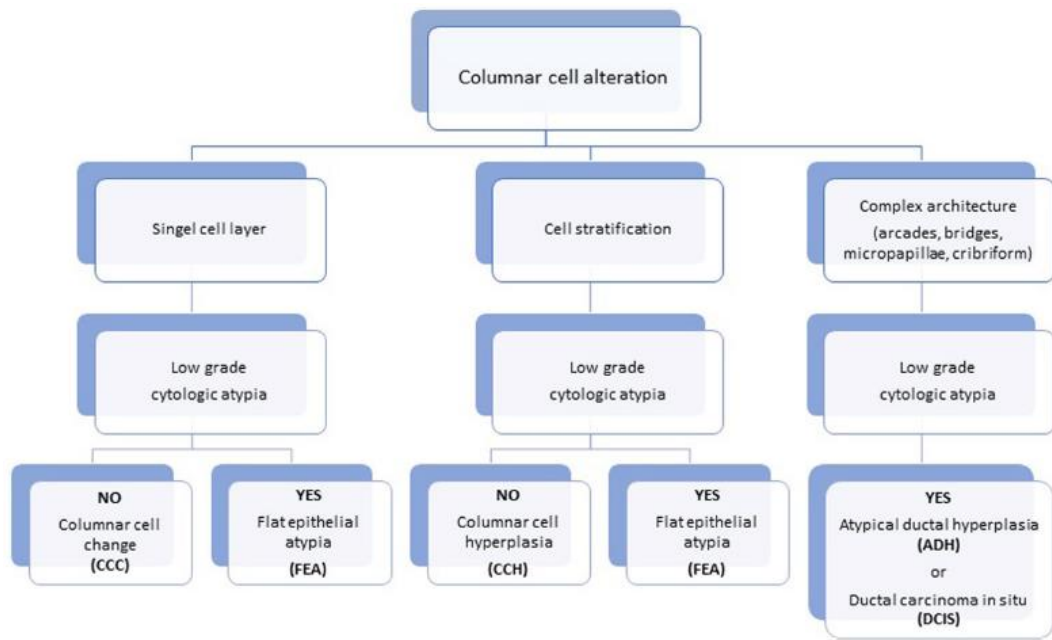
çıkıntılar ve mikropapillasyon oluşturabilir. Ancak kompleks mimari yapılanma, iyi gelişmiş mikropapillalar, köprüler ve fenestrasyonlar bulunmaz (19). Her iki lezyonda da lüminal kalsifikasyonlar izlenebilir. Epitelyal hücrelerin lüminal yüzünde sitoplazmik “snout”lar sıklıkla bulunur.

Bazı FEA vakalarının invaziv meme karsinomuna progresyon göstermekte olduğu bilinmekte olup, görünen o ki bu progresyon riski çok düşüktür. FEA'nın kanser progresyon riski, atipik hiperplazinin riskinden daha azdır. Bu yüzden FEA, atipik hiperplazi ile aynı şekilde yönetilmemelidir. Klinik-patolojik korelasyon yapılmalıdır (20). Dialini ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, kor biyopside izole FEA tanısı alan 29 hastanın cerrahi eksizyonunda invaziv tümör izlenmediğinden, cerrahi eksizyonu ancak kor biyopsi sonrası görüntüleme rezidü mikrokalsifikasyon kalan hastalarda ileri atipi (ADH/ALH) ve duktal karsinoma in situ (DKİS) riski nedeniyle önermişlerdir. Kor biyopsi sonrası rezidü mikrokalsifikasyon yoksa cerrahi eksizyon yerine görüntüleme ile takip mantıklı bir seçenek olacaktır (21).

#### **2.4. Kolumnar Hücreli Lezyon/Flat Epitelyal Atipi Ayırıcı Tanısı**

KHD, KHH ve FEA, hepsi sıklıkla sekresyon, kaba kalsifikasyon ve granüler kalsifik debri içeren düzensiz genişlemiş TDLÜ'lerden oluşur. FEA nükleusları KHD/KHH'ye göre, iri nükleusları ve kalabalık hücreleri yansıtır şekilde daha yoğun mavi boyanma eğilimindedir. FEA'da hastayı daha ileri takip gerektiğinden KHL'dan ayırt etmek gerekir (22). Önceki yıllarda pek çok farklı terminoloji kullanılması KHL tiplerini ayırmada ve tanı koymada kafa karışıklığına yol açmış olsa da, Schnitt 2003'te terminolojiye açıklık getirmiştir (16). FEA ve KHL ayrımı için yaklaşım Şekil 2.5'te gösterilmiştir. Algoritmaya göre, kompleks yapılanma içerenler KHL olmayıp, daha ileri lezyonlardır. Kompleks yapılanma yoksa tek veya çok katlı olması ve atipi içerip içermemesine göre isimlendirilir. Bir çalışmada, meme patolojisi ilgi alanı olan 8 patolog, KHL'ler ile ilgili eğitim sonrası, 30 KHL vakasını içeren testi çözmüşler ve sonucunda aralarındaki uyum oranı %91,8 çıkmıştır. Uyum oranı atipi içermeyen lezyonlarda, atipik olanlara göre daha fazladır (23). Ancak bu çalışmada test, meme patolojisi ile ilgilenen patologlar üzerinde ve eğitim sonrası uygulandığından uyum

oranının yüksek olması yanıltıcı olabilir. Başka bir çalışmada ise 14 patoloji asistanı ve yan dal “fellow”u içeren bir gruba 24 vakalık test eğitim öncesi ve sonrası uygulanmış olup, sonucunda istatistiksel  $\kappa$  değeri eğitim öncesi 0,42 (orta uyum düzeyi), eğitim sonrası 0,56 (iyi uyum düzeyi) olarak hesaplanmıştır. KHL ayırımı yapmada, eğitimin gözlemciler arası uyumu artırdığını belirtmişlerdir ancak eğitim sonrası da çok iyi düzeye ulaşamamıştır (24).



**Şekil 2.5.** Kolumnar hücreli lezyon ve flat epitelyal atipiyeye algoritmik yaklaşım. Bu şekil “Logullo, A.F., Nimir, C. Columnar cell lesions of the breast: a practical review for the pathologist. *Surg Exp Pathol* 2, 2 (2019). <https://doi.org/10.1186/s42047-018-0027-2>” makalesinden direk alıntıdır.

#### 2.4.1. Olağan Duktal Hiperplazi

Olağan duktal hiperplazi (ODH), gelişigüzel oryantasyon gösteren benign epitelyal hücrelerin koheziv proliferasyonu ile karakterizedir. Sekonder lümenler ve fenestrasyonlar bu lezyonun karakteristik özelliğidir. ADH’deki yuvarlak düzgün lümenlerin aksine, ODH’deki lümenler genelde periferik yerleşimli ve yarık benzeridir. ODH’deki düzensiz dizilime ve belirsiz sınırlara sahiptir. Nükleuslarda sıklıkla yarıklanma ve psödoinklüzyon görülür. Hücrelerde özellikle proliferasyonun merkezinde belirgin olacak şekilde akar tarzda ya da sinsityal patern izlenir. Düşük

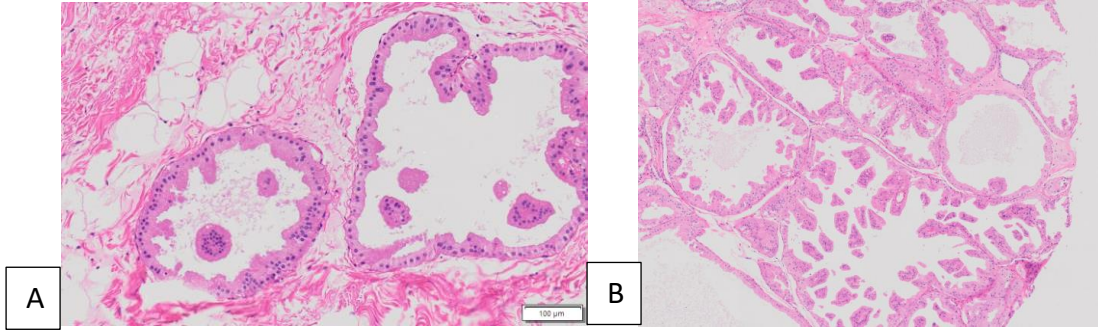
dereceli atipik proliferasyonlardaki sert köprülerin aksine, ODH'deki epitelyal köprüler ince ve esnektir, hücreler köprülere paralel yerleşimlidir. Kalsifikasyon görülebilir.

Bazen olağan hiperplazi ile birlikte kistik değişiklikler ve genişlemiş duktuslar FEA ile karışabilir. Bu tanısal zorluğa neden olacak şekilde, bazal membrana en yakın yerleşimli bazal hücre tabakası ODH içinde kolumnar özellik gösterebilir. ODH'deki akar tarzındaki uzamış nükleusların aksine, FEA monoton ve hiperkromatik nükleuslar içerir (22).

Hartmann ve arkadaşlarına göre ODH'de meme kanseri gelişme riski genel popülasyona göre 1,5-2 kat artmıştır. Mammografinin artan kullanımının meme biyopsi sıklığını arttırması nedeniyle, benign meme hastalıkları ilişkili riski anlamak önemlidir (25).

#### **2.4.2. Apokrin Lezyonlar**

Benign apokrin lezyonlar, geniş eozinofilik granüler sitoplazmaya sahip küboidal veya kolumnar hücreler içerir. Hücreler, boyutları iki kata kadar değişen farklı boyutta nükleuslara, belirgin nükleollere, apikal kabarcık ve "snout"lara sahip olabilir. Benign apokrin epitel proliferatif hiperplastik değişim ile mikropapilla ve papiller yapılar oluşturabilir. Page ve arkadaşları, çalışmalarında 10 binden fazla apokrin morfoloji gösteren benign biyopsiyi ortalama 20 yıl takip süresi ile incelemişler ve bu değişiklikleri basit, kompleks ve şiddetli kompleks olarak kategorize etmişlerdir (Şekil 2.6). Pratik olarak bu tipleri birbirinden ayırmak için bir neden olmadığını belirtmişlerdir. Ancak atipi veya in situ lezyon olarak aşırı tanı koymamak için şiddetli kompleks paterni tanımak önemlidir. Yazarlar şu sonuca varmıştır ki; non-apokrin epitelyal atipi yokluğunda meme karsinomu gelişme riskinde anlamlı bir risk artışı yoktur (26).

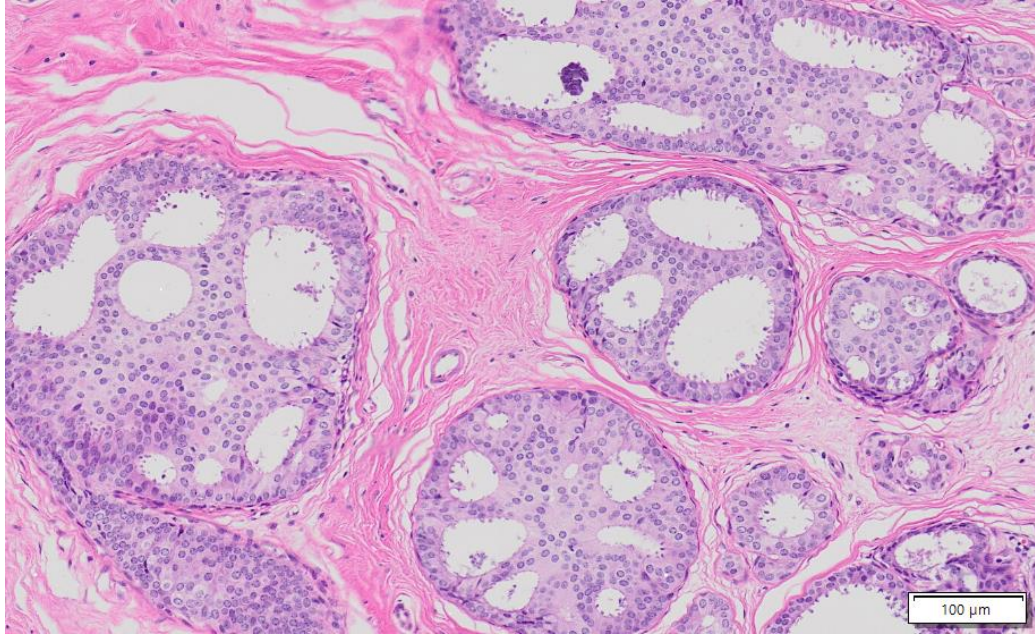


**Şekil 2.6.** Apokrin değişim gösteren benign meme lezyonlarının kategorizasyonu. A Basit apokrin metaplazi; üst üste binmeyen küçük çıkıntılar. B Kompleks apokrin metaplazi (KAM); birbirine dokunan daha geniş çıkıntılar.

Apokrin metaplazi KHD'ye benzer şekilde kalsifikasyon ve dilate boşluklar içerebilir. Yanı sıra flat veya mikropapiller büyüme paterni gösterebilir. Önemli olan FEA'yı tanımaktır çünkü apokrin metaplazi belirgin nükleol ve kendine has eozinofilik granüllere sahiptir (22).

#### 2.4.3. Atipik Duktal Hiperplazi Ve Düşük Dereceli Duktal Karsinoma İn Situ

ADH, sitolojik ve mimari özellikleri düşük dereceli DKİS'ye benzeyen intraduktal proliferasyondur. Ama duktal boşluklar kısmi tutulmuştur ve/veya sınırlı büyüklükte monoton tutulum mevcuttur (Şekil 2.7). Orta ve yüksek dereceli nükleer atipi özellikleri yoktur ve nekroz beklenmez. Duktal boşluklar tek tip bir şekilde intraduktal proliferasyon gösterdiğinde, ADH/düşük dereceli DKİS ayrımı boyut/uzanım kriterine göre yapılır. Page ve arkadaşları limit olarak tutulmuş 2 duktusu almıştır. Eğer <2 duktus tutulumu varsa ADH olarak sınıflandırmıştır (27). Tavassoli and Norris ise bitişik uzanımı  $\leq 2$  mm olan lezyonları ADH olarak sınıflandırmıştır (28).



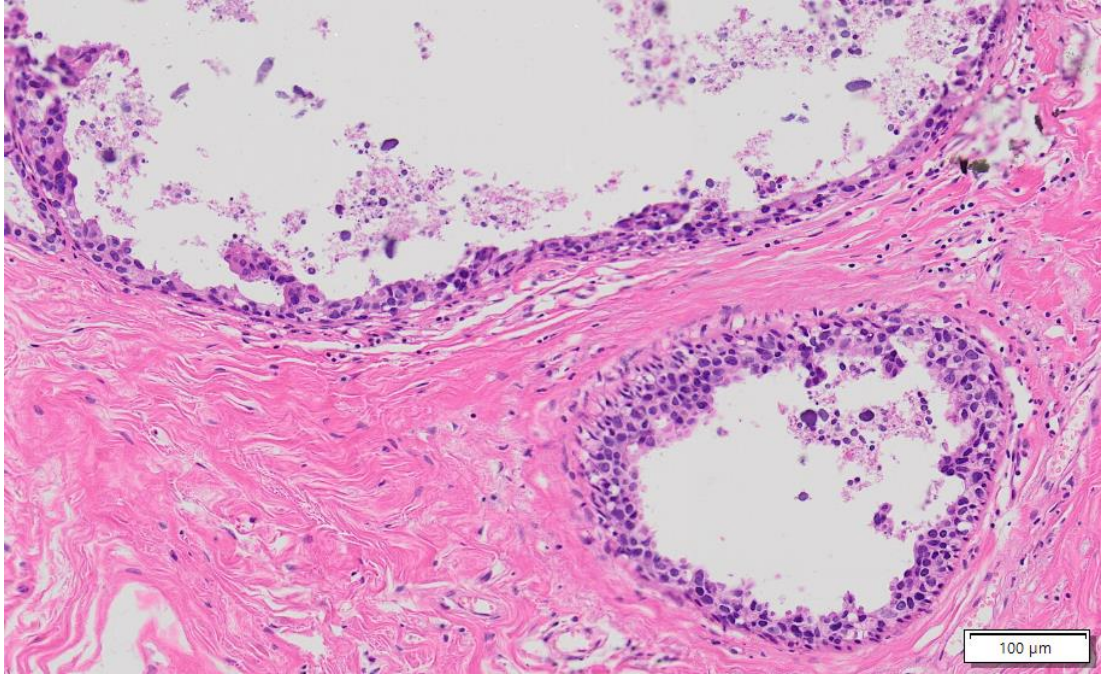
**Şekil 2.7.** ADH. Monomorfik nükleuslar ve epitel hücrelerinin boşluklar etrafında polarizasyonu.

FEA ise, ADH ve düşük dereceli DKİS ile, ADH ve düşük dereceli DKİS’de iyi gelişmiş mikropapillalar, sert köprüler ve kemerler, düzgün şekilli fenestrallar gibi kompleks mimari yapıların varlığı ile ayrılır (22).

#### **2.4.4. Yüksek Dereceli Flat (“Clinging”) Duktal Karsinoma İn Situ**

Yüksek dereceli nükleer atipi ve belirgin nükleer pleomorfizm FEA’nın özelliği değildir. Yanı sıra yüksek dereceli DKİS (Şekil 2.8) sıklıkla Her-2 pozitif, ER negatif olup, yüksek mitotik indeks göstermekte iken, FEA Her-2 negatif, ER kuvvetli pozitif olup, nadiren mitotik figür içerir (22).



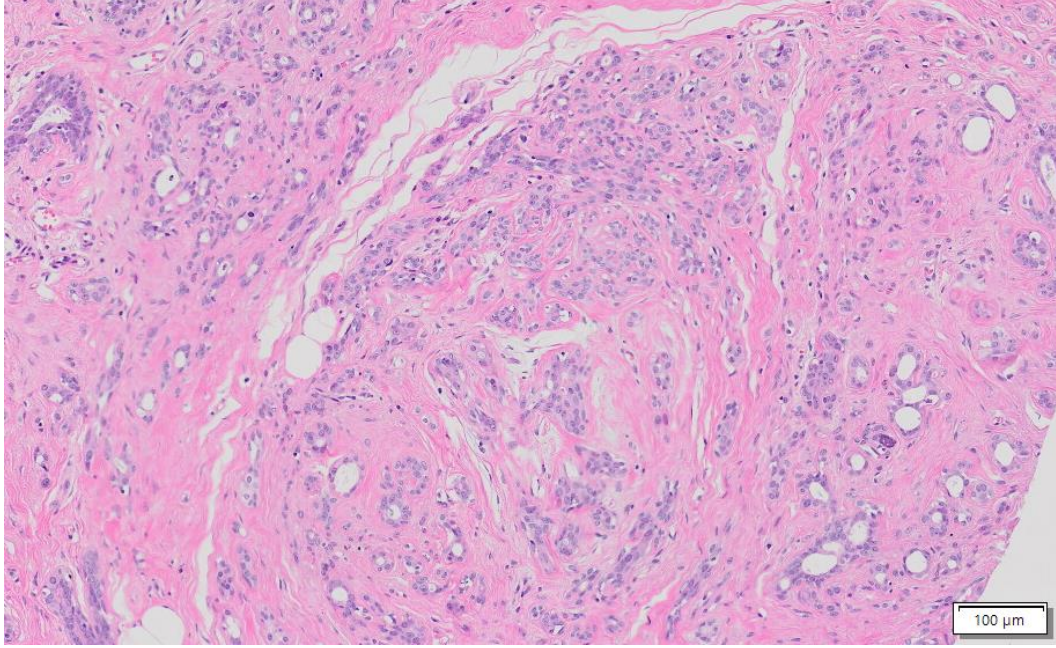


**Şekil 2.8.** Flat DKİS. Belirgin nükleole sahip, hiperkromatik, pleomorfik nükleuslar. Lümende kalsifikasyon ve nekroz.

## 2.5. Kolumnar Hücreli Alanlar İçerebilen Benign Proliferatif Lezyonlar

### 2.5.1. Sklerozan Adenozis

Sklerozan adenozis, stromal kollajen tarafından sıkıştırılmış, çoğalmış küçük asiner ve tübüler yapılara bağlı genişlemiş lobüler üniteler ile karakterizedir (Şekil 2.9) (29). Duktüller küçük, yuvarlaktan açılıya değişen şekillerde ve genellikle tek tip görünümündedir. Epitelyal hücreler küboidal ya da kolumnar olup, santral yerleşimli nükleusa sahiptir. Duktüllerin periferindeki myoepitelyal hücreler daha hiperkromatik, iğsi şekilli nükleusları ile kolayca tanınabilir. Glanduler sıkışıklık lezyonun mekezinde daha belirgindir ve lümenler tamamen kapalı olabilir, ki bu solid bir görünüm kazandırır (30). Atipik epitelyal proliferasyonlar sklerozan adenozisi tutabilir ve bu durum tanısal güçlük oluşturabilir. Ancak lobülosentrik büyüme paterni ve myoepitelyal hücrelerin varlığı tanıyı koymada yararlıdır.

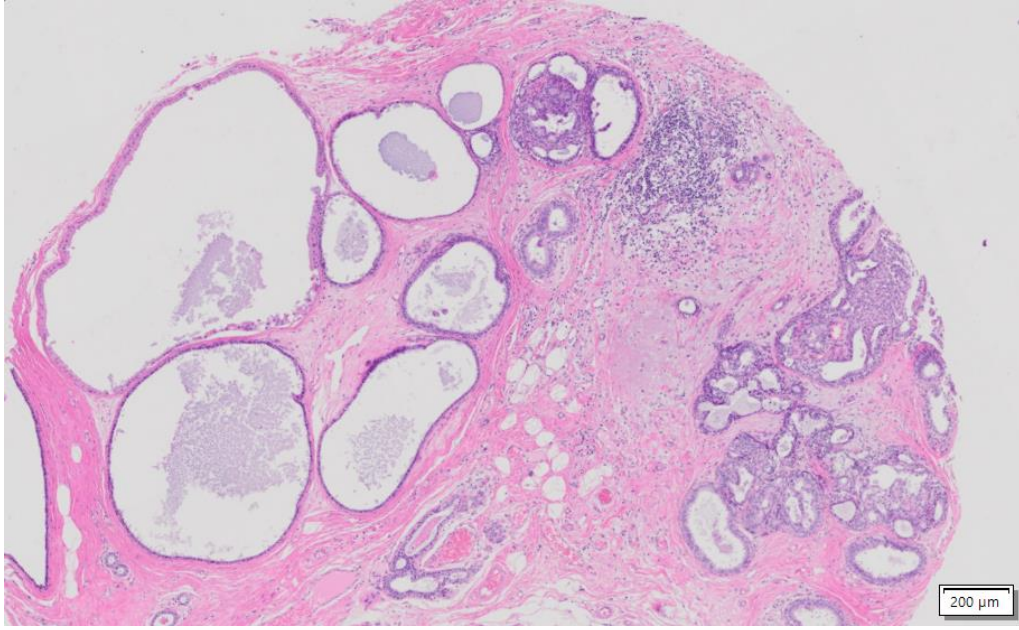


**Şekil 2.9.** Sklerozan adenozis. Glanduler sıkışıklık ve buna bağlı bazı lümenlerin kapanması.

Sklerozan adenoziste meme kanseri gelişme riski, normal popülasyondaki kadınların yaklaşık 2 katıdır (31). Cerrahi eksizyon endikasyonu yoktur. Ancak atipik epitelyal proliferasyon mevcutsa, hasta yönetimi için multidisipliner değerlendirme gereklidir.

### 2.5.2. Radyal Skar

Radyal skar, yıldızimsı bir dizilime sahip lobülosentrik bir proliferasyon olup, KHL, kist, ODH ve sklerozan adenozis içerebilir. Santral yoğun hyalinize kollajen ve elastoz içerir. Lezyonun merkezinde fibröz dokuya gömülü küçük, düzensiz benign tübüller, periferinde ise farklı derecelerde genişlemiş duktuslar, ODH, apokrin metaplazi ve farklı paternlerde epitelyal proliferasyon bulunur (Şekil 2.10) (32).



**Şekil 2.10.** Radyal skar. Santralinde elastoz, periferal olarak ise sağda ODH ve KHL, solda apokrin metaplazi ve fibrokistik değişiklikler içeren bir radyal skar.

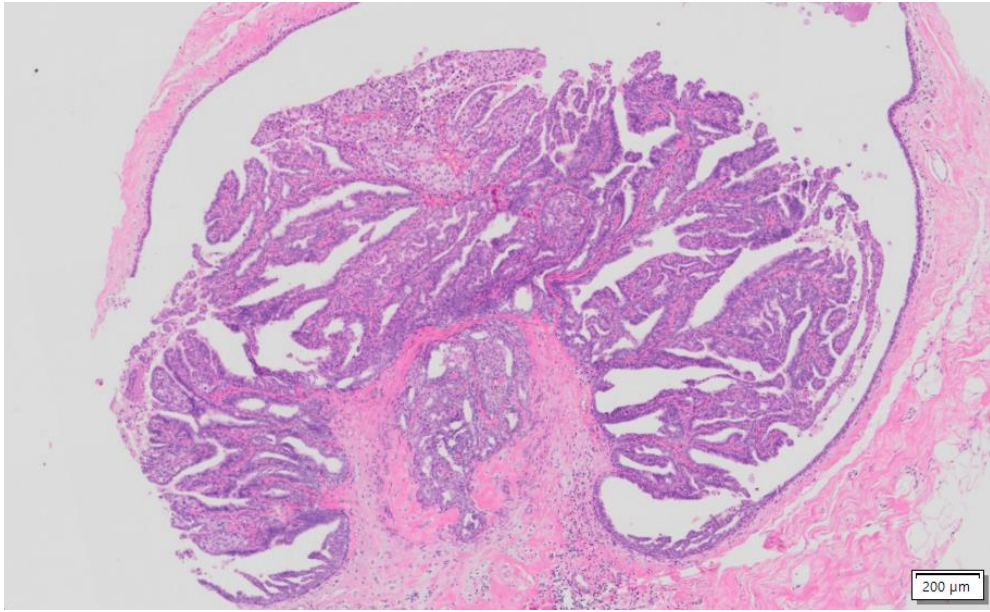
Radyal skarda artmış kanser riski yaklaşık 1,5 kattır. Çoğu çalışmaya göre kor biyopside saptandığında cerrahi eksizyon yerine takip önerilmelidir(33). Başka bir çalışmada ise, kor biyopside saptandığında kanser riskinin ihmal edilemeyeceğini, cerrahi gerektiğini, vakum biyopsi ile alındığında ise cerrahinin zorunlu olmadığını belirtmişlerdir (34).

### 2.5.3. İntraduktal Papillom

Santral ve periferik olmak üzere her iki tip papillom da koheziv ve ağaç dalları şeklinde yapılanma gösteren, myoepitelyal hücreler ve epitelyal hücreler ile döşeli fibrovasküler korlardan oluşmaktadır (Şekil 2.11). Epitelyal bileşen, küboidal ya da kolumnar hücreler, ODH ya da apokrin değişim içerebilir. Skleroz/fibrozis yaygın olarak görülebilir. Hücreler KHL'ye benzer ve yalnızca sitolojik özellikleri göz önüne alındığında (papiller oluşum göz ardı edilirse) KHL'den ayrılamaz.

Benign papillomlar monoklonal proliferasyonlardır; Noguchi ve arkadaşları bu lezyonlara yaptıkları klonal analiz sonucu hepsinin monoklonal olduğunu göstermiş ve bu lezyonun lüminal epitelyal hücre ve myoepitelyal hücreye

dönüşebilen ortak bir prekürsör'den köken aldığını ortaya atmıştır (35). Benign papillomlarda PIK3CA/AKT1 yolağında aktive edici nokta mutasyonlar sıklıkla tanımlanmıştır. Papiller neoplazilerde yapılan bir çalışmada, papillomların yaklaşık 2/3'ünde PIK3CA/AKT yolağında mutasyon saptanmıştır (36). Başka bir çalışmada ise, 16p13 ve 16q21 bölgesindeki heterozigosite kaybı (LOH), benign ve malign papiller lezyonlarda saptanmış olup, 16q23 bölgesindeki LOH'nin ise malign papiller lezyonlar ile sınırlı olduğu belirtilmiştir (37).

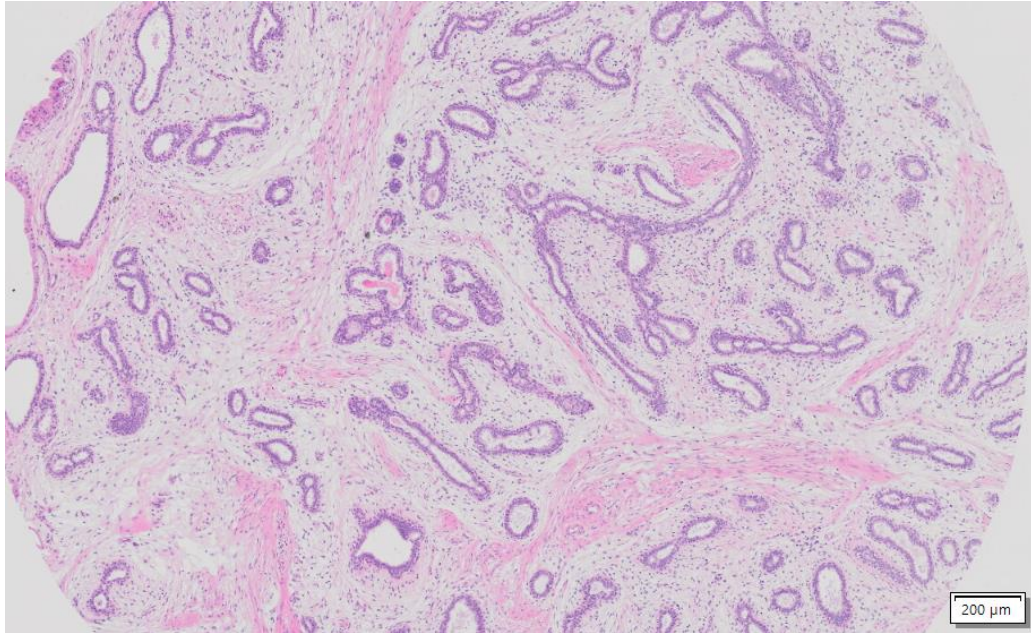


**Şekil 2.11.** İntraduktal papillom. Ağaç dalları şeklinde yapılanma gösteren, fibrovasküler korlar ve bunları döşeyen çift katlı epitel-myoeplithelium tabakası, KHL ve apokrin metaplazi içeren intraduktal papillom.

Son zamanlardaki çalışmalar değişken olmakla birlikte, genel kanı atipi içermeyen intraduktal papillomlardan kanser gelişim riskinin az olduğudur (<%1), bu sebeple kor biyopside atipi içermeyen intraduktal papillom için direk cerrahi eksizyon değil, takip önerilir (38). Ancak kor biyopside atipik özellikler mevcutsa cerrahi eksizyon yapılmalıdır.

#### 2.5.4. Fibroadenom

Fibroadenom (FA), epitelyal ve stromal bileşenin proliferasyonunu gösteren TDLÜ'lerin iyi sınırlı benign tümörüdür (Şekil 2.12). Açık duktusların çevresinde gelişen stromal hücreleri ile oluşan perikanaliküler ve stromal baskı sonucu duktusların içine doğru uzantılar ile oluşan intrakanaliküler olmak üzere iki patern gösterebilir. Stromal bileşen genelde düşük selüleriteye sahiptir ve atipi yoktur. Mitoz yaygın değildir. Apokrin metaplazi, KHL, fibrokistik değişiklik, sklerozan adenozis, ODH ve myoepitelyal proliferasyon içerebilir. Sık olmamakla birlikte FA içinde ADH/DKİS/LKİS izlenebilir (39). İnvaziv tümör tutulumu görülebilir.



**Şekil 2.12.** Fibroadenom. Yaygın KHL ve solda apokrin metaplazi içeren fibroadenom.

Jüvenil FA, genelde perikanaliküler büyüme paterni gösterir. Stromal selüleritede hafif-orta artış, fasiküler dizilim gösteren stromal hücreler, sıklıkla jinekomastoid tipte ODH izlenebilir (40).

Kompleks fibroadenomlar şu özelliklerden bir veya daha fazlasını içerir: 3 mm'den büyük kistler, sklerozan adenozis, kalsifikasyon, papiller apokrin metaplazi (41).

Fibroadenomların çoğu tam eksizyon sonrası rekürens göstermez ama adolesanlarda rekürens eğilimi daha fazladır (42). FA'larda kanser gelişim riski normal popülasyonun 2.17 katı fazladır. Bu oran kompleks FA'larda 3.10 ile, görece kanser riskinde hafif artışla ilişkilidir (41).

## 2.6. "Rosen" Triad

Dr Paul Peter Rosen 1999'da kolumnar hücreli lezyonlara işaret ederek, bu proliferatif lezyonlar için pretübüler hiperplazi ismini kullandığını, kişisel gözlemi olarak bu lezyonların tübüler karsinom (TK) çevresinde sıklıkla olduğunu ve bazen de lobüler karsinoma in situ da eşlik ettiğini belirtmiştir (43). Sonrasında tübüler karsinom ve KHL birlikteliğini belirten yayınlar da mevcuttur (44, 45). Abdel-Fatah ve arkadaşları çalışmalarında kolumnar hücreli lezyonların pür veya miks tübüler karsinom formları ile ilişkili olduğunu, lobüler neoplazi (LN) ve kolumnar hücreli lezyonların, invaziv tübüler karsinom ve invaziv lobüler karsinom ile birlikteliğinin sık olduğunu gözlemlemişlerdir. 147 tümör ve prekürsör lezyonu içeren bu çalışmada pür TK vakalarının %95'i KHL ile, özellikle de FEA ile ilişkilidir. Vakaların %89'unda ADH/DKİS bulunur. KHL, ADH/DKİS ve TK bir arada bulunan vaka oranı %85'tir (46). 2008'de Brandt ve arkadaşları, gözlemi ilk yapan kişiye ithafen, TK, lobüler karsinoma in situ (LKİS) ve KHL'den oluşan üçlü gruba "Rosen" triad denilmesini önermiştir. Bu çalışmada değerlendirilen 86 TK vakasından %53'ünde eşlik eden LKİS, %100'ünde herhangi bir tipte KHL (KHD, KHH, FEA) izlenmiştir (47).

## 2.7. Düşük Dereceli Meme Karsinogenezi Ve Prekürsör Lezyonlar

Günümüzde de kabul edilen meme kanseri gelişim modeli, morfolojik olarak tanımlanan selüler atipi içeren erken prekürsör lezyonlardan, karsinoma in situ'ya ve oradan da invaziv meme kanserine basamaklı bir ilerleme içerir. Yüksek dereceli meme karsinomları için prekürsör lezyon tanımlanamamakla birlikte düşük dereceli karsinomlar için gelişim riski taşıyan en erken lezyonlar FEA, ADH ve LN'dir. Morfolojik olarak, düşük dereceli yolak, FEA, ADH ve LN'nin düşük dereceli nükleer

atipi gibi histolojik özellikleri paylaşması ve aynı biyopside eş zamanlı (Rosen's triad) görülmeleri gibi sebeplerle desteklenmektedir.

Geçmişten beri pek çok yazar, FEA'nın, DKİS ve bazı invaziv meme karsinomu tipleri, özellikle de TK, ile sıklıkla ilişkili olarak görüldüğünü belirtmişlerdir. Goldstein ve O'Malley 2003'te hem düşük dereceli DKİS hem de TK ile benzer bir lezyon arasında ilişki bulmuş ancak bu lezyonu "apikal <snout>lar içeren, atipik hücrelerle döşeli küçük ektatik kanallar" olarak isimlendirmiştir (44). Başka yazarlar da daha önce "flat atipik lezyonlarla, DKİS ve/veya invaziv karsinomların ilişkisine işaret etmişlerdir (47-49).

Düşük dereceli lezyonlardaki yaygın genetik değişikliklerden biri heterozigosite kaybıdır (LOH). 16q ve 17p bölgesinde LOH; ADH, in situ ve invaziv karsinomda görülür (50). 9q, 10q, 17p ve 17q'da allelik kayıp veya hasar; FEA, DKİS ve invaziv karsinomda gösterilmiştir (51). Erken prekürsör lezyonlar, en sık olarak 16q kaybı ve 1q kazanımı göstermektedir(52). Bu genetik değişiklikler, düşük dereceli DKİS ve düşük dereceli invaziv karsinom için karakteristik olan genetik değişikliklerle aynıdır (2). Bu yüzden düşük dereceli prekürsör lezyonlardan düşük dereceli invaziv karsinoma doğrusal bir ilerleme yolu bulunduğu düşünülmüştür (46). Pek çok yazar, KHL'de kromozom 16'daki anormallikleri LOH analizi, genomik hibridizasyon ve floresan in situ hibridizasyon (FISH) ile araştırmışlardır (53, 54). Ancak bu çalışmalarda test edilen lezyon sayısının az olması, farklı DNA probu kullanılması, KHL tanısındaki farklı kriterler ve gözlemciler arası tanı koymada değişkenlik gibi sebeplerle sonuçlar tamamlanmamış olabilir. Bu sebeple Boer ve arkadaşları başka bir çalışmada düşük nükleer dereceli meme neoplazi ailesine ait lezyonlar (KHL, ADH, DKİS, invaziv duktal karsinom gibi) ve yüksek nükleer dereceli lezyonlar'da 16q ve 16p üzerindeki çoklu gen kopya sayısı değişikliklerini araştırmıştır. KHL'de, ODH aksine, sıklıkla 16q'da tüm kol kaybı bulunmuştur. 16q üzerindeki spesifik bir gendeki majör olaydan ziyade, minör olaylara işaret eder şekilde, spesifik bir genin tekrarlayıcı kaybı izlenmemiştir (55).

Mitokondriyal DNA sekanslama ve allelik dengesizliklerin değerlendirilmesi ile, TK ve FEA içeren çoğu vakada direk klonal bir ilişkinin bulunması, bu spesifik

kanser tipinin gelişiminde FEA'nın prekürsör rolünü teyit etmiştir. Yanı sıra düşük dereceli DKİS bulunan vakalarda, FEA sıklıkla bununla klonal olarak ilişkili, eşlik eden LN ile klonal ilişkisiz bulunmuştur (56). LN'nin sıklıkla *CDH1* genindeki genetik ve epigenetik inaktivasyon gösterdiği bulgusu ile bu gözlem desteklenmiştir (57).

Meme karsinogenezinde, onkogen aktivasyonu ve tümör supresör gen inaktivasyonu önemli rol oynar. Ek olarak, promotör CpG adalarının metilasyonu gibi epigenetik anormallikler de, tümör gelişimi sırasında erken olay olarak düşünülür ve tümör supresör genlerinde, DNA tamir genlerinde, hücre siklus düzenleyicilerde ve transkripsiyon faktörlerinde inaktivasyona neden olabilir. Bir çalışmada, normal meme dokusundan, KHL ve DKİS'ye, oradan da invaziv karsinoma doğru basamaklı olarak metilasyonun arttığı izlenmiştir (58).

### 2.7.1. AKT/PKB Sinyal Yolağı

Pek çok genetik lezyon, solid ve hematolojik tümörlerde AKT hiperaktivasyonuna neden olur. Bunlar, *EGFR*, *HER2* ya da diğer RTK'ler, *PDK1* ve *PIK3CA*'daki amplifikasyon ya da tekrarlayan onkogenik somatik mutasyonlardır. Benzer şekilde *PTEN*, *INPP4B* ve *PHLPP* gibi tümör supresör genlerdeki inaktive edici mutasyonlar veya LOH de AKT hiperaktivasyonuna götürür (59).

Meme kanseri etiolojisinde ve progresyonunda da, somatik mutasyonlar, amplifikasyonlar ve fosfoinositid 3 kinaz (PI3K) yolağındaki proteinleri kodlayan diğer genlerdeki genetik lezyonlar kritik bir role sahiptir. Bunu hücre çoğalması, yaşam süresi ve metastazı düzenleyerek yapar (60). Artmış PI3K/AKT sinyali insanda pek çok kanserde tanımlanmış olduğu gibi, primer meme kanserinde de %70 vakada, PI3K yolağında bir veya daha fazla bileşende değişiklik görülür. Örn: sınıf I PI3K'in katalitik alt birimini kodlayan gende (*PIK3CA*) amplifikasyon veya mutasyon, Her2 gibi onkogenik tirozin kinaz reseptörlerinin aktivasyonu, PTEN ve/veya INPP4B gibi tümör supresörlerde fonksiyon kaybı, *AKT1* protoonkogeninde amplifikasyon veya mutasyon (5). Meme kanserlerinin yaklaşık %27'sinde *PIK3CA* geninde fonksiyon kazanımı mutasyonu mevcuttur. %80'den fazla *PIK3CA* mutasyonu E542K, E545K ya da H1047R'de olur ve bunlar artmış AKT aktivasyonu ile sonuçlanan

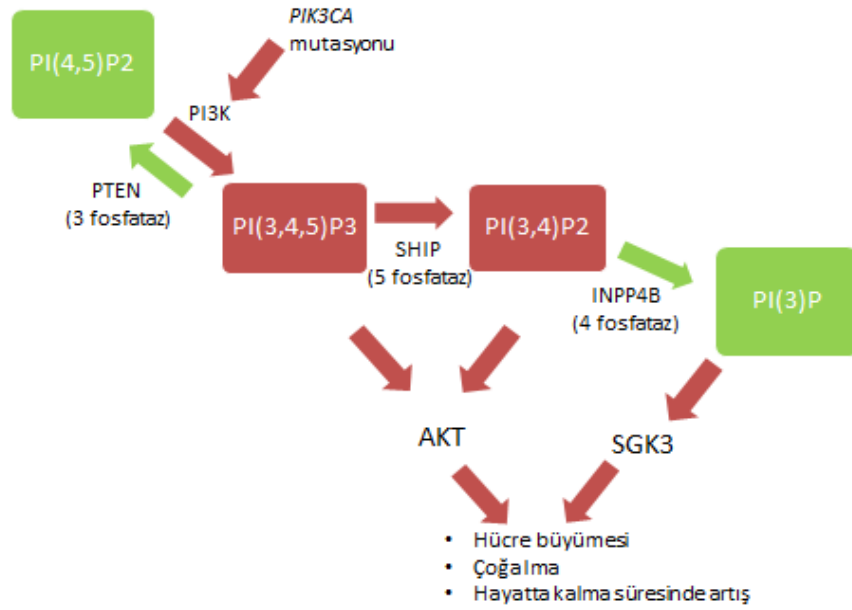


onkogenik mutasyonlardır (61). *PIK3CA* mutasyonları en sık hormon reseptör pozitif meme tümörleri ve HER2 pozitif tümörlerde, nadiren de üçlü negatif/bazal benzeri kanserlerde görülür (62). Ancak AKT aktivasyonu her zaman *PIK3CA* mutasyonu ile uyumlu değildir (14). Diğer PI3K efektörlerinin de tümöre katkı sağlamaları olasıdır (63).

Memede kolumnar hücreli lezyonlarda da *PIK3CA* mutasyonu görülebilir. Bir çalışmada, 24 KHL ve FEA içeren vakanın 13'ünde *PIK3CA* mutasyonu saptanmıştır. Ek olarak KHL ve eşlik eden karsinomun mutasyon statüsünde küçük de olsa uyum bulunmuştur (8).

AKT, kanserlerde en çok yolaktaki üst düzenleyicilerdeki mutasyonlar nedeniyle aktive oluyor olsa da, 3 AKT izoformunun kendileri de onkogendir. Memeli genomunda bilinen 3 adet AKT/PKB izoform vardır: AKT1 (PKBa), AKT2 (PKBb), and AKT3 (PKBg). AKT aktivasyonunun, bir lipid kinaz olan, hücrel dönüşüm ve insülin cevabı ilişkili PI3K'in akışında gerçekleştiği bulunduktan sonra, AKT'nin sinyal iletiminin ilgi odağı olduğu ortaya atıldı (64).

Sınıf 1 PI3K, fosfoinositidlerin inositol gruplarındaki 3 hidroksil'i fosforile eder ve bu durum phosphatidilinositol-3,4-P2 (PI3,4P2) ve phosphatidilinositol-3,4,5-P3 (PIP3) ikincil lipid habercilerinin üretimi ile sonuçlanır. AKT, PI3K bağımlı bir şekilde büyüme faktörleri tarafından aktive edilir (65). Downes ve Alessi başlangıçta gösterdi ki; AKT, amino ucunda PIP3'e bağlanabilen "pleckstrin homology (PH) domain"e sahiptir (66). Daha sonra PI3,4P2 ve PIP3'ün AKT'nin PH "domain"ine direk olarak bağlandığı gösterildi (67). Bu alandaki diğer önemli bulgu ise, AKT aktivitesinin sonlanma mekanizması ve onun ilk substratları ile ilgilidir. PI3K aktivitesi tümör supresör PTEN tarafından engellenir (12). Geçtiğimiz 30 yılda, AKT sinyal yolağı alanında önemli büyüme ve keşifler olmuştur (Şekil 2.13).



**Şekil 2.13.** PI3K/AKT yolağının diyagram şeklinde gösterimi. Kırmızı oklar ve kırmızı dolgulu bileşenler; AKT ve SGK3'ün fosforilasyonu, devamında hücre büyümesi, çoğalması ve hayatta kalım süresinin artışı ile sonuçlanan PI3K bağımlı bu yolaktaki onkogenik etkiye sahip kinaz, fosfataz ve aşağı akışta gerekli olan moleküllerdir. Yeşil oklar ve yeşil dolgulu moleküller ise bu akışı durdurmaya çalışan fosfataz özelliğindeki tümör supresör ve aşağı akışta kullanılmayan moleküllerdir. Normalde AKT'nin aktivasyonu, AKT fosforilasyonunda gerekli olan fosfatidilinositol fosfat tiplerinin INPP4B ve PTEN tarafından dönüştürülmesi ile durdurulur. Ancak bu PI3K yolağı ilişkili bir gendeki (Örn: *PIK3CA*, *AKT*, *PTEN*) değişiklik, AKT hiperaktivasyonu ile sonuçlanır.

### 2.7.2. AKT Düzenlenmesi ve PI3K Bağımlı AKT Aktivasyonu

Tüm hücre ve dokularda, hücre dışı uyarın tarafında aktive olan PI3K, AKT aktivasyonu ile sonuçlanır (Şekil 2.14A). PI3K ve onun lipid ürünleri, uygun bir AKT aktivasyonu için zorunlu ve hız kısıtlayıcıdır. AKT aktivasyonuna giden yolak, RTK ya da GPCR uyarılması ile başlatılır. Reseptörler, sınıf 1 PI3K ailesinin bir veya daha fazla izoformunun plazma membranında birikmesi ve aktivasyonunu sağlar(9). Aynı zamanda PI3K'nin düzenlenmesinde önemli bir nokta da RAS ailesinin üyeleri ile etkileşimdir (68). Sınıf 1 PI3K'lar baskın olarak PI4,5P2'yi fosforile eder ve PIP3 oluşur (9). PI3,4P2 sentezi tipik olarak devamından gelir, bu belki de 5-fosfataz SH-2 bölgesi içeren inositol 5-fosfataz'ın (SHIP) PIP3 üzerindeki etkisi ile olabilir (67).

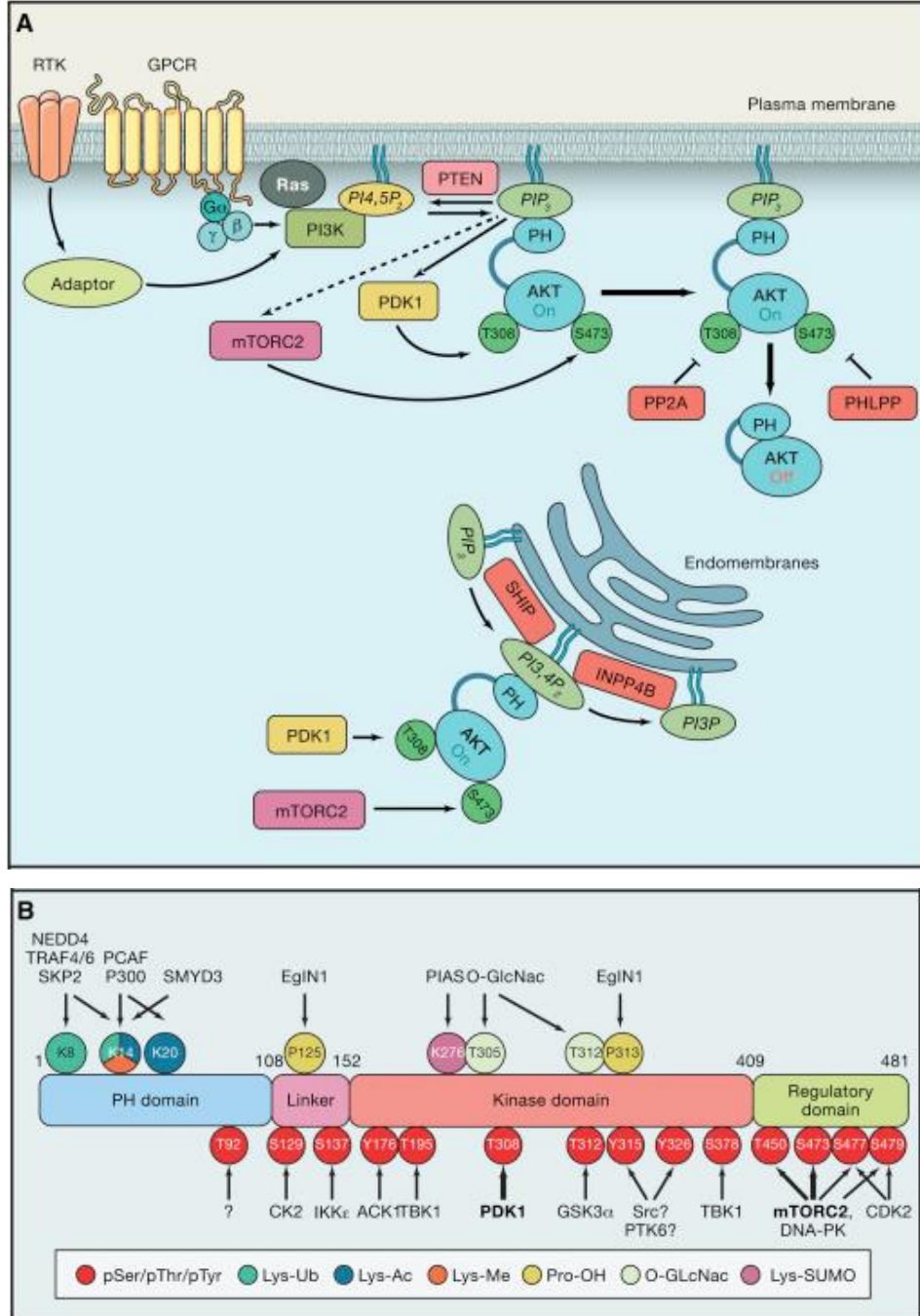
PI(3,4)P<sub>2</sub> aynı zamanda PI(4)P'yi substrat olarak kullanan sınıf II PI3K tarafından sentezlenebilir (69). Belirli bir selüler olayda aktive edilen spesifik PI3K izoformu değişebilmesine rağmen, sonuç aynıdır ve inaktive AKT'nin, AKT'nin "PH domain"lerini işgal eden PI<sub>3,4</sub>P<sub>2</sub> ya da PIP<sub>3</sub>'ün membran bölgelerine yeniden yerleşmesi gerçekleşir.

PI3K-PIP<sub>3</sub> sinyalinin sonlandırılması esas olarak fosfataz PTEN tarafından olur. PTEN, PIP<sub>3</sub>'ü defosforile ederek tekrar PI<sub>4,5</sub>P<sub>2</sub>'ye dönüştürür.

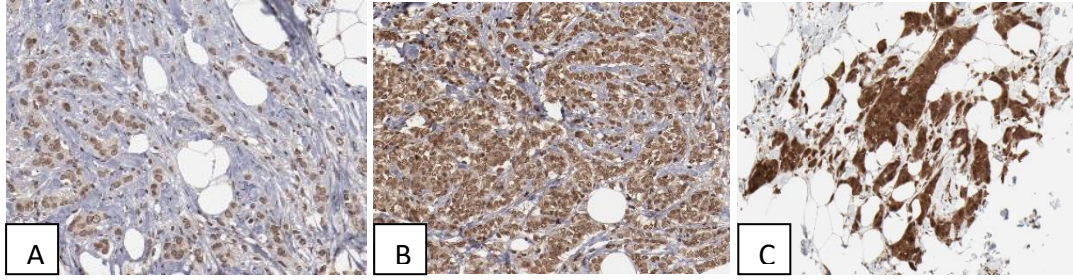
### 2.7.3. AKT Üzerindeki Majör Düzenleyici Fosforilasyon Olayları

PI3K aktivasyonu AKT1 üzerindeki iki anahtar bölgenin fosforilasyonu ile sonuçlanır; katalitik protein kinaz çekirdeğinin aktivasyonunda T308 ya da T-loop ve C-terminal hidrofobik motifteki S473 (Şekil 2.14B) (70). Kinazın maksimal aktivasyonu için her iki bölgenin de fosforilasyonu gereklidir. Düzenleme aynı zamanda AKT2 (T309 ve S474) ve AKT3 (T305 ve S472)'ün benzer bölgelerinde de olur. Fosfoinositid bağımlı protein kinaz 1 (PDK1), AKT aktivasyonu için gerekli olan, AKT1'i T308 bölgesinden fosforile edebilmesi ile keşfedilmiştir (10). PDK1, PI3K aktivasyonu ile hücre membranında toplanır ve bazı sistemlerdeki PI3K aracılı dönüşüm için bağımsız olarak gereklidir (71). AKT ve PDK1'in, PIP<sub>3</sub> ya da PI<sub>3,4</sub>P<sub>2</sub> sentezinin membran bölgelerine yer değiştirmesi ile, şekil değişikliği olur ve PDK1'in AKT'yi T308'den fosforile etmesi için erişim sağlanmış olur (72). Vasudevan ve arkadaşlarının çalışmalarına göre meme tümörü bulguları ile uyumlu olarak, *PIK3CA* mutant hücreler, mutasyon tipi ve p-AKT seviyelerinden bağımsız olarak kuvvetli p-PDK1 seviyeleri göstermiştir. Bu yüzden *PIK3CA* mutant hücrelerde aktive PDK1 yüksek oranda eksprese edilir ve tümörigenez için gereklidir (14). PDK1 aynı zamanda diğer AGC ailesi protein kinazlarının (Protein kinaz A, G, C, büyüme faktörü ile uyarılan PKC, S6K, SGK ve RSK'nin tüm izoformları) aktivasyon bölgesi fosforilasyonu için de gereklidir (72). Ancak bu kinazların hiçbiri "PIP<sub>3</sub>-bağlanma domain"ine sahip değil, görünen o ki AKT, bu grup içinde tek zorunlu PIP<sub>3</sub> bağımlı PDK1 hedefidir (73). AKT'nin maksimum aktivasyonu için hidrofobik motifteki S473'ün fosforilasyonu gereklidir. Birincil AKT S473 kinaz, "mechanistic target of

rapamycin (mTOR) complex 2" (mTORC2)'dir (11). S473 fosforilasyonu eksik olan AKT aktiviteye sahiptir ancak büyük oranda aktivite azalmıştır. S473 fosforilasyonu, T308 fosforilasyonunu ve AKT'nin aktif durumunu sağlamlaştırır (70).



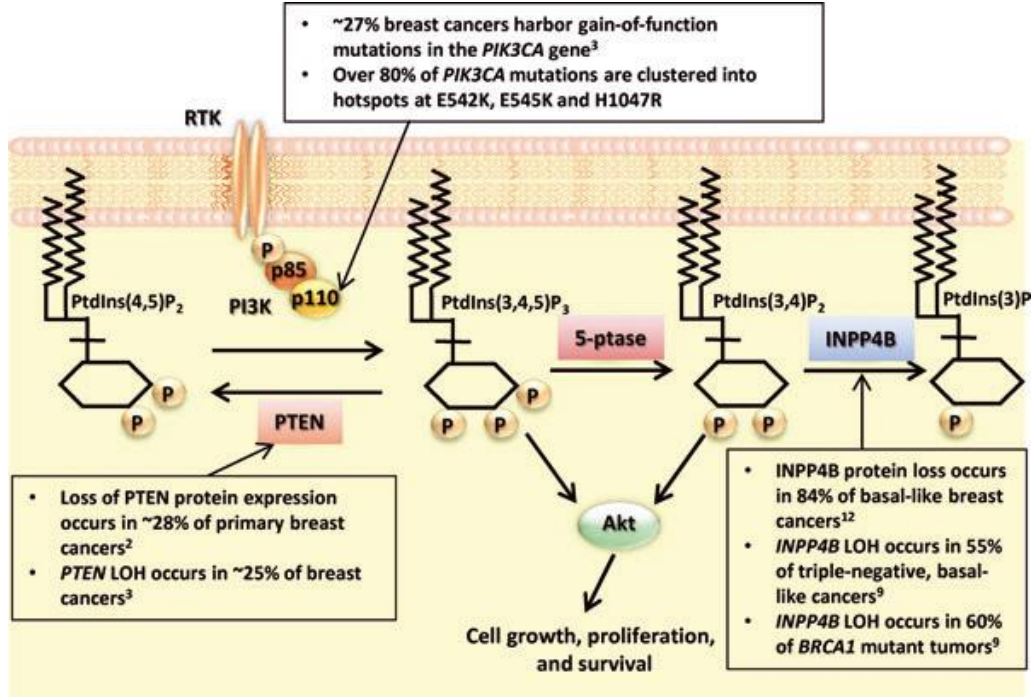
**Şekil 2.14.** A. AKT regülasyonunun moleküler mekanizması. B. AKT1'in modüler yapısı. Bu şekil "Manning BD, Toker A. AKT/PKB signaling: navigating the network. Cell. 2017;169(3):381-405." Makalesinden direkt alıntıdır.



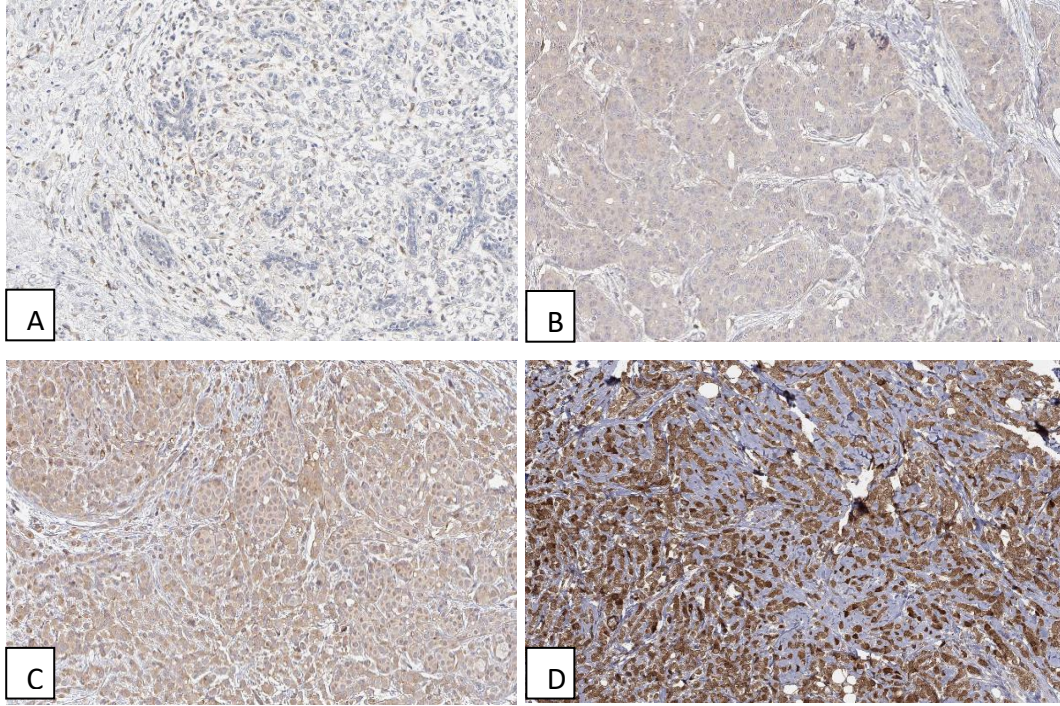
**Şekil 2.15.** AKT immunohistokimyasının “The Human Protein Atlas” görüntüleri. A. AKT zayıf şiddette pozitif. B. AKT orta şiddette pozitif. C. AKT kuvvetli pozitif.

#### 2.7.4. PTEN

*PTEN* 10q23 bölgesinde yerleşimli bir tümör supresör genidir. PI3K aktivitesini, PI(3,4,5)P3'ü, PI(4,5)P2'ye hidrolize ederek, negatif olarak düzenler (Şekil 2.16). *PTEN*, korunmuş katalitik CX5R motifi içeren amino terminal fosfataz domain ve C2 domain içeren karboksil terminal domain'e sahiptir. *PTEN* kaybı, PI(3,4,5)P3 sinyallerini artırır ve kontrolsüz AKT aktivasyonu ile artmış hücre yaşam süresi, büyüme ve proliferasyona sebep olur (61). Kanserde azalmış *PTEN* fonksiyonu, mutasyon, LOH, proteinlerin stabil olmaması ve/veya epigenetik modifikasyonlar sonucu olabilir. *PTEN* germline mutasyonu, otozomal dominant Cowden sendromu olan ailelerin %80'inde bulunur, ki bu durum artmış meme kanseri riski ile ilişkilidir. *PTEN* somatik ve biallelik mutasyonları, melanom, prostat ve endometrium kanserlerinde yaygındır ancak sporadik meme kanserlerinde *PTEN* mutasyonu %2,3 insidans ile daha az sıklıkta olup, ER/PR pozitif tümörlere sınırlıdır (62). *PTEN* bölgesinde LOH, meme karsinomlarının %24,9'unda (61), *PTEN* protein ekspresyon kaybı ise yaklaşık %28 primer meme karsinomunda bulunur (5).



**Şekil 2.16.** PI3K sinyal yolağı. PI(3,4,5)P<sub>3</sub> ve PI(3,4)P<sub>2</sub>'nin her ikisi de AKT aktivasyonunu kolaylaştırır. AKT aktivasyonu 3-fosfataz olan PTEN ve 4-fosfataz olan INPP4B ile sonlandırılabilir. Bu şekil "Bertucci MC, Mitchell CA. Phosphoinositide 3-kinase and INPP4B in human breast cancer. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2013;1280(1):1-5." makalesinden direk alıntıdır.



**Şekil 2.17.** PTEN immunohistokimyasının “The Human Protein Atlas” görüntüleri. A. PTEN negatif. B. PTEN zayıf şiddette pozitif. C. PTEN orta şiddette pozitif. D. PTEN kuvvetli pozitif.

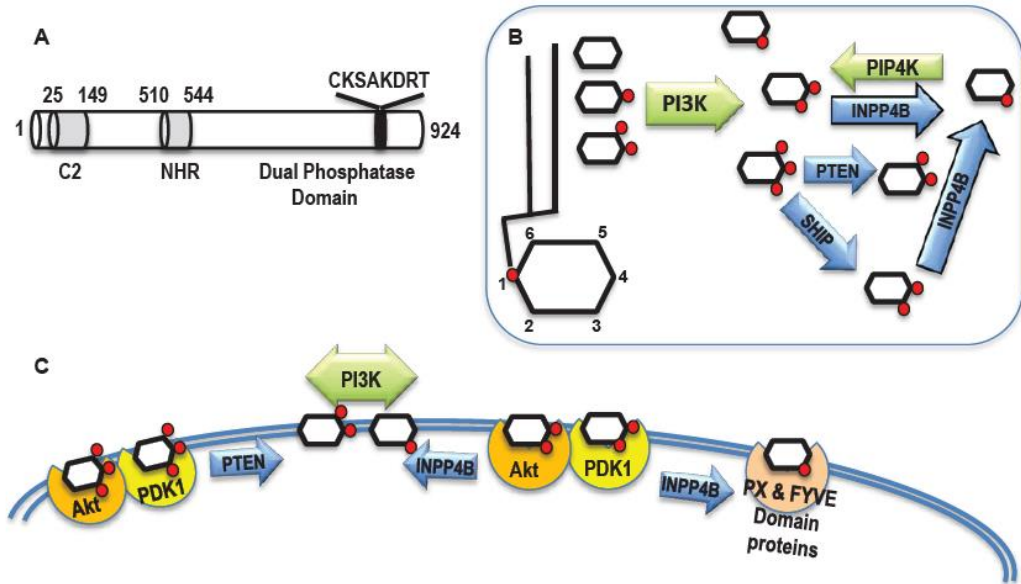
### 2.7.5. İnositol Polifosfat 4-Fosfataz (INPP4B)

Çalışmalar göstermiştir ki, INPP4B meme kanserinde tümör süpresör olarak fonksiyon gösterebilir. INPP4B, PI(3,4)P2'yi D4 pozisyonundan defosforile ederek PI(3)P oluşturur (Şekil 2.18B ve C, Şekil 2.19). INPP4B, N-terminal C2 domain, internal NHR2 (Nervy Homology 2 domain) ve C terminal katalitik CX5R motifi içerir (13) (Şekil 2.18A).

Normal memede, INPP4B protein ekspresyonu ER-pozitif meme duktal lüminal epitel hücrelerine sınırlıdır. Bununla uyumlu olarak INPP4B protein ekspresyonu, ER-pozitif meme kanseri hücre kültürlerine sınırlı olarak izlenmiştir(74). Meme kanserinde INPP4B ekspresyonu, ER ve PR ekspresyonu ile kuvvetle ilişkilidir. Bir çalışmada dikkate değer şekilde, 374 meme kanserinin immünohistokimyasal INPP4B boyanması sonucu, agresif meme tümörlerinde INPP4B'nin kaybı sık olarak görülmüştür. Ancak INPP4B ekspresyonu ER sinyali tarafından düzenleniyor gibi görünmemektedir.

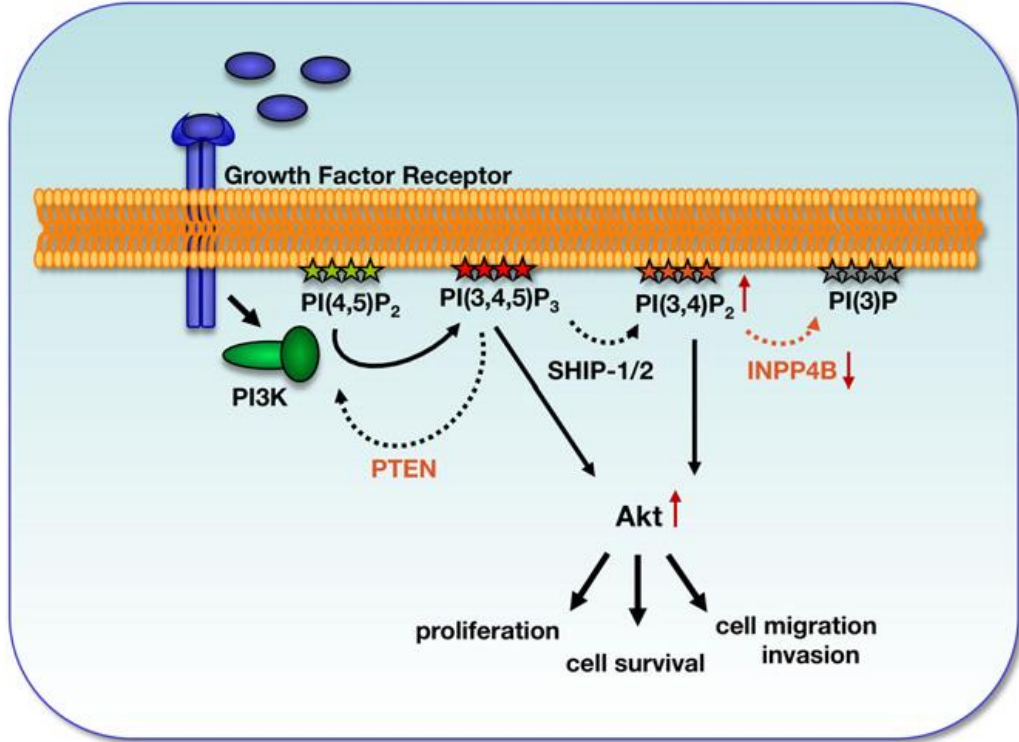
PI(3,4,5)P3'e benzer şekilde, PI(3,4)P2 de, AKT ve PDK1'in PH domain'ine bağlanır ve plazma membranında birikir. PI(3,4,5)P3, T308 fosforilasyonunu ve membran ilişkili AKT aktivasyonuna katkı sağlar. PI(3,4)P2 ise daha çok S473 fosforilasyonuna ve AKT'nin sitoplazmik aktivasyonuna katkı sağlar (13). Bu nedenle hem PI(3,4)P2 hem de PI(3,4,5)P3'ün varlığı, AKT'nin sürekli ve ful aktivasyonu için gereklidir. Bu yüzden eş zamanlı INPP4B ve PTEN kaybı, AKT hiperaktivasyonu ile daha agresif bir meme kanseri gelişimine yol açabilir (75).

INPP4B kaybı, artmış PI3K-AKT aktivitesi ile ilişkili olduğundan, bu tümörlerin tedavisinde PI3K ve yolaktaki diğer moleküllerin inhibitörlerinden fayda sağlanabilir.

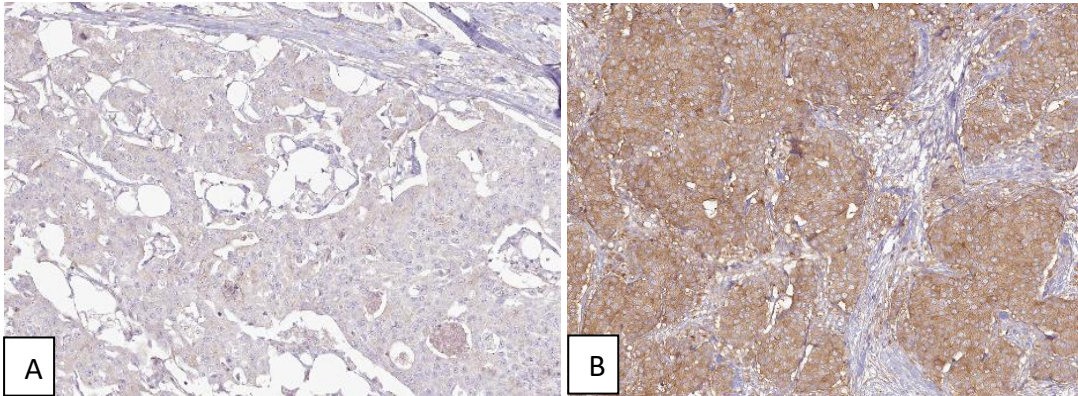


**Şekil 2.18.** INPP4B'nin yapısı ve fonksiyonu. A INPP4B'nin fonksiyonel domainleri: C2 lipid bağlanan domain, NHR domain ve katalitik CX5R içeren ikili fosfatase bağlanan domain. B Kinaz ve fosfatase ağı. C INPP4B enzimatik aktivitesinin substrat ve ürünleri. Bu şekil "Agoulnik IU, Hodgson MC, Bowden WA, Ittmann MM. INPP4B: the new kid on the PI3K block. *Oncotarget*. 2011;2(4):321." makalesinden direkt alıntıdır.





**Şekil 2.19.** Sınıf I PI3K sinyal düzenlenmesinde PTEN ve INPP4B'nin rolü. Bu şekil "Bertucci MC, Mitchell CA. Phosphoinositide 3-kinase and INPP4B in human breast cancer. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2013;1280(1):1-5." makalesinden direkt alıntıdır.

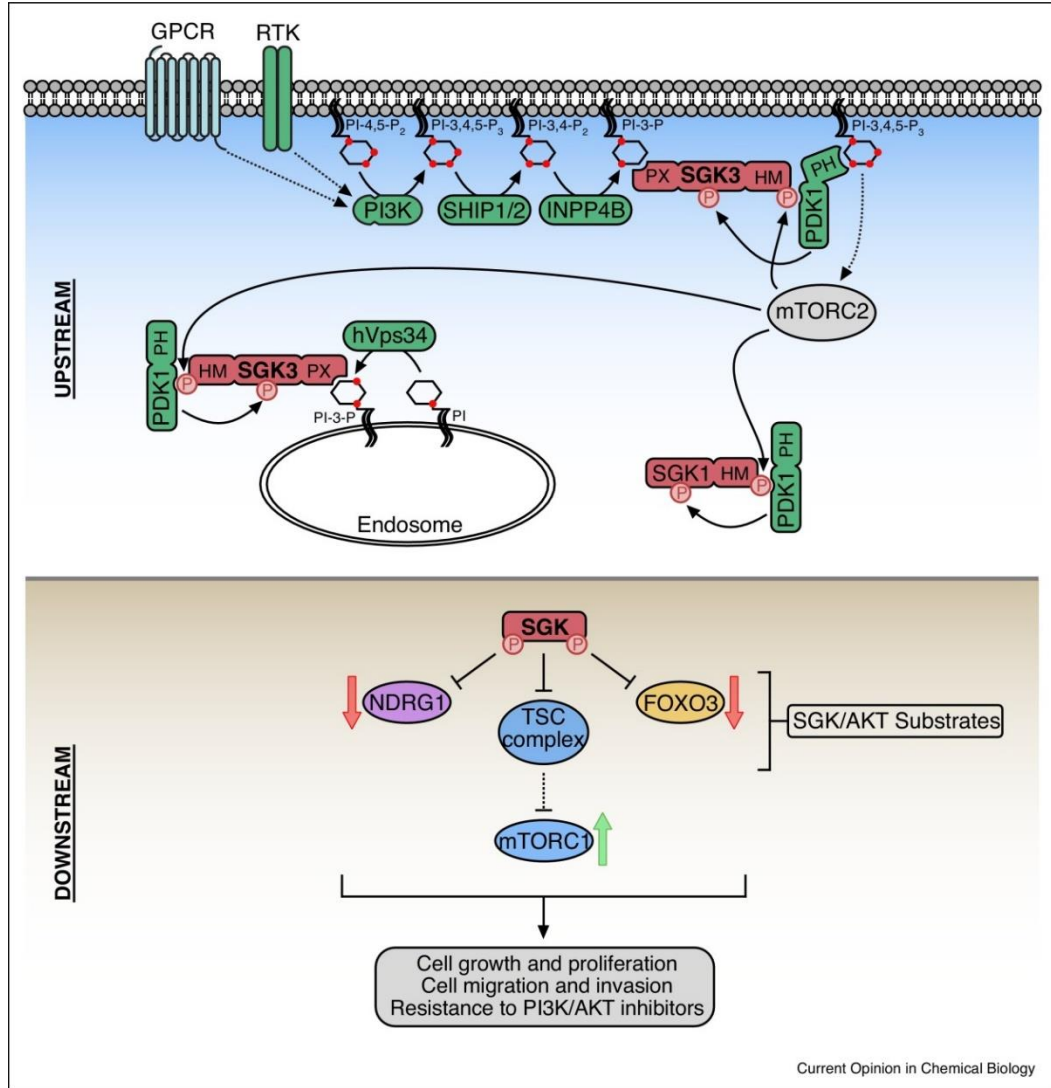


**Şekil 2.20.** INPP4B immunohistokimyasının "The Human Protein Atlas" görüntüleri. A. INPP4B negatif. B. INPP4B pozitif.

### 2.7.6. Serum ve Glukokortikoid Regüle Kinaz 3 (SGK3)

SGK, PKB/AKT ailesine yapısal ve dizilim açısından benzerlikler gösteren bir serin/treonin kinaz ailesini oluşturur. SGK'nin insanda tanımlanan ve farklı genler tarafından kodlanan SGK1, SGK2 ve SGK3 olmak üzere 3 izoformu vardır. Tüm izoformlar, translasyon sonrası fosforilasyon ile değiştirilir ve PI3K akışında düzenlenir (76). PKB'ye benzer şekilde SGK izoformları da PDK1 tarafından, "T-loop"taki treonin bölgesinden (AKT'deki Thr308 bölgesinin analogu) fosforile ve aktive edilir (77). SGK izoformları hücre büyümesi ve proliferasyonu kontrol etmede önemli role sahiptir.

AKT ve SGK ailesi arasındaki majör fark, SGK'nin, lipitlere bağlanan "pleckstrin homology domain" içermemesidir. Bu bölge PI3K'nin lipid ürünü olan PIP3'e bağlanır, AKT ve PDK1'in plazma membranında birikmesine neden olur. SGK3'teki PX domain de SGK3'ün aktivasyonuna katkı sağlar, bunu SGK3'ü, tamamen aktive olacağı yer olan endozomlara yerleştirerek yapar. PI3K aktivasyonu sayesinde, SGK3 PDK1'i endozomlara toplar ve PDK1 de endozoma yerleşmiş olan SGK3'ü Thr320 bölgesinden fosforile eder. Endozomları hedef alan SGK3, PI3K tip I aktivitesinden bağımsızdır. SGK3 PX bölgesi, PI(3,4)P2 ve PI(3,5)P2'ye de bağlanabilmesine rağmen tercihen ve büyük oranda PI3P'ye bağlanır. PI3P, PI3K Tip I'in ürünü olan PI(3,4,5)P3'ün aksine, daha çok PI3K tip III'ün ürünüdür (77) (Şekil 2.21).



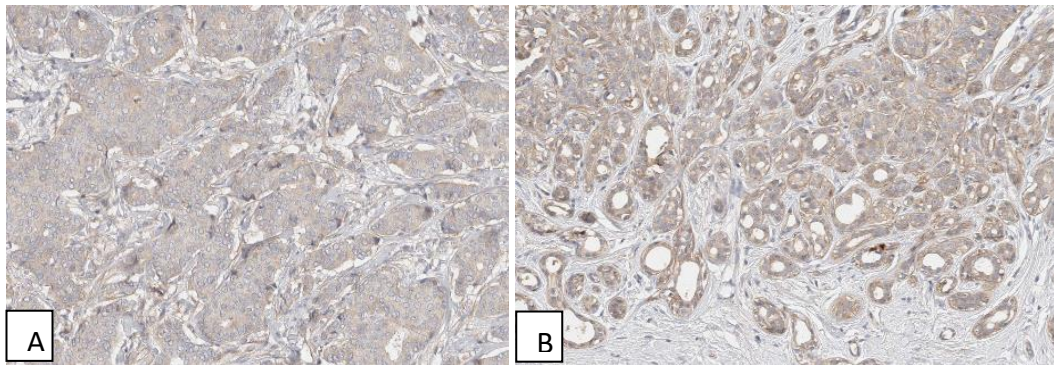
**Şekil 2.21.** PDK1-mTORC2-SGK sinyal aksı. Bu şekil “Lien EC, Dibble CC, Toker A. PI3K signaling in cancer: beyond AKT. Current opinion in cell biology. 2017;45:62-71.” makalesinden direk alıntıdır.

PTEN eksikliği, aşırı yukarı akış aktivasyonu veya “feedback” düzenleme bozukluğu durumlarında, PIK3CA mutant kanserler, AKT ve PDK1’i membrana biriktirmek için fosfatidil inositol sağlar, bu olduğunda tümörler kuvvetli bir AKT sinyali gösterir. Öte yandan, PTEN fonksiyonu yerinde ise ve yukarı akış ile “feedback” mekanizmaları düzensiz değilse, PIK3CA mutasyonları AKT bağımsız bir sinyale döner ve PDK1 ile SGK3’ü kullanır. Membranda pek çok proteinin aynı anda ve yeterli olmasını gerektiren AKT aktivasyonunun aksine, SGK3’ü PI3K bağımlı bir

şekilde aktive etmek için gereken şey, orta derecede bir PDK1 endozomal membran yerleşimidir (14).

Vasudevan ve arkadaşlarının çalışmalarına göre AKT1'in azaltılması yüksek p-AKT'ye sahip *PIK3CA* mutant hücrelerde canlılığı güçlü bir şekilde baskılamıştır. Bunun aksine düşük p-AKT'ye sahip *PIK3CA* mutant hücrelerde SGK3'ün hedef alınması, canlılığı güçlü bir şekilde baskılamıştır. Bu yüzden AKT aktivasyonu göstermeyen *PIK3CA* mutant hücreler SGK3'e fonksiyonel olarak bağımlılık göstermektedir. Bu sonuçlar göstermiştir ki, *PIK3CA* mutant hücrelerde SGK3, PDK1'in AKT-bağımsız sinyal akışına katkı sağlamaktadır (14).

Bago ve arkadaşlarının bulgularına göre AKT eksik hücrelerde SGK3 aktive olduğunda, AKT'nin yerini alır, TSC2'yi fosforile ederek mTORC1'in aktivasyonunu tetikler. Bu nedenle meme kanseri olan farelere AKT ve SGK3 inhibitörlerini beraber verdiklerinde, bu inhibitörleri ayrı ayrı vermeye göre belirgin bir tümör gerilemesi saptamışlar (78)



**Şekil 2.22.** SGK3 immunohistokimyasının “The Human Protein Atlas” görüntüleri. A. SGK3 negatif. B. SGK3 pozitif.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Meme Tümörleri Ve Proliferatif Lezyonları Tanılı Hasta Seçimi ve Doku Mikrodizini Hazırlanması

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından incelenip ve 21 Aralık 2021 tarihli GO 21/1220 proje numarası ile onaylanmıştır (Ek 1). Çalışma kapsamında, retrospektif olarak, 01 Ocak 2013 ile 01 Aralık 2021 tarihleri arasında, meme kanseri (duktal, tübüler, kribriiform, lobüler, metaplastik, intraduktal papiller, enkapsüle papiller karsinom), duktal karsinoma in situ, atipik duktal hiperplazi, atipili kolumnar değişim/hiperplazi, bifazik lezyon (fibroadenom ve filloides tümör), benign proliferatif lezyon (sklerozan adenozis, radyal skar, intraduktal papillom, duktal epitel hiperplazisi), fibrokistik değişiklik tanılarını içeren 188 hasta seçilmiştir. Bu hastalara ait hangi lezyondan kaç adet seçildiği Tablo 3.1’de gösterilmiştir. Bu lezyonlar ve normal meme dokusunu içeren, cerrahi rezeksiyon materyallerine ait formalin fikse parafine gömülü (FFPE) doku blokları kullanılarak doku mikrodizini hazırlanmıştır (Ek 2).

FFPE’den manuel olarak, her hastadan neoplastik doku ile varsa prekanseröz lezyonları ve benign proliferatif lezyonları temsil eden 3’er mm çaplı dokular punch biyopsi aleti ile alınarak çoklu doku mikrodizini (TMA) oluşturulmuştur.

**Tablo 3.1.** Çalışmaya dahil edilen lezyon sayıları ve TMA bloklarından kesit alınması sonrası yapılan immünohistokimyasal boyamada doku dökülmesi nedeniyle azalmış değerlendirilebilen lezyon sayıları.

Lezyon	n	pAKT için n	PTEN için n	INPP4B için n	pSGK3 için n
<i>İnvaziv duktal karsinom</i>	44	36	35	42	42
<i>İnvaziv tübüler karsinom</i>	17	14	14	16	16
<i>İnvaziv kribriform karsinom</i>	4	4	4	4	4
<i>İnvaziv lobüler karsinom</i>	28	25	27	28	27
<i>İnvaziv mikropapiller karsinom</i>	1	1	1	1	1
<i>Metaplastik karsinom</i>	20	18	18	20	18
<i>İntraduktal papiller karsinom</i>	11	9	10	10	10
<i>Enkapsüle papiller karsinom</i>	10	10	9	10	10
<i>Duktal karsinoma in situ</i>	46	37	33	40	40
<i>Atipik duktal hiperplazi</i>	20	16	16	18	16
<i>Atipili kolumnar lezyon – tümöre yakın</i>	36	31	32	34	34
<i>Atipili kolumnar lezyon – tümöre uzak</i>	38	34	33	34	34
<i>Atipili kolumnar lezyon - tümör yok</i>	19	16	18	16	18
<i>Kolumnar lezyon</i>	18	14	16	17	15
<i>Radyal skar</i>	15	14	13	14	14
<i>Sklerozan adenozis</i>	10	9	8	10	10
<i>İntraduktal papillom</i>	23	18	15	20	19
<i>Atipik papillom</i>	1	1	1	1	1
<i>Duktal epitel hiperplazi – şiddetli</i>	6	4	4	5	4
<i>Duktal epitel hiperplazi – hafif şiddetli</i>	3	3	3	3	2
<i>Kompleks apokrin metaplazi</i>	17	13	11	17	15
<i>Apokrin metaplazi</i>	5	5	5	4	4
<i>Benign filloides tümör</i>	9	7	7	8	9
<i>Borderline filloides tümör</i>	3	3	2	3	3
<i>Fibroadenom</i>	12	11	11	12	12
<i>Kompleks fibroadenom</i>	4	4	4	4	4
<i>Juvenil fibroadenom</i>	4	4	4	4	4
<i>Fibrokistik değişiklik</i>	15	10	12	13	13
<i>Fibroadenomatoid değişiklik</i>	1	0	0	1	0
<i>Normal meme</i>	12	10	11	11	11
<b>TOTAL</b>	<b>452</b>	<b>381</b>	<b>377</b>	<b>420</b>	<b>410</b>

### 3.2. İmmünohistokimyasal Boyama ve Antikorlar

Çoklu doku mikrodizin bloğundan pozitif yüklü lamlara 8'er adet 4 µm kalınlıkta boyasız kesitler alınmıştır. Bu kesitlerden ikisine INPP4B (tavşan monoklonal antikor), ikisine phospho-SGK3 (tavşan poliklonal antikor) ve birine phospho-AKT (tavşan monoklonal antikor) immunohistokimyasal boyaları, Leica BOND-Max otomatik boyama (Leica Microsystems, Wetzlar, Almanya) platformunda Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Patoloji AD'nda uygulanmıştır. Memorial Sloan Kettering Kanser Merkezi'nde (MSKCC) 4 µm kalınlıkta alınan beşer adet boyasız kesitten her TMA'ya ait birer kesite PTEN immünohistokimyasal boyaması Leica Bond-3 otomatik boyama (Leica, Buffalo Grove, IL) platformunda uygulanmıştır. Antikorların dilüsyon, marka ve klon özellikleri Tablo 3.2'de gösterilmiştir.

**Tablo 3.2.** Çalışmada kullanılan antikorların bilgileri.

Antikor	Dilüsyon	Antijen Açığa Çıkarma	Marka	Klon
<i>Phospho-AKT</i>	1/50	EDTA	Cell Signaling	Ser473
<i>PTEN</i>	1/100	EDTA	Cell Signaling	138G6
<i>INPP4B</i>	1/500	Sitrat	Cell Signaling	D9K1B
<i>Phospho-SGK3</i>	1/500	Sitrat	Affinity	Thr320

Kesitler 75°C'de Bond Dewax çözeltisi ile deparafinize edilmiştir. %96'lık alkol serisi ile işlem görme sonrası 100°C'de, INPP4B boyaması uygulanacak kesitlere, 1/500 dilüsyonda sitrat bazlı ER1 (epitop retrieval 1) solüsyonunda 10 dakika süreyle, phospho-SGK3 boyaması uygulanacak kesitlere, 1/500 dilüsyonda sitrat bazlı ER1 (epitop retrieval 1) solüsyonunda 20 dakika süreyle antijen açığa çıkarma işlemi gerçekleştirilmiştir. Sonrasında doku kesitleri oda sıcaklığında primer antikorlarla inkübe edilmiştir. Adımlar arasında Bond yıkama solüsyonu kullanılmıştır. Ardından proteinlerin gösterilmesi için "Bond Polymer Refine Detection" kiti uygulanmıştır. Kit, hidrojen peroksit (15 dakika), sekonder antikor (9 dakika), polimer (9 dakika), 3,3' diaminobenzidin tetrahidroklorür (DAB) kromojen (7 dakika) ve hematoksilin (8 dakika) içermektedir.

Phospho-AKT boyaması uygulanacak kesitlere, 1/50 dilüsyonda EDTA bazlı ER2 (epitop retrieval 2) solüsyonunda 40 dakika süreyle antijen açığa çıkarma işlemi gerçekleştirilmiştir. Sonrasında diğer iki boyamadan farklı olarak, doku kesitleri oda sıcaklığında uzun program ile bir gece primer antikorla inkübe edilmiştir. Diğer adımlar benzer şekilde olup süreler değişmektedir. Adımlar arasında Bond yıkama solüsyonu kullanılmıştır. Ardından proteinlerin gösterilmesi için “Bond Polymer Refine Detection” kiti uygulanmıştır. Kit, hidrojen peroksit (15 dakika), sekonder antikor (13 dakika), polimer (13 dakika), 3,3' diaminobenzidin tetrahidroklorür (DAB) kromojen (8 dakika) ve hematoksilin (8 dakika) içermektedir.

PTEN boyaması MSKCC’de, 138G6 klonu (9559L; Cell Signaling Technology, Danvers, MA) kullanılarak 1/100 dilüsyonda EDTA bazlı ER2 (epitop retrieval 2) solüsyonunda 30 dakika süreyle antijen açığa çıkarma işlemi ile gerçekleştirilmiştir. Sonrasında kesitler 2 defa 15’er dakika primer antikorla inkübe edilmiştir. Ardından proteinlerin gösterilmesi için “Bond Polymer Refine Detection” kiti (DS9800; Leica, Bond Polymer Refine Detection) uygulanmıştır.

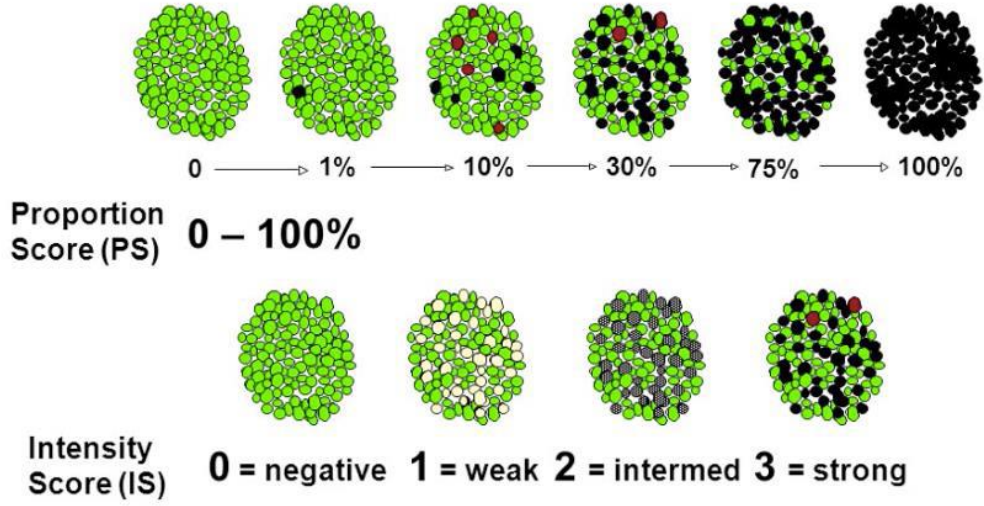
### **3.3. İmmünohistokimyasal Boyalı Preparatların Dijital Slayt Haline Getirilmesi ve İmmünohistokimyasal Skorlama**

11 adet TMA bloğundan hazırlanan H&E boyalı ve ön literatür taraması sonucunda seçilen 4 antikor (phospho-AKT, PTEN, INPP4B ve phospho-SGK3) ile yapılan immünohistokimyasal boyalı slaytlar Olympus VS 120 dijital görüntüleme sistemi kullanılarak dijital slayt haline getirilmiştir. İmmünohistokimyasal skorlama (Ek 3 ve 4) hem taranmış olan dijital slaytlar OlyVIA yazılımı ile görüntülenerek hem de manuel olarak Olympus mikroskop kullanılarak yapılmıştır.

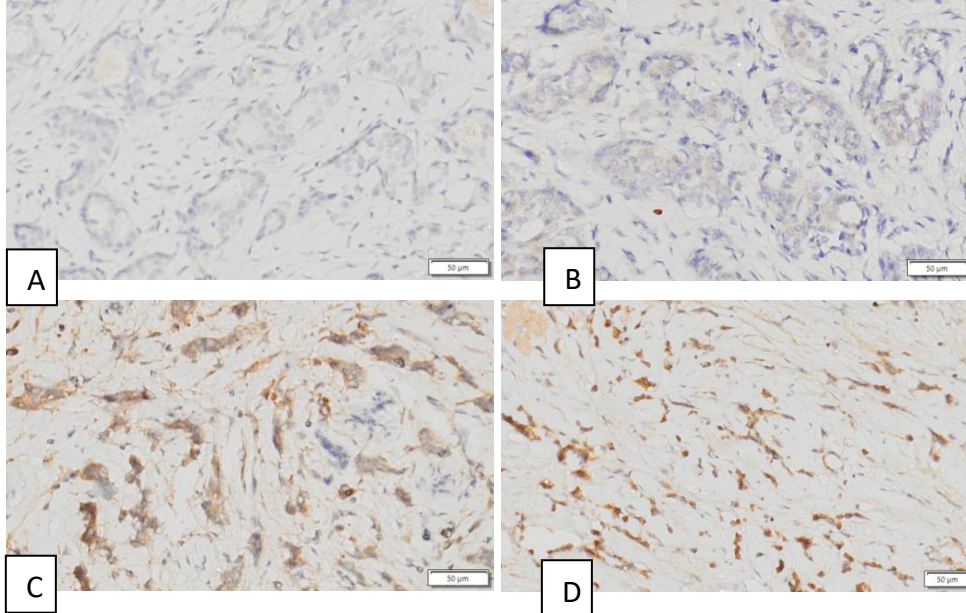
Phospho-AKT boyamasında lezyonlar sitoplazmik ve nükleer boyanmaları da not edilerek, konvansiyonel immünohistokimya değerlendirme yöntemine (Şekil 3.1) göre boyanıp boyanmama durumu ve boyanma kuvvetine göre, negatif (0) ve zayıf (1), orta şiddette (2) ve kuvvetli (3) pozitif olarak skorlanmış, ayrıca boyanma yüzdeleri de verilmiştir. Boyanma yüzdeleri en az %5 olup, oranı daha yüksek olan boyanmalar %10’dan başlayarak 10’luk yüzdeler halinde artmaktadır. Daha sonra



boyanma şiddeti ve yüzdesi çarpılarak elde edilen H skoru şu şekilde kategorize edilmiştir: 0-10 (negatif-0), 10-50 (zayıf pozitif-1), 50-100 (orta şiddette pozitif-2), 100-300 (kuvvetli pozitif-3) (Şekil 3.2). Nükleer ve sitoplazmik ekspresyon pozitif olarak kabul edilmiştir.

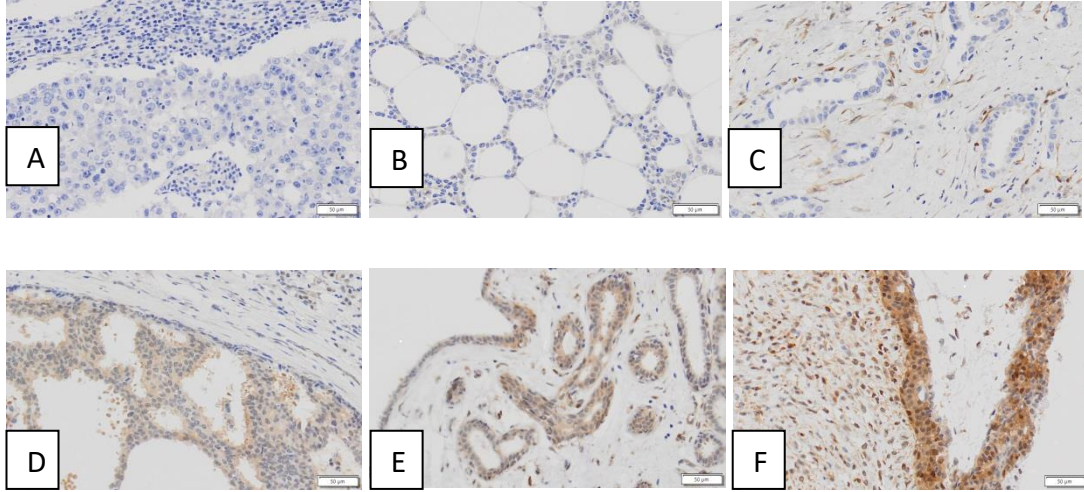


**Şekil 3.1.** Konvansiyonel immunhistokimya değerlendirme yöntemi. Bu skorum sistemi McCarthy Jr. ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır.



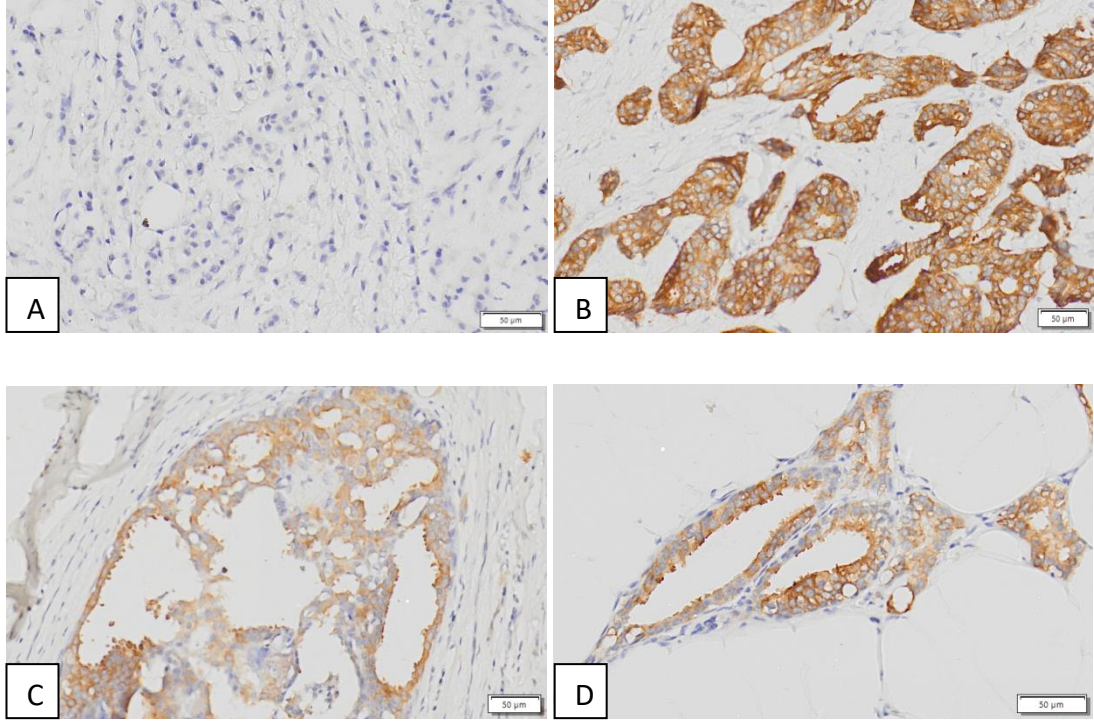
**Şekil 3.2.** pAKT ile karsinom örneklerinde farklı yoğunluklarda boyanma. A. pAKT negatif. B. pAKT zayıf sitoplazmik pozitif. C. pAKT orta şiddette sitoplazmik pozitif. D. pAKT kuvvetli sitoplazmik pozitif.

PTEN immünohistokimyasal sonuçlarında iç kontrol pozitifliğine bakılmış olup, iç kontrolü olmayan stroması negatif dokular değerlendirilmemiş, stroma zayıf pozitif olup lezyonu daha zayıf boyananlar (1\*) negatif gruba dahil edilmiştir. İç kontrolü olup lezyonu boyanmayanlar negatif (0); boyananlar, zayıf pozitif (1), orta şiddette pozitif (2) ve kuvvetli pozitif (3) olarak sınıflandırılmıştır (Şekil 3.3).



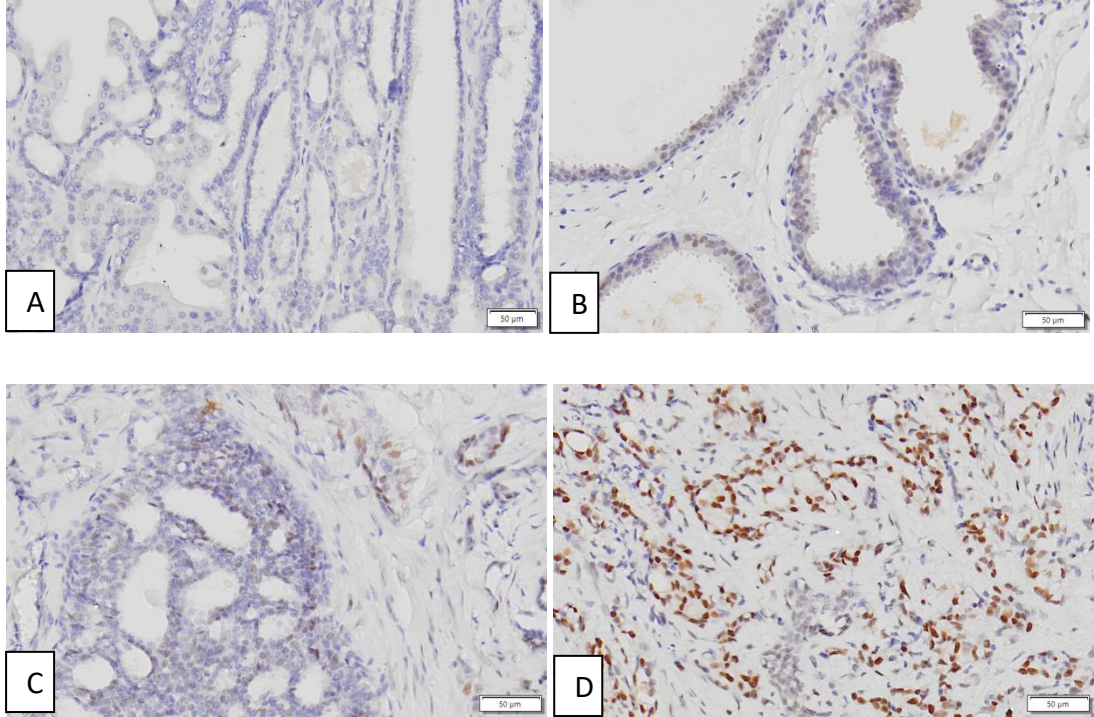
**Şekil 3.3.** PTEN ile farklı yoğunluklarda boyanma. A. İç kontrol olmadığı için değerlendirilmeye alınmayan bir duktal karsinom. B. Zayıf boyanan stromadan daha zayıf pozitif lobüler karsinom. C. PTEN negatif duktal karsinom. D. PTEN zayıf pozitif ADH. E. PTEN orta şiddette pozitif FEA. F. PTEN kuvvetli pozitif boyanan FA.

INPP4B boyamasında lezyonlar boyanma şiddetinden ve yüzdesinden bağımsız olarak negatif (0) ve pozitif (1) olarak skorlanmıştır (Şekil 3.4A ve B). Sadece “apikal snoutlar” halinde boyanan lezyonlar negatif olarak kabul edilmiştir. “Apikal snout”ları boyanan vakaların, o kısımlar haricinde sitoplazmik boyanması mevcutsa pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.4C ve D).



**Şekil 3.4.** INPP4B ile farklı lezyonlar içeren örneklerde boyanma. A. INPP4B negatif duktal karsinom. B. INPP4B pozitif duktal karsinom. C. INPP4B pozitif ADH. D. INPP4B pozitif FEA. ADH ve FEA örneklerinde ise hem lezyonu oluşturan atipik hücreler pozitifdir hem de kolumnar hücreli değişim alanlarındaki “apikal snoutlar” boyanmıştır.

Phospho-SGK3 boyamasında lezyonlar boyanma şiddetinden bağımsız olarak negatif (0), <%25 oranında boyanma (1), %25-50 boyanma (2) ve >%50 boyanma (3) olarak skorlanmıştır (Şekil 3.5). Herhangi bir pozitiflik (1-3) pozitif olarak değerlendirilmiştir.



**Şekil 3.5.** pSGK3 immünohistokimyasının boyanma paternleri. A. pSGK3 sonuç 0 olan, apokrin metaplazi ve kolumnar değişim içeren intraduktal papillom. B. pSGK3 sonuç 1 olan FEA. C. pSGK3 sonuç 2 olan kribriform karsinom ve DKİS. D. pSGK3 sonuç 3 olan tübüler karsinom.

### 3.4. İmmünohistokimya Sonuçlarının Değerlendirilmesinde Kullanılan Lezyon Grupları

Lezyonları malign (invaziv tümörler ve DKİS) ve benign (ADH, atipili ve atipisiz KL, benign proliferatif lezyonlar, bifazik lezyonlar ve normal meme dokusu) olarak ikiye ayırıp 4 immünohistokimya ile sonuçlarına bakıldı. Ayrıca yüksek dereceli invaziv ve in situ tümörler ile, düşük dereceli meme karsinogenez basamakları (düşük dereceli invaziv tümör, düşük dereceli DKİS, ADH, FEA) ve atipisiz kolumnar lezyonlar gruplanıp karşılaştırıldı. Kolumnar hücreli lezyonlar ile kolumnar hücreli lezyon içerebilen papiller lezyonlar (intraduktal papillom, enkapsüle papiller karsinom ve intraduktal papiller karsinom) ve bifazik lezyonların epitelyal bileşenleri (fibroadenom, benign ve borderline filloides tumor) kıyaslandı. Kolumnar hücreli lezyonlar, tümöre yakın, tümöre uzak, tümörsüz atipili ve atipisiz olmak üzere 4 gruba ayrılarak incelendi.

### 3.5. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada kullanılan istatistiksel incelemeler IBM SPSS Statistics 24 kullanılarak yapılmıştır. Bulguların ortaya konmasında betimleyici istatistikler ve sıklık ile yüzde tablolarından faydalanılmıştır. Tüm istatistiksel anlamlılıklar için  $p$  değerinin 0,05'ten küçük olması dikkate alınmıştır.

pAKT H skorunun normallik analizi Kolmogorov-Smirnov testi ile yapılmış ve normal dağılmadığı tespit edilmiştir. 3'ten fazla grup olduğu için PTEN ile pAKT'nin sayısal değerlerinin analizinde ise Kruskal Wallis testi kullanılmıştır.

İki nitel değişken arasındaki analizler için Ki-kare testi ve beklenen düzeye göre karar verilmek üzere Fisher-Exact, süreklilik düzeltmesi veya Pearson- $\chi^2$  çapraz tablolarından yararlanılmıştır. İki'den fazla grup içeren kategorik veri analizinde ikili gruplar arasında Bonferroni metoduna göre düzenlenmiş  $p$  değerlerine göre yorum yapılmıştır.

## 4. BULGULAR

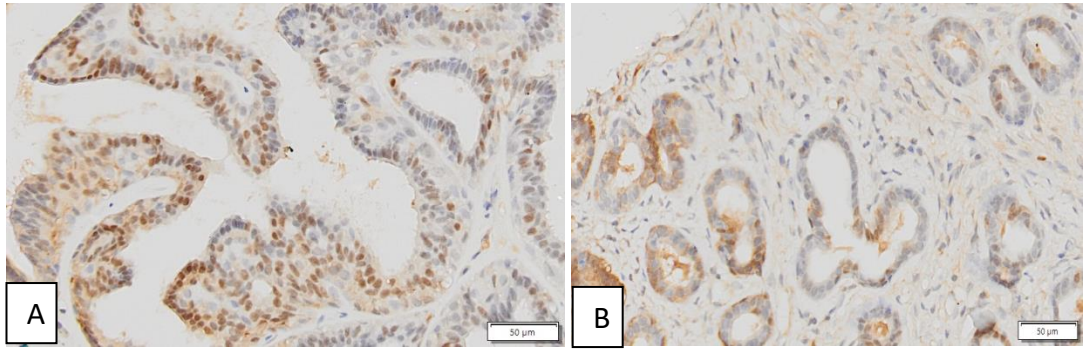
### 4.1. pAKT

İncelenen 380 lezyonun %16'sı (61 vaka) pAKT pozitifdir (Tablo 4.1). pAKT pozitifliği en fazla görülen lezyon invaziv lobüler karsinom (%70,8) olup, pozitif boyananların yaklaşık yarısında boyanma kuvvetlidir. Tübüler/kribriform karsinomlarda pAKT ekspresyonu %17, metaplastik karsinomlarda %22'dir. Papiller lezyonlardan intraduktal papillomda pAKT pozitif vaka oranı %10,5 iken, intraduktal papiller karsinom, enkapsüle papiller karsinom ve filloides tümörde pozitif vaka görülmemiştir. DKİS, ADH ve AKL benzer oranlarda pAKT ile pozitiflik göstermektedir (sırasıyla %8,1, %11,7 ve %9,9). Benign proliferatif lezyonlar olan radyal skar, sklerozan adenozis ve şiddetli DEH gruplarında ise toplam 27 vakanın sadece 1'inde pAKT pozitif çıkmıştır. 27 normal meme dokusundan 1'i kuvvetli pozitif, 4'ü zayıf pozitif, diğerleri negatiftir. Kuvvetli pozitif ekspresyon hafif şiddetli DEH'de, zayıf pozitif ekspresyon gösterenlerden 3'ü fibrokistik değişiklikte, 1'i de normal TDLÜ'de izlenmiştir.

**Tablo 4.1.** Lezyonlara göre pAKT sonuçları.

	pAKT				Toplam n (total %)
	Negatif		Pozitif		
	0-10 n (total %)	11-50 n (total %)	51-100 n (total %)	101-300 n (total %)	
İnvaziv duktal karsinom	31 (8,2)	5 (1,3)	0 (0)	2 (0,5)	38 (10)
İnvaziv tübüler/kribriform karsinom	15 (3,9)	1 (0,3)	2 (0,5)	0 (0)	18 (4,7)
İnvaziv lobüler karsinom	7 (1,8)	7 (1,8)	2 (0,5)	8 (2,1)	24 (6,3)
İnvaziv mikropapiller karsinom	1 (0,3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0,3)
Metaplastik karsinom	14 (3,7)	3 (0,8)	1 (0,3)	0 (0,0)	18 (4,7)
İntraduktal papiller karsinom	9 (2,4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	9 (2,4)
Enkapsüle papiller karsinom	10 (2,6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	10 (2,6)
Duktal karsinoma in situ	34 (8,9)	2 (0,5)	1 (0,3)	0 (0)	37 (9,7)
Atipik duktal hiperplazi	15 (3,9)	1 (0,3)	1 (0,3)	0 (0)	17 (4,5)
Atipili kolumnar lezyon	73 (19,2)	6 (1,6)	1 (0,3)	1 (0,3)	81 (21,3)
Kolumnar lezyon, atipisiz	10 (2,6)	1 (0,3)	0 (0)	1 (0,3)	12 (3,2)
Radyal skar	13 (3,4)	1 (0,3)	0 (0)	0 (0)	14 (3,7)
Sklerozan adenozis	9 (2,4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	9 (2,4)
İntraduktal papillom	17 (4,5)	1 (0,3)	0 (0)	1 (0,3)	19 (5)
Duktal epitel hiperplazi – şiddetli	4 (1,1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4 (1,1)
Kompleks apokrin metaplazi	10 (2,6)	2 (0,5)	1 (0,3)	0 (0)	13 (3,4)
Filloides tümörü	10 (2,6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	10 (2,6)
Fibroadenom	15 (3,9)	3 (0,8)	1 (0,3)	0 (0)	19 (5)
Normal meme	22 (5,8)	4 (1,1)	0 (0)	1 (0,3)	27 (7,1)
<b>Toplam</b>	<b>319(83,9)</b>	<b>37 (9,7)</b>	<b>10 (2,6)</b>	<b>14 (3,7)</b>	<b>380 (100)</b>

pAKT immünohistokimyasal boyaması sonucunda sadece sitoplazmik, sadece nükleer (Şekil 4.1A) ve her iki tipte aynı anda boyanan (Şekil 4.1B) vakalar mevcuttur. pAKT ekspresyonu gösteren vakalar arasında nükleer boyanma sıklığı en fazla olan iki grup intraduktal papillomlar (7/9 vaka, %77,7)(Şekil 4.1A) ve bifazik lezyonlardır (7/11 vaka, %63,6)(Şekil 4.1B). Normal meme asinus ve duktuslarında da lüminal epitel hücrelerinde, normal meme örneklerinin %22,2'sinde nükleer pozitiflik mevcuttur (Tablo 4.2). pAKT ile hiç nükleer boyanma göstermeyen lezyonlar şunlardır: lobüler karsinom, metaplastik karsinom, intraduktal papiller karsinom, şiddetli DEH, kompleks ve basit apokrin metaplazi, benign filloides tümör.



**Şekil 4.1.** pAKT ile farklı boyanma paternleri. A. pAKT ile nükleer pozitif boyanma gösteren intraduktal papillom. B. pAKT ile hem sitoplazmik hem nükleer pozitif boyanma gösteren juvenil fibroadenom.



**Tablo 4.2.** pAKT ile nükleer boyanma gösteren lezyonlar. (DKİS: Duktal karsinoma in situ, ADH: Atipik duktal hiperplazi)

Lezyon	pAKT nükleer pozitif lezyon sayısı	pAKT pozitif olanlar arasında (%)	Lezyon içi (%)
İntraduktal/atipik papillom	7	77,7	36,8
Fibroadenom/ filloides tümör	7	63,6	24,1
Enkapsüle papiller karsinom	1	50	10
Normal meme	6	35,2	22,2
Kolumnar hücreli lezyonlar	10	31,2	10,7
DKİS/ADH	4	26,6	7,4
Radyal skar/skleroza adenozis	3	23,1	13
İnvaziv duktal karsinom	5	20,8	13,1
Tübüler/kribriform karsinom	2	14,2	11,1

Kolumnar hücreli ve kolumnar hücre içeren lezyonların pAKT ekspresyonunda anlamlı fark bulunmamıştır. KHL'nin %11,6'sı pAKT pozitifken, papiller ve bifazik lezyonların ise sırasıyla %5,3'ü ve %13,8'i pozitifdir (Tablo 4.3).

**Tablo 4.3.** Kolumnar hücreli ve kolumnar hücre içeren lezyonlarda pAKT sonucu. (p=0,458) (KHL: Kolumnar hücreli lezyonlar)

		Kolumnar hücreli ve kolumnar hücre içeren lezyonlar			Toplam n (total %)
		KHL n (total %)	Papiller lezyonlar n (total %)	Bifazik lezyonlar n (total %)	
pAKT	negatif	84 (51,9)	36 (22,2)	25 (15,4)	<b>145 (89,5)</b>
	pozitif	11 (6,8)	2 (1,2)	4 (2,5)	<b>17 (10,5)</b>
Toplam		<b>95 (58,6)</b>	<b>38 (23,5)</b>	<b>29 (17,9)</b>	<b>162 (100)</b>

Düşük dereceli meme karsinogenez basamaklarını oluşturan lezyonlar ve yüksek dereceli invaziv-in situ lezyonlarda pAKT ekspresyonunda istatistiksel anlamlı sonuç yüksek dereceli invaziv tümörler ve yüksek dereceli DKİS arasında elde edilmiştir (Tablo 4.4). pAKT ekspresyonu yüksek dereceli invaziv tümörlerin %34,3'ünde, yüksek dereceli DKİS'ların %8,3'ünde izlenmiştir. Düşük dereceli meme

karsinogenez basamaklarında, düşük dereceli invaziv tümörden, ADH ve FEA'ya doğru gidildikçe pozitiflik oranı azalmaktadır (sırasıyla %24,1, %11,1 ve %9,9). Atipisiz KL'de FEA'ya göre pAKT ekspresyon oranı daha fazladır (sırasıyla %21,4 ve %9,9).

**Tablo 4.4.** Düşük dereceli meme karsinogenez basamakları ve yüksek dereceli invaziv-in situ tümörlerde pAKT ekspresyonu. (p=0,002)  
(inv. tm: invaziv tümör, DKİS: duktal karsinoma in situ, ADH: atipik duktal hiperplazi, FEA: flat epitelyal atipi, KL: kolumnar lezyon)

	Düşük dereceli meme karsinogenez basamakları ve yüksek dereceli tümörler						Toplam n (total %)
	Yüksek dereceli inv. tm. n (total %) (lezyon içi %)	Düşük dereceli inv. tm n (total %) (lezyon içi %)	Yüksek dereceli DKİS n (total %) (lezyon içi %)	Düşük dereceli DKİS ve ADH n (total %) (lezyon içi %)	FEA n (total %) (lezyon içi %)	Atipisiz KL n (total %) (lezyon içi %)	
<b>pAKT negatif</b>	46 (18,5) (65,7)	22 (8,9) (75,9)	33 (13,3) (91,7)	16 (6,5) (88,9)	73 (29,4) (90,1)	11 (4,4) (78,6)	<b>201 (81)</b>
<b>pAKT pozitif</b>	24 (9,7) (34,3)	7 (2,8) (24,1)	3 (1,2) (8,3)	2(0,8) (11,1)	8 (3,2) (9,9)	3 (1,2) (21,4)	<b>47 (19)</b>
<b>Total</b>	<b>70 (28,2)</b>	<b>29(11,7)</b>	<b>36 (14,5)</b>	<b>18(7,3)</b>	<b>81(32,7)</b>	<b>14(5,6)</b>	<b>248 (100)</b>

KHL'yi, atipisiz KL ile atipili olanları tümör eşlik etmeyen, tümöre yakın ve uzak yerleşimli olmasına göre dört grupta incelediğimizde pAKT ekspresyonu açısından aralarında anlamlı fark bulamadık.

#### **4.2. PTEN**

PTEN ve diğer immünohistokimya sonuçları kıyaslandığında elde edilen bulgular doğrultusunda PTEN zayıf pozitif boyananlar negatif gruba dahil edilmiştir. Lezyonların %54,5'inde PTEN kaybı mevcuttur (Tablo 4.5). PTEN kaybı invaziv karsinomların %78,7'sinde, papiller karsinomların %31,5'inde mevcuttur. DKİS, ADH ve AKL'de PTEN kaybı gösteren vaka sayısı, korunmuş olanlardan daha fazladır. 15 atipisiz kolumnar lezyon vakasının 7'sinde, 31 normal meme vakasının 11'inde PTEN kaybı gözlenmiştir. Bu 11 vakanın 7'sini fibrokistik değişiklik oluşturmaktadır.

**Tablo 4.5.** Lezyonlara göre PTEN ekspresyonu. ( $p<0,05$ )

	PTEN				Toplam n (total %)
	Negatif		Pozitif		
	Negatif n (total %)	Zayıf pozitif n (total %)	Orta şiddette pozitif n (total %)	Kuvvetli pozitif n (total %)	
İnvaziv duktal karsinom	18(4,8)	12(3,2)	5 (1,3)	0 (0)	35 (9,3)
İnvaziv tübüler / kribriform karsinom	5 (1,3)	9 (2,4)	3 (0,8)	1 (0,3)	18 (4,8)
İnvaziv lobüler karsinom	10(2,7)	12(3,2)	4 (1,1)	1 (0,3)	27 (7,2)
İnvaziv mikropapiller karsinom	0 (0)	0 (0)	1 (0,3)	0 (0)	1 (0,3)
Metaplastik karsinom	7 (1,9)	5 (1,3)	3 (0,8)	3 (0,8)	18 (4,8)
İntraduktal papiller karsinom	1 (0,3)	3 (0,8)	5 (1,3)	1 (0,3)	10 (2,7)
Enkapsüle papiller karsinom	1 (0,3)	1 (0,3)	5 (1,3)	2 (0,6)	9 (2,4)
Duktal karsinoma in situ	12(3,2)	9 (2,4)	11(2,9)	1 (0,3)	33 (8,8)
Atipik duktal hiperplazi	2 (0,5)	9 (2,4)	2 (0,5)	3 (0,8)	16 (4,3)
Atipili kolumnar lezyon	11(2,9)	33(8,8)	29(7,7)	10(2,7)	83 (22,1)
Kolumnar lezyon, atipisiz	0 (0)	7 (1,9)	4 (1,1)	4 (1,1)	15 (4)
Radyal skar	0 (0)	4 (1,1)	6 (1,6)	3 (0,8)	13 (3,5)
Sklerozan adenozis	0 (0)	5 (1,3)	1 (0,3)	2 (0,5)	8 (2,1)
İntraduktal papillom	0 (0)	9 (2,4)	7 (1,9)	0 (0)	16 (4,3)
Duktal epitel hiperplazi – şiddetli	0 (0)	2 (0,5)	2 (0,5)	0 (0)	4 (1,1)
Kompleks apokrin metaplazi	1 (0,3)	2 (0,5)	6 (1,6)	2 (0,5)	11 (2,9)
Filloides tümörü	0 (0)	0 (0)	5 (1,3)	4 (1,1)	9 (2,4)
Fibroadenom	0 (0)	4 (1,1)	7 (1,9)	8 (2,1)	19 (5,1)
Normal meme	2 (0,5)	9 (2,4)	16(4,3)	4 (1,1)	31 (8,2)
<b>Toplam</b>	<b>70 (18,6)</b>	<b>135 (35,9)</b>	<b>122 (32,4)</b>	<b>49 (13)</b>	<b>376 (100)</b>

Yüksek ve düşük dereceli invaziv ve in situ karsinomlar ile ADH, FEA ve atipisiz KHL'de PTEN ekspresyonu bakımından, yüksek ve düşük dereceli invaziv karsinomlar arasında ya da yüksek ve düşük dereceli in situ karsinomlar arasında anlamlı fark bulamadık. PTEN kaybı, FEA'da (%53), düşük dereceli invaziv tümörlere (%82,8) göre anlamlı olarak daha azdır (Tablo 4.6). Ayrıca FEA'dan, ADH/düşük dereceli DKİS ve düşük dereceli invaziv tümöre gidildikçe PTEN kaybı gösteren vaka oranı artmaktadır (sırasıyla %53, %70,6 ve %82,8).

**Tablo 4.6.** Düşük dereceli meme karsinogenez basamakları ve yüksek dereceli invaziv-in situ tümörlerde PTEN ekspresyonu. (p=0,007)  
(inv. tm: invaziv tümör, DKİS: duktal karsinoma in situ, ADH: atipik duktal hiperplazi, FEA: flat epitelyal atipi, KL: kolumnar lezyon)

	<b>Düşük dereceli meme karsinogenez basamakları ve yüksek dereceli tümörler</b>						<b>Toplam n (total %)</b>
	<b>Yüksek dereceli inv. tm. n (total %) (lezyon içi %)</b>	<b>Düşük dereceli inv. tm n (total %) (lezyon içi %)</b>	<b>Yüksek dereceli DKİS n (total %) (lezyon içi %)</b>	<b>Düşük dereceli DKİS ve ADH n (total %) (lezyon içi %)</b>	<b>FEA n (total %) (lezyon içi %)</b>	<b>Atipisiz KL n (total %) (lezyon içi %)</b>	
<b>PTEN negatif</b>	54(21,9) (77,1)	24 (9,7) (82,8)	20 (8,1) (62,5)	12 (4,9) (70,6)	44 (17,8) (53)	8 (3,2) (50)	<b>162 (65,6)</b>
<b>PTEN pozitif</b>	16 (6,5) (22,9)	5 (2) (17,2)	12 (4,9) (37,5)	5 (2) (29,4)	39 (15,8) (47)	8 (3,2) (50)	<b>85 (34,4)</b>
<b>Toplam</b>	<b>70 (28,3)</b>	<b>29 (11,7)</b>	<b>32 (13)</b>	<b>17 (6,9)</b>	<b>83 (33,6)</b>	<b>16 (6,5)</b>	<b>247 (100)</b>

Kolumnar hücreli ve kolumnar hücre içeren lezyonlar arasında PTEN ekspresyonu açısından anlamlı fark bifazik lezyonlar ile diğer iki grup (KHL ve papiller lezyon) arasındadır. Bifazik lezyonlarda PTEN kaybı gösteren vaka oranı %14,3 ile en az olup, KHL'de %52,5 ve papiller lezyonlarda %42,9'dur (Tablo 4.7). Bu grupta PTEN kaybı olan vakaların çoğunun (%73,2'si) kolumnar hücreli lezyonlar olduğu izlenmektedir. Bifazik lezyonlarda PTEN pozitif vaka sayısı (24 vaka), kayıp gösteren vaka sayısının (4 vaka) 6 katıdır. Papiller lezyonların %42,9'unda PTEN kaybı mevcuttur. Bu 15 vakanın pAKT değerlerinde, intraduktal papillomların biri kuvvetli pozitif, diğer 8'i negatiftir, enkapsüle papiller karsinom ve intraduktal papiller karsinomlarda pAKT ile ekspresyon mevcut değildir.

**Tablo 4.7.** Kolumnar hücreli ve kolumnar hücre içeren lezyonlarda PTEN ekspresyonu. (p=0,002)(KHL: kolumnar hücreli lezyonlar)

		Kolumnar hücreli ve kolumnar hücre içeren lezyonlar			Toplam n (total %)
		KHL n (total %)	Papiller lezyonlar n (total %)	Bifazik lezyonlar n (total %)	
PTEN	negatif	52 (32,1)	15 (9,3)	4 (2,5)	<b>71 (43,8)</b>
	pozitif	47 (29)	20 (12,3)	24 (14,8)	<b>91 (56,2)</b>
Toplam		<b>99 (61,1)</b>	<b>35 (21,6)</b>	<b>28 (17,3)</b>	<b>162 (100)</b>

Kolumnar hücreli lezyonlarda tümöre yakın AKL (%22,2), tümör içermeyen vakaların AKL'sine (%5,1) göre anlamlı bir şekilde daha fazla PTEN kaybı içermektedir (Tablo 4.8). Tümör eşlik etmeyen vakaların atipisiz KL ve AKL arasında PTEN açısından anlamlı sonuç yoktur.

**Tablo 4.8.** Kolumnar hücreli lezyonlarda PTEN ekspresyonu. (p=0,049)(AKL: atipili kolumnar lezyonlar, KL: kolumnar lezyonlar)

		Kolumnar Hücreli Lezyonlar				Toplam n (total %)
		AKL- tümöre yakın n (total %)	AKL- tümöre uzak n (total %)	AKL- tümör yok n (total %)	Atipisiz KL n (total %)	
PTEN	negatif	22 (22,2)	17 (17,2)	5 (5,1)	8 (8,1)	<b>52 (52,5)</b>
	pozitif	10 (10,1)	16 (16,2)	13 (13,1)	8 (8,1)	<b>47 (47,5)</b>
Toplam		<b>32 (32,3)</b>	<b>33 (33,3)</b>	<b>18 (18,2)</b>	<b>16 (16,2)</b>	<b>99 (100)</b>



### 4.3. INPP4B

INPP4B kaybı gösteren vaka oranı %31,5'tir. INPP4B kaybı invaziv duktal karsinomların yarısında görülürken, lobüler karsinomlarda bu oran %60,7 ile daha yüksek, tübüler/kribriform karsinomlarda %35 ile daha düşüktür. Metaplastik karsinom ve kompleks apokrin metaplazi lezyonlarının tümünde INPP4B negatiftir. AKL'den ADH ve DKİS'ye doğru gidildikçe INPP4B kaybı gösteren vaka oranı artmaktadır (sırasıyla %5,9, %26,3, %33,3). 16 atipisiz kolumnar lezyon vakasından 1'inde INPP4B kaybı mevcuttur. Benign proliferatif lezyonların (radyal skar, sklerozan adenozis ve şiddetli DEH) tümünde INPP4B korunmuştur (Tablo 4.9). Normal meme dokusu grubundaki 31 vakadan 14'ünde INPP4B negatif izlenmiş olup, bunlardan 8'i fibrokistik değişiklik, 4'ü basit apokrin metaplazi, 1'i fibroadenomatoid değişiklik ve 1'i hafif DEH'dir.

**Tablo 4.9.** Lezyonlara göre INPP4B ekspresyonu.

	INPP4B		Toplam n (total %)
	negatif n (total %)	pozitif n (total %)	
İnvaziv duktal karsinom	21 (5)	21 (5)	42 (10,1)
İnvaziv tübüler/kribriform karsinom	7 (1,7)	13 (3,1)	20 (4,8)
İnvaziv lobüler karsinom	17 (4,1)	11 (2,6)	28 (6,7)
İnvaziv mikropapiller karsinom	0 (0)	1 (0,2)	1 (0,2)
Metaplastik karsinom	19 (4,6)	0 (0)	19 (4,6)
İntraduktal papiller karsinom	2 (0,5)	8 (1,9)	10 (2,4)
Enkapsüle papiller karsinom	4 (1)	6 (1,4)	10 (2,4)
Duktal karsinoma in situ	13 (3,1)	26 (6,3)	39 (9,4)
Atipik duktal hiperplazi	5 (1,2)	14 (3,4)	19 (4,6)
Atipili kolumnar lezyon	5 (1,2)	79 (19)	84 (20,2)
Kolumnar lezyon, atipisiz	1 (0,2)	15 (3,6)	16 (3,8)
Radyal skar	0 (0)	14 (3,4)	14 (3,4)
Sklerozan adenozis	0 (0)	10 (2,4)	10 (2,4)
İntraduktal papillom	2 (0,5)	19 (4,6)	21 (5)
Duktal epitel hiperplazi – şiddetli	0 (0)	4 (1)	4 (1)
Kompleks apokrin metaplazi	17 (4,1)	0 (0)	17 (4,1)
Filloides tümörü	3 (0,7)	8 (1,9)	11 (2,6)
Fibroadenom	1 (0,2)	19 (4,6)	20 (4,8)
Normal meme	14 (3,4)	17 (4,1)	31 (7,5)
<b>Toplam</b>	<b>131 (31,5)</b>	<b>285 (68,5)</b>	<b>416 (100)</b>

Benign kategorideki lezyonların %80,6'sında INPP4B korunmuş, %19,4'ünde ise kayıp izlenmiştir. Malign kategoride ise INPP4B ekspresyon oranı %50,9 olup, benign kategoriden anlamlı şekilde daha azdır (Tablo 4.10).

**Tablo 4.10.** Malign ve benign lezyonlarda INPP4B ekspresyonu. (p <0,05)

	INPP4B		Toplam n (total %)
	Negatif n (total %)	Pozitif n (total %)	
<b>Benign</b>	48 (11,5)	200 (48)	<b>248 (59,5)</b>
<b>Malign</b>	83 (19,9)	86 (20,6)	<b>169 (40,5)</b>
<b>Toplam</b>	<b>131 (31,4)</b>	<b>286 (68,6)</b>	<b>417 (100)</b>

INPP4B kaybı, yüksek dereceli invaziv tümörlerde (%67,9), düşük dereceli invaziv tümörlere (%34,4) göre anlamlı olarak daha fazladır. Bu oran invaziv tümörden, DKİS, ADH, FEA ve KL'ye doğru gidildikçe genellikle azalmaktadır. Kolumnar lezyonların ise sadece %5.9'unda kayıp izlenmiştir. Yüksek dereceli invaziv tümörler hariç diğer lezyonlarda INPP4B ekspresyonu, kaybına göre daha yüksektir ve pozitif boyanma yüzdesi düşük dereceli invaziv tümörden KL'ye doğru artmaktadır (Tablo 4.11).

**Tablo 4.11.** Düşük dereceli meme karsinogenez basamakları ve yüksek dereceli invaziv-in situ tümörlerde INPP4B ekspresyonu. (p<0,05) (inv. tm: invaziv tümör, DKİS: duktal karsinoma in situ, ADH: atipik duktal hiperplazi, FEA: flat epitelyal atipi, KL: kolumnar lezyon)

	Düşük dereceli meme karsinogenez basamakları ve yüksek dereceli tümörler						Toplam n (total %)
	Yüksek dereceli inv. tm. n (total %) (lezyon içi %)	Düşük dereceli inv. tm n (total %) (lezyon içi %)	Yüksek dereceli DKİS n (total %) (lezyon içi %)	Düşük dereceli DKİS ve ADH n (total %) (lezyon içi %)	FEA n (total %) (lezyon içi %)	KL n (total %) (lezyon içi %)	
<b>INPP4B negatif</b>	53 (19,7) (67,9)	11 (4,1) (34,4)	13 (4,8) (34,2)	5 (1,9) (25)	5 (1,9) (6)	1 (0,4) (5,9)	<b>88 (32,7)</b>
<b>INPP4B pozitif</b>	25 (9,3) (32,1)	21 (7,8) (65,6)	25 (9,3) (65,8)	15 (5,6) (75)	79(29,4) (94)	16 (5,9) (94,1)	<b>181 (67,3)</b>
<b>Toplam</b>	<b>78 (29)</b>	<b>32(11,9)</b>	<b>38(14,1)</b>	<b>20 (7,4)</b>	<b>84(31,2)</b>	<b>17 (6,3)</b>	<b>269 (100)</b>

Kolumnar hücreli ve kolumnar hücre içeren lezyonlar arasında INPP4B ekspresyonu açısından anlamlı fark KHL ve papiller lezyonlar arasındadır (Tablo 4.12). KHL, papiller lezyonlar ve bifazik lezyonlarda INPP4B kaybı gösteren vaka oranı (sırasıyla %5,9, %19,5 ve %12,9), göstermeyenlere (sırasıyla %94,1, %80,5 ve %87,1) göre belirgin azdır.

**Tablo 4.12.** Kolumnar hücreli ve kolumnar hücre içeren lezyonlarda INPP4B ekspresyonu. (p = 0,049)(KHL: Kolumnar hücreli lezyonlar)

	Kolumnar hücreli ve kolumnar hücre içeren lezyonlar			Toplam n (total %)
	KHL n (total %)	Papiller lezyonlar n (total %)	Bifazik lezyonlar n (total %)	
<b>INPP4B negatif</b>	6 (3,5)	8 (4,6)	4 (2,3)	<b>18 (10,4)</b>
<b>INPP4B pozitif</b>	95 (54,9)	33 (19,1)	27 (15,6)	<b>155 (89,6)</b>
<b>Toplam</b>	<b>101 (58,4)</b>	<b>41 (23,7)</b>	<b>31 (17,9)</b>	<b>173 (100)</b>

#### 4.4. pSGK3

pSGK3 ekspresyonu, invaziv duktal karsinomların %52,3'ünde, invaziv tübüler/kribriform karsinomların %80'inde, lobüler karsinomların %40'ında, metaplastik karsinomların %22,2'sinde izlenmiştir (Tablo 4.13). DKİS, ADH ve AKL gibi prekanseröz lezyonlarda, benign proliferatif lezyonlarda, atipisiz kolumnar lezyonlarda ve normal memede dahi pozitiflik oranı invaziv tümörlerden çok daha fazla çıkabilmektedir.

**Tablo 4.13.** Lezyonlara göre pSGK3 ekspresyonu.

	pSGK3				Toplam n (total %)
	Negatif	Pozitif			
	0 n (total %)	<%25 n (total %)	%25-50 n (total %)	>%50 n (total %)	
İnvaziv duktal karsinom	20 (4,9)	19 (4,7)	2 (0,5)	1 (0,2)	42 (10,3)
İnvaziv tübüler / kribriform karsinom	4 (1)	8 (2)	5 (1,2)	3 (0,7)	20 (4,9)
İnvaziv lobüler karsinom	15 (3,7)	6 (1,5)	5 (1,2)	1 (0,2)	27 (6,6)
İnvaziv mikropapiller karsinom	0 (0)	1 (0,2)	0 (0)	0 (0)	1 (0,2)
Metaplastik karsinom	14 (3,4)	3 (0,7)	1 (0,2)	0 (0)	18 (4,4)
İntraduktal papiller karsinom	5 (1,2)	5 (1,2)	0 (0)	0 (0)	10 (2,5)
Enkapsüle papiller karsinom	4 (1)	6 (1,5)	0 (0)	0 (0)	10 (2,5)
Duktal karsinoma in situ	9 (2,2)	24 (5,9)	6 (1,5)	0 (0)	39 (9,6)
Atipik duktal hiperplazi	3 (0,7)	8 (2)	5 (1,2)	1 (0,2)	17 (4,2)
Atipili kolumnar lezyon	6 (1,5)	42 (10,3)	31 (7,6)	7 (1,7)	86 (21,1)
Kolumnar lezyon, atipisiz	0 (0)	7 (1,7)	6 (1,5)	1 (0,2)	14 (3,4)
Radyal skar	1 (0,2)	8 (2)	5 (1,2)	0 (0)	14 (3,4)
Sklerozan adenozis	1 (0,2)	7 (1,7)	1 (0,2)	1 (0,2)	10 (2,5)
İntraduktal papillom	3 (0,7)	12 (2,9)	4 (1)	1 (0,2)	20 (4,9)
Duktal epitel hiperplazi – şiddetli	0 (0)	1 (0,2)	2 (0,5)	0 (0)	3 (0,7)
Kompleks apokrin metaplazi	10 (2,5)	5 (1,2)	0 (0)	0 (0)	15 (3,7)
Filloides tümörü	1 (0,2)	8 (2)	3 (0,7)	0 (0)	12 (2,9)
Fibroadenom	0 (0)	14 (3,4)	6 (1,5)	0 (0)	20 (4,9)
Normal meme	6 (1,5)	9 (2,2)	11 (2,7)	4 (1)	30 (7,4)
<b>Toplam</b>	<b>102 (25)</b>	<b>193 (47,3)</b>	<b>93 (22,8)</b>	<b>20 (4,9)</b>	<b>408 (100)</b>

Yüksek dereceli invaziv ve in situ tümörler ile meme karsinogenez basamaklarında pSGK3'ün pozitiflik oranı, yüksek dereceli tümörlerde (%47,4) en düşük, KL'de (%100) en yüksektir ve bu oranlar birbirinden anlamlı olarak farklıdır (Tablo 4.14). Ayrıca yüksek dereceli tümörlerden, atipisiz kolumnar lezyonlara gidildikçe basamaklı olarak pSGK3 ekspresyonu artmaktadır.

**Tablo 4.14.** Düşük dereceli meme karsinogenez basamakları ve yüksek dereceli invaziv-in situ tümörlerde pSGK3 ekspresyonu. ( $p < 0,05$ )  
(inv. tm: invaziv tümör, DKİS: duktal karsinoma in situ, ADH: atipik duktal hiperplazi, FEA: flat epitelyal atipi, KL: kolumnar lezyon)

	<b>Düşük dereceli meme karsinogenez basamakları ve yüksek dereceli tümörler</b>						<b>Toplam n (total %)</b>
	<b>Yüksek dereceli inv. tm. n (total %) (lezyon içi %)</b>	<b>Düşük dereceli inv. tm n (total %) (lezyon içi %)</b>	<b>Yüksek dereceli DKİS n (total %) (lezyon içi %)</b>	<b>Düşük dereceli DKİS ve ADH n (total %) (lezyon içi %)</b>	<b>FEA n (total %) (lezyon içi %)</b>	<b>KL n (total %) (lezyon içi %)</b>	
<b>pSGK3 negatif</b>	40 (15,1) (52,6)	13 (4,9) (40,6)	9 (3,4) (23,7)	3 (1,1) (16,7)	6 (2,3) (7)	0 (0) (0)	<b>71 (26,8)</b>
<b>pSGK3 pozitif</b>	36 (13,6) (47,4)	19 (7,2) (59,4)	29 (10,9) (76,3)	15 (5,7) (83,3)	80 (30,2) (93)	15 (5,7) (100)	<b>194 (73,2)</b>
<b>Toplam</b>	<b>76 (28,7)</b>	<b>32 (12,1)</b>	<b>38 (14,3)</b>	<b>18 (6,8)</b>	<b>86 (32,5)</b>	<b>15 (5,7)</b>	<b>265 (100)</b>

Kolumnar hücreli ve kolumnar hücre içeren lezyonlar arasında pSGK3 ekspresyonu açısından anlamlı fark papiller lezyonlar ve diğer iki grup (KHL ve bifazik lezyonlar) arasındadır (Tablo 4.15). pSGK3 ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı şekilde, KHL (%94,1) ve bifazik lezyonlarda (%96,9), papiller lezyonlardan (%70) daha fazladır.

**Tablo 4.15.** Kolumnar hücreli ve kolumnar hücre içeren lezyonlarda pSGK3 ekspresyonu. ( $p < 0,05$ )

		Kolumnar hücreli ve kolumnar hücre içeren lezyonlar			Toplam n (total %)
		KHL n (total %)	Papiller lezyonlar n (total %)	Bifazik lezyonlar n (total %)	
pSGK3	negatif	6 (3,5)	12 (6,9)	1 (0,6)	19 (11)
	pozitif	95 (54,9)	28 (16,2)	31 (17,9)	154 (89)
Toplam		101 (58,4)	41 (23,1)	32 (18,5)	173 (100)

#### 4.5. Boyamaların Birbirleri İle İlişkilerine Yönelik Bulgular

INPP4B pozitif boyanan lezyonların %85,9'u pSGK3 ile de pozitif ekspresyon göstermektedir (Tablo 4.16). INPP4B kaybı olan lezyonların ise pSGK3 ile %50'si negatif, %50'si pozitiftir.

**Tablo 4.16.** INPP4B ve pSGK3 ekspresyonlarının karşılaştırması. ( $p < 0,05$ )

		pSGK3		Toplam n (total %)
		Negatif n (total %)	Pozitif n (total %)	
INPP4B	Negatif	62 (15,5)	62 (15,5)	124 (30,9)
	Pozitif	39 (9,7)	238 (59,4)	277 (69,1)
Toplam		101 (25,2)	300 (74,8)	401 (100)

pAKT ve INPP4B ekspresyonu arasında ters orantı mevcuttur ( $p < 0,023$ ). INPP4B ekspresyonu, pAKT negatif vakaların %73,5'inde, pAKT pozitif vakaların %59'unda görülmektedir (Tablo 4.17).



**Tablo 4.17.** INPP4B ve pAKT ekspresyonlarının karşılaştırması. (p=0,023)

		pAKT		Toplam n (total %)
		Negatif n (total %)	Pozitif n (total %)	
INPP4B	Negatif	83 (22,2)	25 (6,7)	<b>108 (28,9)</b>
	Pozitif	230 (61,5)	36 (9,6)	<b>266 (71,1)</b>
Toplam		<b>313 (83,7)</b>	<b>61 (16,3)</b>	<b>374 (100)</b>

PTEN ve INPP4B arasında anlamlı sonuç elde edilmemiştir (Tablo 4.18). PTEN kaybı olan lezyonlar arasında, INPP4B kaybı (%33,3), INPP4B pozitifliğine (%66,7) göre daha az görülmektedir. Tersine INPP4B kaybı olan lezyonlarda da, PTEN kaybı (%62,3), PTEN pozitifliğine (%37,7) göre daha fazladır.

**Tablo 4.18.** INPP4B ve PTEN ekspresyonlarının karşılaştırması. (p=0,058)

		PTEN		Toplam n (total %)
		Negatif n (total %)	Pozitif n (total %)	
INPP4B	Negatif	66 (18,2)	40 (11)	<b>106 (29,2)</b>
	Pozitif	132 (36,4)	125 (34,4)	<b>257 (70,8)</b>
Toplam		<b>198 (54,5)</b>	<b>165 (45,5)</b>	<b>363 (100)</b>

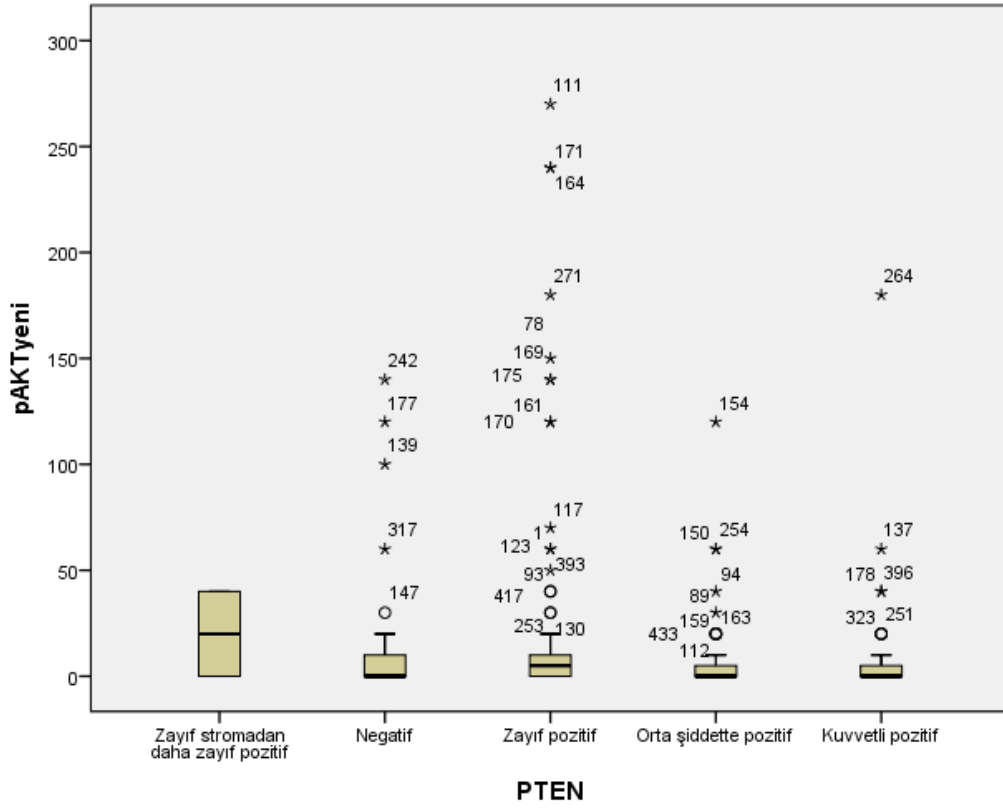
PTEN kaybı olan lezyonların %20,9'u pAKT ile pozitif iken, PTEN korunmuş olan vakaların %10,3'ü pAKT ile pozitifdir (Tablo 4.19). pAKT pozitif vakaların %70,9'u, pAKT negatif vakaların %51,4'ü PTEN kaybı göstermektedir.

**Tablo 4.19.** PTEN ve pAKT ekspresyonlarının karşılaştırması. (p=0,008)

		pAKT		Toplam n (total %)
		Negatif n (total %)	Pozitif n (total %)	
PTEN	Negatif	148 (43,1)	39 (11,4)	<b>187 (54,5)</b>
	Pozitif	140 (40,8)	16 (4,7)	<b>156 (45,5)</b>
Toplam		<b>288 (84)</b>	<b>55 (16)</b>	<b>343 (100)</b>

PTEN ekspresyonunun 5 grubu (stromadan daha zayıf ile negatiftan kuvvetli pozitif) ile pAKT ekspresyonunun medyan değerlerinin karşılaştırmasında, PTEN ile zayıf pozitif boyananlar, PTEN ile orta ve kuvvetli boyananlara göre pAKT ekspresyonunda daha yüksek medyan değerine sahiptir (medyan pAKT değerleri

sırasıyla 5, 0, 0) (Şekil 4.2). PTEN pozitifler içinde zayıf boyananların daha yüksek medyan pAKT değerine sahip olması nedeniyle, PTEN zayıf pozitif grubun, PTEN kaybı olanlar gibi davranabileceğini akla getirmiş ve PTEN zayıf pozitif grup, PTEN negatiflerin arasında kabul edilmiştir.



**Şekil 4.2.** PTEN ekspresyonuna göre pAKT ekspresyonu medyan değerlerinin karşılaştırması. ( $p=0,023$ )

## 5. TARTIŞMA

Kolumnar hücreli lezyonlarla yapılan moleküler çalışmalarda, AKL, DKİS ve düşük dereceli invaziv karsinomlarda, ilerleyici şekilde allelik hasar birikimi ve mutasyon oranında ilerleyici artış izlenmesi, AKL'nin düşük dereceli invaziv karsinomlar için morfolojik prekürsör olduğu hipotezini desteklemektedir (51, 79). FEA özellikle invaziv tübüler ve lobüler karsinom ile ilişkilidir (43, 47). Primer meme karsinomlarında yaklaşık %70 vaka PI3K yolağındaki bir veya daha fazla bileşende değişiklik göstermektedir (80). Bunlar sınıf I PI3K'nin katalitik alt birimini kodlayan PIK3CA genindeki mutasyon veya amplifikasyon, Her2 gibi onkogenik tirozin kinaz reseptörlerinin aktivasyonu, PTEN ve/veya INPP4B gibi tümör supresörlerin kaybı veya AKT1 protoonkogeninde mutasyon veya amplifikasyon olabilir. Bu değişiklikler AKT hiperaktivasyonu ve hücre büyümesi, proliferasyonu, yaşam süresinin artması ile sonuçlanır. Bu yolağın düzenlenememesi; kontrolsüz proliferasyon, genomik dengesizlik ve tümör hücrelerindeki yeni metabolik programlama gibi çeşitli kanser özellikleri ile ilişkilidir (63). Meme karsinomlarında PI3K yolağındaki en sık görülen değişiklik, %27 vakada bulunan PIK3CA genindeki fonksiyon kazanımıdır (61). Ek olarak, PI3K/AKT/mTOR yolak aktivasyonu antitümör tedavilerde kanser hücre direncinin esas sebeplerinden biridir (81). PI3K yolağındaki değişiklikler, sadece invaziv tümörlerde değil, DKİS, ADH, FEA prekanseröz lezyonlarında da saptanmıştır (8, 82, 83). Meme karsinomlarındaki bu alandaki çalışmaların önemli bir kısmı moleküler testler kullanılarak yapılmış olup, bu yolağın bileşenlerinin temsilci immünohistokimyasal boyamalarının moleküler testlerle eş zamanlı yapılmış olduğu ya da sadece immünohistokimyaya yer verilen (84, 85) çalışmalar az sayıdadır. Bu tezde, meme karsinogenezinde önemli rolü olan PI3K yolağındaki bileşenlerin temsilci immünohistokimyasal boyalarının, düşük ve yüksek dereceli invaziv ve in situ tümörler ile düşük dereceli meme karsinogenezinin ilk lezyonu olarak kabul edilen FEA'da, bu karsinogenez basamaklarından olan ADH'de ve kolumnar değişiklik içeren benign proliferatif lezyonlardaki sonuçlarının karşılaştırılması, kolumnar lezyonların kendi içinde atipili ya da atipisiz olmaları, eşlik eden tümör

varlığı ve tümöre yakınlıklarına göre sonuçlarının karşılaştırılması ve PI3K yolak aktivasyonu bakımından farklarının incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamıza, normal meme parankimi ve normal memede görülebilecek değişiklikler dahil, invaziv, in situ, prekanseröz, benign proliferatif, papiller ve bifazik lezyonlar gibi çok çeşitli lezyonlar dahil edilmiştir ancak anlamlı bulgu içeren küçük gruplarda vaka sayıları daha ileri çalışmalar ile arttırılmalıdır. Çalışmamızın bir diğer eksik yanı ise, PI3K yolağındaki değişikliklerin maddi imkanlar nedeniyle, eş zamanlı olarak moleküler çalışmalar ile saptanamamış olmasıdır. Yine aynı sebeple pAKT T308 ve AKT (aktif olmayan form)'a yönelik immünohistokimya uygulanamamıştır. Eğer gen düzeyindeki değişiklikler ile immünohistokimyasal sonuçlar kıyaslanabilmiş olsaydı, immünohistokimyasal bulgularımızın anlamı çok daha değerli olurdu.

PI3K/AKT sinyal yolağı için temsilci immünohistokimyasal belirteçlerin sonuçları ayrıntılı olarak aşağıda tartışılmıştır.

### 5.1. pAKT

PI3K yolağının akışındaki hedef molekül olan serin-treonin kinaz'dır ve AKT1, AKT2 ve AKT3 olmak üzere 3 izoformu vardır. Hücrenin büyümesi, çoğalması ve metabolizmasında önemli rol oynar (4). Özetle, ekstraselüler uyaran tarafından aktive olan PI3K, PI4,5P2 ile etkileşime geçip onu fosforile ederek PI3,4,5P3'ü oluşturur ve sonucunda PIP3 bağımlı PDK1, AKT'nin aktivasyon bölgesindeki T308'i, yine PI3K bağımlı çalışan başka bir kinaz olan mTORC2 de C-terminal hidrofobik motifteki S473 bölgesini fosforile eder. Böylece AKT'nin maksimum aktivasyonu gerçekleşmiş olur (65).

Biz S473 bölgesini hedef alan phospho-AKT immünohistokimyasal belirtecini kullandık ve sitoplazmik ve/veya nükleer yerleşimli p-AKT boyanması gözlemledik. Genel olarak lezyonlarda sitoplazmik boyanma daha yaygın olmakla birlikte, nükleer boyanma sıklığı en fazla olan lezyonlar intraduktal papillomlar ve bifazik lezyonların (fibroadenom, benign ve borderline filloides tümör) epitelyal bileşenidir. Nükleer boyanmanın görülmediği lezyonlar içinde bazı invaziv tümörler (lobüler ve metaplastik karsinom), in situ tümörler (intraduktal papiller karsinom), benign

proliferatif lezyon (şiddetli DEH, KAM) ve bifazik lezyon (benign filloides tümör) tipleri yer almaktadır. Nükleer boyanmanın sitoplazmikten farklı olup olmadığı yönünde yapılan literatür araştırmasında iki çalışmada meme kanser vakalarına uygulanan phospho-AKT boyamalarında nükleer boyanmanın da görüldüğünü belirtmişler ancak nedenine yönelik yorum yapılmamıştır (86, 87). 1997'de Andjelkovic ve arkadaşları AKT'nin aktive olduktan sonra membrandan ayrılıp nükleusa yer değiştirdiğini belirtmiştir (88). Küçük hücreli dışı akciğer karsinom vakalarında bakılan p-AKT ekspresyonunda tüm vakalarda sitoplazmik boyanma mevcut olup, %42 vakada ek olarak nükleer boyanma da elde etmişler ve her iki tipte boyanmanın da iyi diferansiyel tümörlerle kuvvetli ilişkisini saptamışlardır. AKT'nin sitoplazmik fonksiyonunun aksine, nükleer yer değiştirmesinin henüz tam olarak açıklanamadığını söylemişler ve bu durumun düzenleyici bir mekanizma olabileceğini ya da nükleer bir substratın hedef alınmış olabileceğini öne sürmüşlerdir (89). Prostat kanseri vakalarında yapılan bir çalışmada pAKT'nin sitoplazmik ya da nükleer artmış ekspresyonunun, artmış proliferasyonla doğru orantılı, apoptotik indeksle ise ters orantılı olduğunu, ancak nükleer boyanmanın ilişkisinin daha güçlü olduğunu gözlemlemişler ve bu nedenle esas anti-apoptotik etkinin, p-AKT'nin nükleer etkileri ile olabileceğini ileri sürmüşlerdir (90).

pAKT ekspresyonunu, 81 FEA lezyonunun 8'inde, 17 ADH lezyonunun 2'sinde, 37 DKİS lezyonunun 3'ünde, 99 invaziv karsinomun 31'inde saptadık. 4 şiddetli DEH lezyonunun hiçbirinde pAKT pozitifliği izlemedik. Bu dağılım eğilimi Li ve arkadaşlarının proliferatif ve atipik meme lezyonları (UDH, FEA, ADH), DKİS ve invaziv karsinomda *PIK3CA* mutasyonu incelemesinde de gözlenmiştir: 16 UDH vakasının hiçbirinde, 20 FEA vakasının 1'inde, 32 ADH vakasının 2'sinde, 46 in situ karsinom vakasının 14'ünde ve çoğu invaziv duktal karsinom olan 108 invaziv meme karsinom vakasının 29'unda (91) *PIK3CA* mutasyonu tespit edilmiştir. Aleskandarany ve arkadaşları, 1202 erken evre invaziv meme karsinomunun 914'ünde (%76) pAKT aşırı ekspresyonu izlemiştir, bu durumun karsinogenetik basamaklarda erken bir olay olarak pAKT'nin onkogenetik rolünü yansıtır olabileceğini belirtmiştir (92). Bizim serimizde invaziv karsinomların sadece üçte birinde pAKT ekspresyonu

mevcuttur; bu farklılık doku mikrodizini kullanmış olmamızdan kaynaklanıyor olabileceği gibi daha büyük olasılıkla serimizdeki vakaların ileri evre ve yüksek dereceli tümörleri temsil etmesinden kaynaklanmaktadır.

pAKT'nin kuvvetli ekspresyonunu en çok sergileyen grup invaziv lobüler karsinomdur (13 kuvvetli pozitif vakanın 8'i). Ayrıca pAKT ekspresyon oranı %70,8 ile en yüksek olan grup da lobüler karsinomdur. İnvaziv lobüler karsinomlarda hem S473 hem de T308 bölgesinden fosforile olan AKT'nin anlamlı şekilde artmış olduğu gösterilmiştir (93). İnvaziv tübüler/kribriform karsinomlarda ise pAKT kuvvetli pozitif ekspresyonu hiç izlemedik. Bu durum, lüminal tip meme karsinomları olan invaziv tübüler karsinom ve invaziv lobüler karsinomlarda benzer sonuçlar elde etme beklentimizle uyumsuzdur. İnvaziv duktal karsinom, invaziv tübüler/kribriform karsinom ve metaplastik karsinomda pAKT ekspresyon oranları benzer şekilde ve yaklaşık %20'dir. Magkou ve arkadaşları invaziv duktal ve lobüler karsinom vakalarına uyguladıkları pAKT (Thr308) immünohistokimyasal çalışması sonucu, invaziv lobüler karsinomlarda ekspresyonu daha sık saptamıştır (85). Aleskandarany ve arkadaşları, erken evre invaziv meme karsinomları ile olan çalışmasında, özellikle pür invaziv tübüler ve lobüler karsinomun medüller benzeri karsinomlara göre daha yüksek pAKT ekspresyonu gösterdiğini belirtmiştir (92).

Düşük dereceli meme karsinogenez basamaklarında, düşük dereceli invaziv tümör, düşük dereceli DKİS/ADH ve FEA'ya doğru gidildikçe pAKT pozitiflik oranı azalmaktadır (sırasıyla %24,1, %11,1 ve %9,9). Ki bu sonuçlar, invaziv tümöre doğru gidildikçe PI3K/AKT yolağının aktivitesinin arttığını gösteren aktif formdaki pAKT'nin pozitif olması beklentimiz ile uyumludur. Atipisiz kolumnar lezyonlarda (%21,4), düşük dereceli invaziv karsinoma (%24,1) benzer oranda pozitiflik izledik. Troxell ve arkadaşları KHL'de %54 vakada, invaziv karsinomlarda %37 vakada *PIK3CA* mutasyonu saptamış ve KHL ile invaziv karsinom arasındaki uyumluluğun çok az olduğunu belirtmiştir (8). Atipili ve atipisiz kolumnar lezyonlar arasında pAKT ekspresyonu açısından anlamlı fark bulunamaması, kolumnar lezyonlardaki atipi varlığı ve yokluğunun tanısının öznelliğine bağlı olabilir. Bir çalışmada 14 patoloji asistanı ve yan dal "fellow"u içeren bir gruba 24 vakalık test uygulanmış olup,

sonucunda istatistiksel  $\kappa$  değeri 0,42 (orta uyum düzeyi) olarak hesaplanmıştır, bu düzey eğitim sonrası yapılan test ile 0,56'ya (orta-iyi uyum düzeyi) yükselmiştir. Gözlemciler arası uyumun orta düzeyden iyi düzeye çıkması eğitim ile olmuştur (24). Kolumnar lezyonların atipi içerip içermediği konusunda uyumun artmasında eğitimin rolü önemlidir. Ayrıca, kolumnar lezyonlar için daha önceki kavram karmaşası ve kriter eksikliğinin 2003'te Schnitt (16) tarafından giderilmesi de bu lezyonları tanımda ilerleme sağlamıştır.

Benign, atipik ve in situ karsinom içeren 38 papiller lezyondan 2'sinde pAKT pozitifliği izledik ve bu 2 lezyon da intraduktal papillomdur. Troxell ve arkadaşları, değişik proliferatif lezyonların da yüksek oranda *PIK3CA* mutasyonu içerebileceğini destekler şekilde, memenin benign ve atipik papiller lezyonlarında %65 oranında *PIK3CA* ve *AKT1* mutasyonu tanımlamıştır (36). 4 şiddetli DEH lezyonunun hiçbirinde pAKT ekspresyonu yoktu, 4 hafif şiddette DEH lezyonunun ise birinde pAKT ekspresyonu saptadık. Jahn ve arkadaşlarının çalışmasında ODH vakalarında kanser ilişkili genlerdeki değişiklikleri analiz etmiştir. 16 ODH vakasından mutasyon içeren 10'unda, en fazla görülen mutasyon olarak, 6'sında *PIK3CA* değişikliği, 2'sinde *AKT1* mutasyonu saptamıştır. Onların görüşüne göre, PI3K/AKT/mTOR yolağının farklı aşamalarındaki mutasyonlar nedeniyle, kansere dönüşüm riskinin düşük olmasına rağmen, ODH neoplastik bir lezyondur (94).

Bifazik lezyonların kolumnar epitelyal bileşenlerinin %13,7'sinde pAKT ekspresyonu mevcuttur. AKT yolağını aktive eden genetik değişiklikler bu lezyonların epitelyal bileşeninde de görülebilir. Filloides tümörlerde *PIK3CA*'da aktive edici mutasyonlar saptanmış ve PI3K hedefli tedaviler için potansiyel olduğu belirtilmiştir (95), ancak bu mutasyonların stromal veya epitelyal bileşende olup olmadığı soru işaretidir.

Normal meme dokusu içeren 27 vakanın 5'inde pAKT ekspresyonu mevcut olup, biri kuvvetli pozitif, dördü zayıf pozitifdir. Kuvvetli pozitif olan hafif şiddette DEH, zayıf pozitif olanlardan üçü fibrokistik değişiklik, biri normal TDLÜ içermektedir. Bu durum, AKT hiperaktivasyonunu temsil etmeyip normal bir lüminal epitel hücresindeki PI3K/AKT yolak aktivitesini gösteriyor olabilir. Zinda ve

arkadaşları göstermiştir ki: meme, akciğer, prostat ve kolonda normal dokular ve tümör dokuları, her üç AKT izoformunu da eksprese eder. Ayrıca tümörigenez ile üç AKT izoformunun RNA ekspresyon paternlerinde bariz bir kayma izlenmemiştir(96).

## 5.2. PTEN

PTEN lipid/protein fosfataz olup, fosfatidilinositollerin D-3 pozisyonundaki fosfatı hidrolize eder (97). PTEN'in en önemli substratı PI(3,4,5)P3 gibi görünmektedir ve sınıf I PI3K yolağının önemli bir regülatörü ve tümör supresördür (98). Çalışmamızda PTEN kaybı veya azalması olan grupta pAKT sonuçlarının daha yüksek olması PTEN'in, PI3K/AKT sinyal yolağında tümör supresör olarak davrandığını desteklemektedir.

Yüksek ve düşük dereceli invaziv ve in situ karsinomlar ile ADH, FEA ve atipisiz KHL'de PTEN ekspresyonuna baktığımızda, yüksek ve düşük dereceli invaziv karsinomlar arasında ya da yüksek ve düşük dereceli in situ karsinomlar arasında anlamlı fark bulamadık. Ancak PTEN kaybı, FEA'da (%53), düşük dereceli invaziv tümörlere (%82,8) göre anlamlı olarak daha azdı. Tüm in situ karsinomların %63,6'sında, tüm invaziv karsinomların %78,7'sinde PTEN kaybı gözlemledik. Ayrıca tüm vakalar arasında PTEN kaybı, pAKT ekspresyonu olanların %70,9'unda, pAKT negatif olanların %51,4'ünde mevcuttu. Bir çalışmada, bizimkinden çok daha az oranda olacak şekilde, PTEN kaybı invaziv karsinomların %26'sında, in situ karsinomların %11'inde saptanmıştır. Bizimkinin aksine yüksek dereceli tümörlerin PTEN kaybı ile ilişkili olduğu; PTEN kaybının, AKT ekspresyonu ile korele olmadığı sonucuna varılmıştır (99).

KHL'ların %52,5'inde, papiller lezyonların %42,9'unda PTEN kaybı izledik. Xia ve arkadaşlarının bir çeşit memeli hayvanda olan meme tümörleri üzerinde yaptığı çalışmalarda da papiller tümörlerde PTEN mutasyonu saptanmıştır (100). İlginç ama şaşırtıcı olmayan bir bulgu olarak tümöre yakın yerleşimli AKL'nin, tümör içermeyen AKL'ye göre anlamlı şekilde daha fazla PTEN kaybı gösterdiğini saptadık.

Bifazik lezyonlarda 28 vakanın 4'ünde PTEN kaybı izledik ve bu 4 vaka da fibroadenomdu. Çalışmaya dâhil ettiğimiz benign ve borderline tipte toplam 9



filloides tümörde de PTEN korunmuştu, bizim vakalarımız malign filloides içermiyordu. Filloides tümörlerde, PTEN ve INPP4B'yi kodlayan genlerin olduğu kromozom 4q ve 10p'de delesyonlar, daha yaygın olarak malign filloides tümörlerde görülmüştür (101). Bu yolakla ilişkili genlerdeki değişiklikler, son çalışmalarda yeni nesil dizileme ile de borderline/malign filloides tümörlerde izlenmiştir. Yine bu çalışmada, filloides tümörlerde epitelyal PTEN ve INPP4B ekspresyonunda azalma rekürens ile ilişkili bulunmuştur (95).

Normal meme içeren vakaların %35'inde PTEN kaybı gözlenmiştir. PTEN kaybı gösteren bu 11 vakanın 7'sini fibrokistik değişiklik oluşturmaktadır. Aksine, Qi ve arkadaşları çalışmasında dâhil ettikleri vakalardan normal meme dokusunun hepsinde 3+ PTEN ekspresyonu, FEA, ADH ve DKİS vakalarının büyük çoğunluğunda ise 2+ ya da 3+ PTEN ekspresyonu saptamıştır. Hiç PTEN kaybı görülmemesini görece daha az vaka sayısına bağlamıştır (102).

### 5.3. INPP4B

INPP4B; bir tümör supresör olarak, ER pozitif hücrelerde PI3K/AKT sinyalini ve çoğalmayı baskılayıcı olarak yakın zamanlarda keşfedilmiştir (103, 104). INPP4B, tercihen kullandığı substrat olan PI(3,4)P2'yi, PI3P'ye hidrolize eden bir 4-fosfatazdır (105). INPP4B, PI3K lipid ürünlerinin seviyelerini kontrol ederek tümör supresör görevi görür (106).

Benign kategorideki lezyonların %19,4'ünde, malign lezyonların ise %49,1'inde INPP4B kaybı izlenmiştir. Bu bulgu, invaziv ve in situ meme tümörlerinde, normal meme, benign proliferatif lezyonlar ve atipik lezyonları içeren benign gruba göre, INPP4B'nin kaybının daha fazla olması beklentimiz ile uyumludur. İnvaziv tümörler arasında INPP4B kaybını en yüksek oranda gösteren grup metaplastik karsinomlar (%100), ikinci sırada ise lobüler karsinomlardır (%60,7). Aksine Fedele ve arkadaşları çalıştıkları 22 primer meme karsinomundan ER pozitif olanların hepsinde INPP4B proteini saptamıştır. ER negatif olanların ise az bir kısmında saptamıştır. INPP4B kaybını, ER ve PR ekspresyon kaybı ve yüksek tümör derecesi ile ilişkili bulmuştur (74). Çalışmamızda pAKT ile INPP4B arasında ters orantı

mevcuttur; INPP4B kaybı gösteren 17 lobüler karsinom vakamızdan 11'i pAKT ile de pozitif. Bu durum, INPP4B kaybının, o vakalarda AKT aktivasyonunu arttırdığını ve tümör supresör rolünün ortadan kalktığını destekleyebilir. Ancak yukarıda bahsedilen çalışmada tek başına yüksek pAKT'nin, INPP4B kaybı ile istatistiksel anlamlı olarak korele olmadığı, eş zamanlı PTEN ve INPP4B kaybının PI(3,4,5)P3 ve PI(3,4)P2'nin birikimini sağlayarak AKT'nin maksimum aktivasyonunu tetiklediği belirtilmiştir (74). Gewinner ve arkadaşları çoğu bazal benzeri meme kanserinde *INPP4B* bölgesinde heterozigosite kaybı saptamış, INPP4B olmayışının AKT aktivasyonunu arttırdığını belirtmiştir (105). Liu ve arkadaşları, üçlü negatif meme tümörlerinde INPP4B inaktivasyonunun sık olduğunu ve tümörigenezi tetiklediğini saptamış ve INPP4B'nin tümör supresör fonksiyonuna işaret etmiştir (107).

Çalışmamızda INPP4B ve PTEN ekspresyonu arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Buna karşın Fedele ve arkadaşları, PTEN kaybı olan vakalarda INPP4B kaybının (%49), PTEN korunmuş vakalardaki INPP4B kaybına (%14) göre daha fazla olduğunu belirtmiştir (74).

Normal meme grubuna dâhil ettiğimiz 31 vakadan, INPP4B ekspresyonu göstermeyen 14 vakanın 8'i fibrokistik değişiklik, 4'ü basit apokrin metaplazi, 1'i fibroadenomatoid değişiklik, 1'i hafif DEH'dir. Normal memede, INPP4B protein ekspresyonu duktuslarda ER-pozitif meme duktal lüminal epitel hücrelerine sınırlıdır, myoepitelyal hücreler eksprese etmez. Sekretuar lobüler ünitelerde ise INPP4B sadece %20 hücrede pozitifdir. INPP4B, ER pozitif hücrelerde eksprese olur. Bununla uyumlu olarak INPP4B protein ekspresyonu, ER-pozitif meme kanseri hücre kültürlerine sınırlı olarak izlenmiştir (74).

KHL'den AKL'ye, ADH, düşük dereceli DKİS ve invaziv tümöre doğru gidildikçe INPP4B kaybı gösteren vaka oranı artmaktadır, bu lezyonların karsinogenez basamaklarında ilk prekanseröz lezyondan invaziv tümöre doğru giden yoldaki basamaklı dizilim ile uyumlu bir sonuçtur. INPP4B kaybını, yüksek dereceli invaziv tümörlerde (%67,9), düşük dereceli invaziv tümörlere (%34,4) göre anlamlı olarak yüksek izledik. Bu sonuçlar ile INPP4B kaybının agresif tümörlerde daha fazla görüldüğü desteklenmiştir. Bir çalışmada *INPP4B* içeren kromozomal bölgede

heterozigosite kaybının, üçlü negatif/bazal benzeri meme tümörlerinin %55'inde görüldüğü rapor edilmiştir (105).

KHL, papiller lezyonlar ve bifazik lezyonlarda INPP4B kaybı sık değildir (sırasıyla %5,9, %19,5 ve %12,9). Bu lezyonların ER sinyali ilişkili olduğu ve ER ekspresyonu gösterdikleri düşünülürse, INPP4B ekspresyonu göstermeleri de diğer çalışmalarla uyumludur (74). Radyal skar, sklerozan adenozis ve şiddetli DEH lezyonlarının tümünde INPP4B korunmuştur.

#### 5.4. pSGK3

SGK3, AGC protein kinaz ailesinin bir üyesi olup, SGK1 ve SGK2 olarak iki izoformu daha vardır. Bu izoformlar, AKT1-3'ün katalitik bölgeleri ile %55 oranında aynıdır. SGK izoformları da AKT ile yolağın yukarı akışındaki aynı kinazlar tarafından aktive olur: aktivasyon bölgesi PDK1 ile, hidrofobik motif TORC2 ile (108). SGK3 PX bölgesi PI3P'ye bağlanır (109).

INPP4B pozitif olan vakalarda, pAKT ekspresyonunun düşük, pSGK3 ekspresyonunun da yüksek olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar düşündürmektedir ki: INPP4B, AKT'nin aktivasyonunu azaltmakta ve onkogenik etki ile AKT bağımsız başka bir yol olan SGK3'ün aktivasyonunu arttırmaktadır. Vasudevan ve arkadaşları göstermiştir ki: SGK3, onkogenik *PIK3CA* mutasyonu olan meme kanseri hücre kültürlerinde, hayatta kalma için gereklidir (14). Gasser ve arkadaşları analizlerinde INPP4B ekspresyonunun, SGK3 aktivasyonuna ve eş zamanlı olarak AKT fosforilasyonunun inhibisyonuna yol açtığını ve bunların daha çok lüminal tip meme karsinomlarında olduğunu saptamıştır. Yüksek SGK3'ün, her iki durumla -artmış INPP4B ekspresyonu ve *PIK3CA/PTEN* mutasyon statüsü- direk olarak korele olduğunu bulmuştur. Ve verileri, SGK3'ün meme kanserinde arttığını, aktivitesinin onkogenik PI3K sinyaline bağlı olduğunu göstermiştir (110).

Yüksek dereceli invaziv ve in situ tümörler ile meme karsinogenez basamaklarında pSGK3'ün ekspresyonunun, yüksek dereceli invaziv tümörlerde (%47,4) en düşük, KL'da (%100) en yüksek olduğu izlenmektedir. Bu durum aynı lezyonlardaki INPP4B ekspresyonu ile ilişkilendirilebilir. pSGK3 ekspresyonu da,

INPP4B'deki gibi yüksek dereceli invaziv tümörden KHL'a doğru artmakta olup, aralarında doğru orantı olduğu dikkati çekmiştir. Ayrıca invaziv meme tümörlerindeki pSGK3 ekspresyon oranlarına baktığımızda, en yüksek ekspresyon %80 ile invaziv tübüler/kribriform karsinomlarda, en düşük oran %22,2 ile metaplastik karsinomlardadır. Bu bulgumuzla uyumlu şekilde, Gasser ve arkadaşları çalışmasında lüminal meme kanseri hücre kültürlerinde yüksek seviyede SGK3 fosforilasyonu ve yüksek INPP4B ekspresyonunda direk korelasyon gözlemiştir ve ER pozitif meme kanserinde, INPP4B'nin SGK3'ün aktivasyonunu tetikleyici bir onkogen gibi davrandığını rapor etmiştir (110). Aynı zamanda üçlü negatif/bazal benzeri meme kanserinde INPP4B kaybı siktir, burda da AKT aktivasyonunu inhibe ederek tümör supresör gibi fonksiyon görür (74, 105).

## 6. SONUÇLAR

Bu çalışmada meme kansinolarının çoğunda görülen PI3K yolağındaki değışiklikler, prekanseröz lezyonlarda ve bazı benign proliferatif lezyonlarda da immünohistokimyasal olarak saptanmıştır. Bulgular şu şekilde özetlenebilir:

- Lezyonların 61/380 (%16)'i pAKT pozitifdir. İnvaziv kansinolardan pAKT ekspresyonunu en fazla gösteren grup lobüler kansinolardır. Bu, meme kanserinde PI3K yolağındaki değışikliklerin en sık lüminal tip meme kansinolarında görüldüğü bilgisi ile uyumludur. Bunun tersine, biz invaziv tübüler/kribriform kansinom vakalarımızda ise pAKT ekspresyon oranını düşük saptadık. Agresif ve üçlü negatif meme kansinomu olan metaplastik kansinom vakalarımızın da bir kısmında pAKT ekspresyonu mevcuttur.
- İtraduktal papiller kansinom, enkapsüle papiller kansinom, sklerozan adenozis ve şiddetli duktal epitel hiperplazisinde pAKT ekspresyonu görülmemiştir.
- pAKT ile sitoplazmik ve/veya nükleer ekspresyon gözlenmiştir. pAKT pozitif lezyonlar arasında, nükleer ekspresyon en çok intraduktal papillomda (%77,7) ve bifazik lezyonlarda (%63,6) izlenmiştir. Nükleer pAKT ekspresyonunun ne anlama geldiği bilinmemektedir.
- PTEN kaybı 205/376 (%55) olguda görülmüştür. Düşük dereceli meme kansinogenezi basamaklarından FEA'da, düşük dereceli invaziv tümöre göre anlamlı olarak daha az PTEN kaybı mevcuttur. Tümöre yakın FEA'lar, tümör içermeyen FEA'lara göre anlamlı bir şekilde daha fazla PTEN kaybı göstermiştir.
- Tüm lezyonların 131/416 (%31)'sında INPP4B kaybı görülmüştür. INPP4B kaybı, malign lezyonlarda benign lezyonlardan daha fazla görülmektedir. Yüksek dereceli invaziv tümörlerde düşük dereceli invaziv tümörlerden anlamlı olarak daha fazladır.

- INPP4B ve pAKT arasında ters orantı bulunmuştur; INPP4B ekspresyonu gösteren vakalarda, INPP4B kaybı gösterenlere göre pAKT ekspresyonu daha azdır. Bu durum, INPP4B ekspresyonunun, o vakalarda AKT aktivasyonunu azalttığını ve tümör supresör rol aldığını destekler.
- KHL'de, kolumnar hücre içeren papiller lezyonlar ve bifazik lezyonlara göre daha fazla PTEN kaybı görülürken daha az INPP4B kaybı mevcuttur.
- Metaplastik karsinomlar ve kompleks apokrin metaplazilerde total INPP4B kaybı mevcuttur. Bu durum INPP4B ekspresyonunun, ER ekspresyonu ile ilişkisini ve agresif tümörlerde INPP4B'nin kaybının daha sık olduğunu desteklemektedir. Ancak bu çalışmada lüminal grupta yer alan invaziv lobüler karsinomların %60,7 sinde de INPP4B kaybı görülmüştür.
- Lezyonların 306/408 (%75)'i pSGK3 pozitifdir. Yüksek dereceli invaziv ve in situ tümörler ile meme karsinogenez basamaklarındaki karşılaştırmada, yüksek dereceli invaziv tümörlerde en düşük, KHL'de en yüksek pSGK3 ekspresyonu mevcuttur. pSGK3 ekspresyonu, KHL'de, bifazik lezyonlarla benzer ve papiller lezyonlardan daha yüksektir.
- INPP4B ekspresyonu gösteren vakaların çoğunluğu pSGK3 ile de ekspresyon göstermektedir ve bu vakaların da büyük çoğunluğu pAKT negatiftir. Bu, INPP4B'nin AKT bağımsız onkogenik aktivitesi ile uyumludur.
- FEA'de, atipik duktal hiperplazi ve düşük dereceli invaziv karsinoma kıyasla, pAKT ekspresyonu, PTEN kaybı, INPP4B kaybı daha az, pSGK3 ekspresyonu daha yüksektir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Simpson PT, Gale T, Reis-Filho JS, Jones C, Parry S, Sloane JP, et al. Columnar Cell Lesions of the Breast: The Missing Link in Breast Cancer Progression?: A Morphological and Molecular Analysis. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2005;29(6):734-46.
2. Abdel-Fatah TM, Powe DG, Hodi Z, Reis-Filho JS, Lee AH, Ellis IO. Morphologic and molecular evolutionary pathways of low nuclear grade invasive breast cancers and their putative precursor lesions: further evidence to support the concept of low nuclear grade breast neoplasia family. *The American journal of surgical pathology*. 2008;32(4):513-23.
3. Bellacosa A, Kumar CC, Cristofano AD, Testa JR. Activation of AKT Kinases in Cancer: Implications for Therapeutic Targeting. *Advances in Cancer Research*. 94: Academic Press; 2005. p. 29-86.
4. Engelman JA. Targeting PI3K signalling in cancer: opportunities, challenges and limitations. *Nature Reviews Cancer*. 2009;9(8):550-62.
5. López-Knowles E, O'Toole SA, McNeil CM, Millar EK, Qiu MR, Crea P, et al. PI3K pathway activation in breast cancer is associated with the basal-like phenotype and cancer-specific mortality. *International journal of cancer*. 2010;126(5):1121-31.
6. Bachman KE, Argani P, Samuels Y, Silliman N, Ptak J, Szabo S, et al. The PIK3CA gene is mutated with high frequency in human breast cancers. *Cancer biology & therapy*. 2004;3(8):772-5.
7. Castaneda CA, Cortes-Funes H, Gomez HL, Ciruelos EM. The phosphatidyl inositol 3-kinase/AKT signaling pathway in breast cancer. *Cancer and Metastasis Reviews*. 2010;29:751-9.
8. Troxell ML, Brunner AL, Neff T, Warrick A, Beadling C, Montgomery K, et al. Phosphatidylinositol-3-kinase pathway mutations are common in breast columnar cell lesions. *Modern Pathology*. 2012;25(7):930-7.
9. Vanhaesebroeck B, Guillermet-Guibert J, Graupera M, Bilanges B. The emerging mechanisms of isoform-specific PI3K signalling. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2010;11(5):329-41.
10. Alessi DR, James SR, Downes CP, Holmes AB, Gaffney PR, Reese CB, et al. Characterization of a 3-phosphoinositide-dependent protein kinase which phosphorylates and activates protein kinase B $\alpha$ . *Current biology*. 1997;7(4):261-9.
11. Sarbassov DD, Guertin DA, Ali SM, Sabatini DM. Phosphorylation and regulation of Akt/PKB by the rictor-mTOR complex. *Science*. 2005;307(5712):1098-101.

12. Li J, Yen C, Liaw D, Podsypanina K, Bose S, Wang SI, et al. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. *science*. 1997;275(5308):1943-7.
13. Agoulnik IU, Hodgson MC, Bowden WA, Ittmann MM. INPP4B: the new kid on the PI3K block. *Oncotarget*. 2011;2(4):321.
14. Vasudevan KM, Barbie DA, Davies MA, Rabinovsky R, McNear CJ, Kim JJ, et al. AKT-independent signaling downstream of oncogenic PIK3CA mutations in human cancer. *Cancer cell*. 2009;16(1):21-32.
15. Mills SE. *Histology for pathologists*. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. xi, 1272 p. p.
16. Schnitt SJ, Vincent-Salomon A. Columnar cell lesions of the breast. *Adv Anat Pathol*. 2003;10(3):113-24.
17. Boulos FI, Dupont WD, Simpson JF, Schuyler PA, Sanders ME, Freudenthal ME, et al. Histologic Associations and Long-term Cancer Risk in Columnar Cell Lesions of the Breast A Retrospective Cohort and a Nested Case-Control Study. *Cancer*. 2008;113(9):2415-21.
18. Aroner SA, Collins LC, Schnitt SJ, Connolly JL, Colditz GA, Tamimi RM. Columnar cell lesions and subsequent breast cancer risk: a nested case-control study. *Breast Cancer Res*. 2010;12(4):7.
19. Schnitt SJ. The diagnosis and management of pre-invasive breast disease - Flat epithelial atypia - classification, pathologic features and clinical significance. *Breast Cancer Res*. 2003;5(5):263-8.
20. Said SM, Visscher DW, Nassar A, Frank RD, Vierkant RA, Frost MH, et al. Flat Epithelial Atypia and Risk of Breast Cancer: A Mayo Cohort Study. *Cancer*. 2015;121(10):1548-55.
21. Dialani V, Venkataraman S, Frieling G, Schnitt SJ, Mehta TS. Does Isolated Flat Epithelial Atypia on Vacuum-assisted Breast Core Biopsy Require Surgical Excision? *Breast J*. 2014;20(6):606-14.
22. Logullo AF, Nimir C. Columnar cell lesions of the breast: a practical review for the pathologist. *Surgical and Experimental Pathology*. 2019;2(1):2.
23. O'Malley FP, Mohsin SK, Badve S, Bose S, Collins LC, Ennis M, et al. Interobserver reproducibility in the diagnosis of flat epithelial atypia of the breast. *Modern pathology*. 2006;19(2):172-9.
24. Haupt B, Schwartz MR, Xu Q, Ro JY. Columnar cell lesions: a consensus study among pathology trainees. *Human pathology*. 2010;41(6):895-901.
25. Hartmann LC, Sellers TA, Frost MH, Lingle WL, Degnim AC, Ghosh K, et al. Benign Breast Disease and the Risk of Breast Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2005;353(3):229-37.



26. D'Arcy C, Quinn C. Apocrine lesions of the breast: part 1 of a two-part review: benign, atypical and in situ apocrine proliferations of the breast. *Journal of Clinical Pathology*. 2019;72(1):1-6.
27. Page DL, Dupont WD, Rogers LW, Rados MS. Atypical hyperplastic lesions of the female breast. A long-term follow-up study. *Cancer*. 1985;55(11):2698-708.
28. Tavassoli FA, Norris HJ. A comparison of the results of long-term follow-up for atypical intraductal hyperplasia and intraductal hyperplasia of the breast. *Cancer*. 1990;65(3):518-29.
29. Rabban JT, Sgroi DC. Sclerosing lesions of the breast. *Semin Diagn Pathol*. 2004;21(1):42-7.
30. D'Alfonso TM, Shin SJ. Small Glandular Proliferations of the Breast. *Surg Pathol Clin*. 2012;5(3):591-643.
31. Visscher DW, Nassar A, Degnim AC, Frost MH, Vierkant RA, Frank RD, et al. Sclerosing adenosis and risk of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2014;144(1):205-12.
32. Cohen MA, Newell MS. Radial Scars of the Breast Encountered at Core Biopsy: Review of Histologic, Imaging, and Management Considerations. *AJR Am J Roentgenol*. 2017;209(5):1168-77.
33. Chou WYY, Veis DJ, Aft R. Radial scar on image-guided breast biopsy: is surgical excision necessary? *Breast Cancer Res Treat*. 2018;170(2):313-20.
34. Ferreira AI, Borges S, Sousa A, Ribeiro C, Mesquita A, Martins PC, et al. Radial scar of the breast: Is it possible to avoid surgery? *Eur J Surg Oncol*. 2017;43(7):1265-72.
35. Noguchi S, Motomura K, Inaji H, Imaoka S, Koyama H. Clonal analysis of solitary intraductal papilloma of the breast by means of polymerase chain reaction. *Am J Pathol*. 1994;144(6):1320-5.
36. Troxell ML, Levine J, Beadling C, Warrick A, Dunlap J, Presnell A, et al. High prevalence of PIK3CA/AKT pathway mutations in papillary neoplasms of the breast. *Mod Pathol*. 2010;23(1):27-37.
37. Di Cristofano C, Mrad K, Zavaglia K, Bertacca G, Aretini P, Cipollini G, et al. Papillary lesions of the breast: a molecular progression? *Breast Cancer Res Treat*. 2005;90(1):71-6.
38. Grimm LJ, Bookhout CE, Bentley RC, Jordan SG, Lawton TJ. Concordant, non-atypical breast papillomas do not require surgical excision: A 10-year multi-institution study and review of the literature. *Clin Imaging*. 2018;51:180-5.
39. Kuijper A, Mommers EC, van der Wall E, van Diest PJ. Histopathology of fibroadenoma of the breast. *Am J Clin Pathol*. 2001;115(5):736-42.

40. Ross DS, Giri DD, Akram MM, Catalano JP, Olcese C, Van Zee KJ, et al. Fibroepithelial Lesions in the Breast of Adolescent Females: A Clinicopathological Study of 54 Cases. *Breast J.* 2017;23(2):182-92.
41. Dupont WD, Page DL, Parl FF, Vnencak-Jones CL, Plummer WD, Jr., Rados MS, et al. Long-term risk of breast cancer in women with fibroadenoma. *N Engl J Med.* 1994;331(1):10-5.
42. Javed A, Jenkins SM, Labow B, Boughey JC, Lemaine V, Neal L, et al. Intermediate and long-term outcomes of fibroadenoma excision in adolescent and young adult patients. *Breast J.* 2019;25(1):91-5.
43. Rosen PP. Columnar Cell Hyperplasia Is Associated With Lobular Carcinoma In Situ and Tubular Carcinoma. *The American Journal of Surgical Pathology.* 1999;23(12):1561.
44. Goldstein NS, O'Malley BA. Cancerization of small ectatic ducts of the breast by ductal carcinoma in situ cells with apocrine snouts: a lesion associated with tubular carcinoma. *American journal of clinical pathology.* 1997;107(5):561-6.
45. Fernández-Aguilar S, Simon P, Buxant F, Simonart T, Noël J-C. Tubular carcinoma of the breast and associated intra-epithelial lesions: a comparative study with invasive low-grade ductal carcinomas. *Virchows Archiv.* 2005;447(4):683-7.
46. Abdel-Fatah TM, Powe DG, Hodi Z, Lee AH, Reis-Filho JS, Ellis IO. High frequency of coexistence of columnar cell lesions, lobular neoplasia, and low grade ductal carcinoma in situ with invasive tubular carcinoma and invasive lobular carcinoma. *The American journal of surgical pathology.* 2007;31(3):417-26.
47. Brandt SM, Young GQ, Hoda SA. The "Rosen Triad": tubular carcinoma, lobular carcinoma in situ, and columnar cell lesions. *Adv Anat Pathol.* 2008;15(3):140-6.
48. Page DL, Kasami M, Jensen RA. Hypersecretory hyperplasia with atypia in breast biopsies: What is the proper level of clinical concern? *AJSP: Reviews & Reports.* 1996;1(1):36-40.
49. Wellings S, Jensen HM, Marcum R. An atlas of subgross pathology of the human breast with special reference to possible precancerous lesions. *Journal of the National Cancer Institute.* 1975;55(2):231-73.
50. Larson P, de Las Morenas A, Cerda S, Bennett S, Cupples L, Rosenberg C. Quantitative analysis of allele imbalance supports atypical ductal hyperplasia lesions as direct breast cancer precursors. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland.* 2006;209(3):307-16.

51. Dabbs DJ, Carter G, Fudge M, Peng Y, Swalsky P, Finkelstein S. Molecular alterations in columnar cell lesions of the breast. *Modern pathology*. 2006;19(3):344-9.
52. Reis-Filho JS, Simpson PT, Gale T, Lakhani SR. The molecular genetics of breast cancer: the contribution of comparative genomic hybridization. *Pathology-Research and Practice*. 2005;201(11):713-25.
53. Go EML, Tsang JY, Ni Y-B, Alex MY, Mendoza P, Chan S-K, et al. Relationship between columnar cell changes and low-grade carcinoma in situ of the breast—a cytogenetic study. *Human pathology*. 2012;43(11):1924-31.
54. Stacher E, Boldt V, Leibl S, Halbwedl I, Popper HH, Ullmann R, et al. Chromosomal aberrations as detected by array comparative genomic hybridization in early low-grade intraepithelial neoplasias of the breast. *Histopathology*. 2011;59(3):549-55.
55. de Boer M, Verschuur-Maes AH, Buerger H, Moelans CB, Steenkamer M, Savola S, et al. Role of columnar cell lesions in breast carcinogenesis: analysis of chromosome 16 copy number changes by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Modern Pathology*. 2018;31(12):1816-33.
56. Aulmann S, Elsayaf Z, Penzel R, Schirmacher P, Sinn HP. Invasive tubular carcinoma of the breast frequently is clonally related to flat epithelial atypia and low-grade ductal carcinoma in situ. *The American journal of surgical pathology*. 2009;33(11):1646-53.
57. Sinn H-P, Elsayaf Z, Helmchen B, Aulmann S. Early breast cancer precursor lesions: lessons learned from molecular and clinical studies. *Breast care*. 2010;5(4):218-26.
58. Jovanovic J, Rønneberg JA, Tost J, Kristensen V. The epigenetics of breast cancer. *Molecular oncology*. 2010;4(3):242-54.
59. Mayer IA, Arteaga CL. The PI3K/AKT pathway as a target for cancer treatment. *Annual review of medicine*. 2016;67:11-28.
60. Brigham, Hospital Ws, 13 HMSCLPPJKR, 25 GdaBCoMCCJDLA, Ilya IfsBRSKRBBBBRETLJTVZWS. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2012;490(7418):61-70.
61. Liu P, Cheng H, Roberts TM, Zhao JJ. Targeting the phosphoinositide 3-kinase pathway in cancer. *Nature reviews Drug discovery*. 2009;8(8):627-44.
62. Stemke-Hale K, Gonzalez-Angulo AM, Lluch A, Neve RM, Kuo W-L, Davies M, et al. An integrative genomic and proteomic analysis of PIK3CA, PTEN, and AKT mutations in breast cancer. *Cancer research*. 2008;68(15):6084-91.
63. Lien EC, Dibble CC, Toker A. PI3K signaling in cancer: beyond AKT. *Current opinion in cell biology*. 2017;45:62-71.
64. Cantley LC. The role of phosphoinositide 3-kinase in human disease. *Harvey lectures*. 2004;100:103-22.

65. Manning BD, Toker A. AKT/PKB signaling: navigating the network. *Cell*. 2017;169(3):381-405.
66. James SR, Peter Downes C, Gigg R, Grove SJ, Holmes AB, Alessi DR. Specific binding of the Akt-1 protein kinase to phosphatidylinositol 3, 4, 5-trisphosphate without subsequent activation. *Biochemical Journal*. 1996;315(3):709-13.
67. Franke TF, Kaplan DR, Cantley LC, Toker A. Direct regulation of the Akt proto-oncogene product by phosphatidylinositol-3, 4-bisphosphate. *Science*. 1997;275(5300):665-8.
68. Waterfield M, Downward J. Phosphatidylinositol-3-OH kinase as a direct target of Ras. *Nature*. 1994;370:527-32.
69. Hawkins PT, Stephens LR. Emerging evidence of signalling roles for PI (3, 4) P 2 in class I and II PI3K-regulated pathways. *Biochemical Society Transactions*. 2016;44(1):307-14.
70. Alessi DR, Andjelkovic M, Caudwell B, Cron P, Morrice N, Cohen P, et al. Mechanism of activation of protein kinase B by insulin and IGF-1. *The EMBO journal*. 1996;15(23):6541-51.
71. Flynn P, Wong M, Zavar M, Dean NM, Stokoe D. Inhibition of PDK-1 activity causes a reduction in cell proliferation and survival. *Current Biology*. 2000;10(22):1439-42.
72. Calleja V, Alcor D, Laguerre M, Park J, Vojnovic B, Hemmings BA, et al. Intramolecular and intermolecular interactions of protein kinase B define its activation in vivo. *PLoS biology*. 2007;5(4):e95.
73. McManus EJ, Collins BJ, Ashby PR, Prescott AR, Murray-Tait V, Armit LJ, et al. The in vivo role of PtdIns (3, 4, 5) P3 binding to PDK1 PH domain defined by knockin mutation. *The EMBO journal*. 2004;23(10):2071-82.
74. Fedele CG, Ooms LM, Ho M, Vieusseux J, O'Toole SA, Millar EK, et al. Inositol polyphosphate 4-phosphatase II regulates PI3K/Akt signaling and is lost in human basal-like breast cancers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010;107(51):22231-6.
75. Bertucci MC, Mitchell CA. Phosphoinositide 3-kinase and INPP4B in human breast cancer. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2013;1280(1):1-5.
76. Park J, Leong ML, Buse P, Maiyar AC, Firestone GL, Hemmings BA. Serum and glucocorticoid-inducible kinase (SGK) is a target of the PI 3-kinase-stimulated signaling pathway. *The EMBO journal*. 1999;18(11):3024-33.
77. Tessier M, Woodgett JR. Role of the Phox homology domain and phosphorylation in activation of serum and glucocorticoid-regulated kinase-3. *Journal of Biological Chemistry*. 2006;281(33):23978-89.

78. Bago R, Sommer E, Castel P, Crafter C, Bailey FP, Shpiro N, et al. The hVps34-SGK3 pathway alleviates sustained PI3K/Akt inhibition by stimulating mTORC1 and tumour growth. *The EMBO Journal*. 2016;35(17):1902-22.
79. Turashvili G, Hayes M, Gilks B, Watson P, Aparicio S. Are columnar cell lesions the earliest histologically detectable non-obligate precursor of breast cancer? *Virchows Archiv*. 2008;452:589-98.
80. Lopez-Knowles E, O'Toole SA, McNeil CM, Millar EKA, Qiu MR, Crea P, et al. PI3K pathway activation in breast cancer is associated with the basal-like phenotype and cancer-specific mortality. *International Journal of Cancer*. 2010;126(5):1121-31.
81. Martini M, De Santis MC, Braccini L, Gulluni F, Hirsch E. PI3K/AKT signaling pathway and cancer: an updated review. *Annals of medicine*. 2014;46(6):372-83.
82. Sakr RA, Weigelt B, Chandarlapaty S, Andrade VP, Guerini-Rocco E, Giri D, et al. PI3K Pathway Activation in High-Grade Ductal Carcinoma In Situ—Implications for Progression to Invasive Breast Carcinoma PI3K Pathway in DCIS. *Clinical Cancer Research*. 2014;20(9):2326-37.
83. Ang DC, Warrick AL, Shilling A, Beadling C, Corless CL, Troxell ML. Frequent phosphatidylinositol-3-kinase mutations in proliferative breast lesions. *Modern Pathology*. 2014;27(5):740-50.
84. Aleskandarany MA, Rakha EA, Ahmed MA, Powe DG, Ellis IO, Green AR. Clinicopathologic and molecular significance of phospho-Akt expression in early invasive breast cancer. *Breast cancer research and treatment*. 2011;127:407-16.
85. MAGKOU C, MYLONA E, THEOHARI I, GIANNOPOULOU I, PAPANIKOLAOU E, MARKAKI S, et al. An Immunohistochemical Evaluation of Phosphorylated Akt at Threonine 308 [pAkt(Thr308)] in Invasive Breast Cancer. *In Vivo*. 2007;21(6):967-72.
86. Al-Bazz YO, Underwood JC, Brown BL, Dobson PR. Prognostic significance of Akt, phospho-Akt and BAD expression in primary breast cancer. *European Journal of Cancer*. 2009;45(4):694-704.
87. Seow HF, Yip WK, Loh HW, Ithnin H, Por P, Rohaizak M. Immunohistochemical Detection of Phospho-Akt, Phospho-BAD, HER2 and Oestrogen Receptors  $\alpha$  and  $\beta$  in Malaysian Breast Cancer Patients. *Pathology & Oncology Research*. 2010;16:239-48.
88. Andjelkovic M, Alessi DR, Meier R, Fernandez A, Lamb NJ, Frech M, et al. Role of translocation in the activation and function of protein kinase B. *Journal of Biological Chemistry*. 1997;272(50):31515-24.
89. Shah A, Swain WA, Richardson D, Edwards J, Stewart DJ, Richardson CM, et al. Phospho-akt expression is associated with a favorable outcome in non-small cell lung cancer. *Clinical cancer research*. 2005;11(8):2930-6.

90. Hammerich KH, Frolov A, Li R, Ittmann M, Ayala GE. Cellular interactions of the phosphorylated form of AKT in prostate cancer. *Human Pathology*. 2017;63:98-109.
91. Li H, Zhu R, Wang L, Zhu T, Li Q, Chen Q, et al. PIK3CA mutations mostly begin to develop in ductal carcinoma of the breast. *Experimental and molecular pathology*. 2010;88(1):150-5.
92. Green AR. Clinicopathologic and Molecular Significance of phospho-Akt expression in Early Invasive Breast Cancer.
93. Ciriello G, Gatza Michael L, Beck Andrew H, Wilkerson Matthew D, Rhee Sunh K, Pastore A, et al. Comprehensive Molecular Portraits of Invasive Lobular Breast Cancer. *Cell*. 2015;163(2):506-19.
94. Jahn SW, Kashofer K, Thüringer A, Abete L, Winter E, Eidenhammer S, et al. Mutation profiling of usual ductal hyperplasia of the breast reveals activating mutations predominantly at different levels of the PI3K/AKT/mTOR pathway. *The American Journal of Pathology*. 2016;186(1):15-23.
95. Tan J, Ong CK, Lim WK, Ng CCY, Thike AA, Ng LM, et al. Genomic landscapes of breast fibroepithelial tumors. *Nature genetics*. 2015;47(11):1341-5.
96. Zinda MJ, Johnson MA, Paul JD, Horn C, Konicek BW, Lu ZH, et al. AKT-1, -2, and -3 are Expressed in Both Normal and Tumor Tissues of the Lung, Breast, Prostate, and Colon. *Clinical Cancer Research*. 2001;7(8):2475-9.
97. Maehama T, Dixon JE. The tumor suppressor, PTEN/MMAC1, dephosphorylates the lipid second messenger, phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate. *J Biol Chem*. 1998;273(22):13375-8.
98. Leslie NR, Downes CP. PTEN function: how normal cells control it and tumour cells lose it. *Biochem J*. 2004;382(Pt 1):1-11.
99. Bose S, Chandran S, Mirocha JM, Bose N. The Akt pathway in human breast cancer: a tissue-array-based analysis. *Modern pathology*. 2006;19(2):238-45.
100. Xia H-J, He B-L, Wang C-Y, Zhang H-L, Ge G-Z, Zhang Y-X, et al. PTEN/PIK3CA genes are frequently mutated in spontaneous and medroxyprogesterone acetate-accelerated 7, 12-dimethylbenz (a) anthracene-induced mammary tumours of tree shrews. *European journal of cancer*. 2014;50(18):3230-42.
101. Li J, Ho WY, Tsang JYS, Ni YB, Chan SK, Tse GM. Expression of biomarkers in the AKT pathway correlates with malignancy and recurrence in phyllodes tumours of the breast. *Histopathology*. 2019;74(4):567-77.
102. Qi L, Bart J, Tan LP, Platteel I, Sluis Tvd, Huitema S, et al. Expression of miR-21 and its targets (PTEN, PDCD4, TM1) in flat epithelial atypia of the breast in relation to ductal carcinoma in situ and invasive carcinoma. *BMC Cancer*. 2009;9(1):163.

103. Kofuji S, Kimura H, Nakanishi H, Nanjo H, Takasuga S, Liu H, et al. INPP4B Is a PtdIns(3,4,5)P3 Phosphatase That Can Act as a Tumor Suppressor. *Cancer Discov.* 2015;5(7):730-9.
104. Li Chew C, Lunardi A, Gulluni F, Ruan DT, Chen M, Salmena L, et al. In Vivo Role of INPP4B in Tumor and Metastasis Suppression through Regulation of PI3K-AKT Signaling at Endosomes. *Cancer Discov.* 2015;5(7):740-51.
105. Gewinner C, Wang ZC, Richardson A, Teruya-Feldstein J, Etemadmoghadam D, Bowtell D, et al. Evidence that inositol polyphosphate 4-phosphatase type II is a tumor suppressor that inhibits PI3K signaling. *Cancer Cell.* 2009;16(2):115-25.
106. Vo TT, Fruman DA. INPP4B Is a Tumor Suppressor in the Context of PTEN Deficiency. *Cancer Discov.* 2015;5(7):697-700.
107. Liu H, Paddock M, Wang H, Murphy C, Geck R, Navarro A, et al. The INPP4B Tumor Suppressor Modulates EGFR Trafficking and Promotes Triple Negative Breast Cancer. *Cancer Discovery.* 2020;10:CD-19.
108. Kobayashi T, Deak M, Morrice N, Cohen P. Characterization of the structure and regulation of two novel isoforms of serum- and glucocorticoid-induced protein kinase. *Biochem J.* 1999;344 Pt 1(Pt 1):189-97.
109. Tessier M, Woodgett JR. Serum and glucocorticoid-regulated protein kinases: variations on a theme. *J Cell Biochem.* 2006;98(6):1391-407.
110. Gasser JA, Inuzuka H, Lau AW, Wei W, Beroukhi R, Toker A. SGK3 mediates INPP4B-dependent PI3K signaling in breast cancer. *Molecular cell.* 2014;56(4):595-607.

## 8. EKLER

### EK 1. Hazırlanan Doku Mikrodizinleri





## EK 2. İmmunohistokimyasal Çalışmaların Skorlanmış Verileri

	Lezyon No	pAKT H-skoru	PTEN	INPP4B	pSGK3	Not
1	2	60	1	1	3	
2	2	10	1	1	2	
2	9	5	1	1	2	
2	11	0	1	1	1	
2	19	20		0	1	
3	2	5	1	1	0	
3	1	0	0	0	0	
3	8	0	2	1	0	
4	2	10	1	1	1	
4	16	10	2	1	2	intraduktal papilloma dahil
4	8	5	0	1	1	
4	10	5	1	1	1	
4	15	0	2	1	1	
5	2	10	1	1	3	
5	8	0	0	1	1	
5	13	0	3	1	2	
5	17	0	1	1	2	
5	20			0	0	
6	2	0	2	0	3	
6	8	0	2	0	1	
6	10	5	1	1	3	
6	20	10	1	0	0	
7	1	0	0	0	0	
7	10	0	0	1	2	
7	20	0	1*	0	0	
7	8	0	0	0	1	
7	10	5	1	1	3	
8	2	5	0	1	1	
8	8	0	0	1		
8	28	5	2	0	2	
8	20	0	2			
9	2	0	0	0	0	
9	8	0	0	1	1	
9	10	0	2	1	1	
9	14	0	3	1	1	
10	3	20	1	1	2	
10	8	0	1	1	2	
10	10	0	1	1	1	
11	3	10	0	0	2	
11	8	0	0	0	1	
11	30			0		
12	2	5	1	1	2	
12	8	0	1	1	2	
12	10	0	1	1	2	
12	31	0	2	1	1	
12	15	10		1	2	
13	2	0	2	0	1	
13	10	0	2	1	1	
13	8		2	0	1	

13	11	0	3	1	2	
13	25	10	2	1	2	
13	13	5	3	1	2	
14	21	0	0	0	1	çalışmadan çıkarıldı
14	2	5	0	0	1	
14	9	0	0	0	2	
15	2	0	1	0	2	
15	8	0		1	1	
15	11	0	2	1	2	
16	3	10	3	1	1	
16	11	10	0	1	0	
16	18	0	0	0	0	
17	1	5	1	1	1	
17	9	0	1	1	1	
17	10	20	1	1	2	
17	2			1	1	
18	14	5	1	1	1	
18	12			1	1	
19	2	5	2	1	1	
19	10	5	1	1	1	
20	2	100		1	0	
20	8	30		1	0	
20	9	0	1	1	1	
20	12	0	1	1	1	
20	13	10	2	1	1	
21	15	150	1	1	2	
21	32	0		1	1	
21	19	0		0	0	
22	13	10	2	1	1	
22	32	0	2	1	1	
22	18	0	2	1	1	
23	15	10	1	1	1	
24	15	10	1	1	0	
25	15			0		
25	32	0	2	1	1	
26	15	30	2	1	1	
27	15	5	2	1	1	
27	14			1	1	
27	13	0	1	1	1	
28	12	40	1	1	2	
28	32	40	2	1	1	
29	15	10	1	1	2	
29	32	15	1	1	2	
30	15	0	1	1	1	
31	15	0	2	1	1	
31	13	0	1	1	1	
31	32	0	2	1	1	
31	19		0	0	1	
32	15	0	1	1		
33	15	0	1	1	0	
33	13	0	2	1	1	
33	32	0	1	1	1	
34	15	0	1	1	1	
35	15	10	2	1	1	

36	4	0	0	0	0
36	10	0	1	1	0
36	13	0	1	1	1
37	4	270	1	0	2
37	8	20	2	1	2
38	10			1	2
38	4	40	1*	1	1
39	4	10	0	0	2
39	9	20	1	1	1
39	10	70	1	1	1
39	19			0	
39	11	0	0	1	1
39	14	0	1	1	1
39	15	0	1	1	1
39	13	5		1	2
40	4	50	1	0	0
41	4	20	1	1	0
41	10	0	2	0	1
41	11	0	0	1	1
42	4	0	0	0	0
43	10	5	1	1	1
43	4	30	1	0	2
44	4	10	0	1	0
44	10		0	1	1
44	11		1	1	1
44	19			0	0
45	4		0	1	1
46	4	60	3	1	3
47	4		0	0	0
48	9	100	0	0	0
48	4	10	1	0	1
48	10	20	1	1	1
48	11	10	1	1	2
48	14	5	1	1	1
49	15			0	1
49	11	0	0	1	1
49	4	10	1	1	0
50	4	30	0	0	1
50	1	20	0	0	0
50	8	10	1	0	0
51	4	60	2	1	2
52	4	20	1	0	1
53	4	120	2	0	0
54	4	10	2	1	1
54	10	0	1	1	1
55	10	20	2	1	3
55	19	30		0	
55	12	120	1	1	1
55	29	10	1	0	0
55	4	20	2	0	0
56	4	240	1	0	0
56	8	0	1	1	1
56	11	5	2	1	
56	19	0	2	0	0
57	4		0	0	

58	4	140	1	0	2
58	4	120	1	0	0
59	4	240	1	1	0
59	17	5	2	1	1
59	10	0	2	1	0
60	4			1	0
61	4	140	1	1	0
61	12		1	1	
62	4	120	0	0	0
62	13	40	3	1	0
63	1	0	2	0	0
64	1			0	0
65	1		0	0	0
65	8	0		0	0
65	11	0	1	1	0
65	19	0	1	0	1
66	1	0	0	0	0
66	8	0		0	0
66	10	0		1	0
67	1	0		0	1
67	8	0		1	1
68	1	5		0	1
68	8	5	0	1	1
68	10	5		1	2
68	15	0		1	1
69	1	5	0	1	1
69	8				1
69	19	0	2	0	0
69	14	5	1	1	2
70	1	10		0	0
71	1	10	2	0	1
72	1	5	2	1	1
72	1		1	0	1
72	8	0		0	1
72	10		2	0	2
72	11	5	2	0	2
73	1			0	1
73	2		0	0	0
73	9		1	1	1
73	11	0	1	1	2
73	19	60		0	1
74	1	20	0	0	1
74	8			0	0
74	9			1	
74	17			1	
74	12	5	1	1	1
74	11	0	1	1	1
74	19		3	0	0
75	10		0		
75	1	0		0	0
75	11	10	0	1	2
76	17	0	1		
76	10	0	1		
76	1	0	2	0	0
76	11	0	2	1	

76	13	5	2	1	1
76	15				1
77	1	0	0	0	0
77	9	0	1	1	0
77	10	0	1	1	1
78	1	5	0	0	0
78	11	0	1	0	2
78	10	0	1	1	2
78	8	0	1	1	1
78	9	0	2	0	
78	13	5	1	1	1
79	1	10	2	1	1
80	1	10	0	1	0
80	8	5	0	1	0
80	25	0	3	1	1
81	1	140	0	1	3
81	10	0		1	1
82	8	0	1	1	1
82	1	5	0	0	0
83	25	5	2	1	1
83	1	0	1	1	1
83	11	0	3	1	1
83	17	0	2	1	2
84	13	5	2	1	2
84	10	20	3	1	2
84	14	5	3	1	3
84	1	40	1	0	1
84	8	60	2	0	2
85	1	0	0	0	1
85	10	0	0	0	2
85	11	0		1	2
86	1	10	0	1	2
86	9	0	1	1	1
86	14	0		1	0
86	11	0	2	1	3
86	25	0	2	1	1
87	1	5	1	1	0
87	18	180	3	1	2
88	1	20	0	1	0
88	8	0	0		
88	11	0	1	1	2
89	1	10		1	0
89	8	10	0	1	0
90	1	180	1	1	0
90	12	5	1	1	1
90	10	0	1	1	1
90	11	10	1	1	1
90	29	5	1	1	1
90	28	10	2	1	2
91	1	5	0	1	1
91	8	0	1	1	1
91	10	0	2	1	2
91	18	10		1	
91	29	20		0	2
92	1	0	0	1	0

92	11	0	1	1	2
92	29	0	2	1	3
93	1	0	1	1	1
93	29	20	1	1	3
94	8	0	2	1	2
95	1	5	0	1	1
95	8	0	0	1	1
95	10	0	0	1	1
95	11	5	1	1	1
96	1	20	1	1	1
96	8	10	2	1	1
96	11	5	2	1	1
96	20	5	1		
97	1	0	1	1	0
97	9	0	1	1	0
97	11	5		1	2
97	19	0	2	0	0
98	5	0	0	0	0
98	12	10	1	1	1
98	20	0	3	0	0
99	5	0	0	0	0
99	9	0	1	0	3
100	5	0	1	0	0
101	5	5		0	0
101	9	0	3	1	2
101	11	0	3	1	1
102	5	5	0	0	1
103	5	0	2	0	0
103	8	10	1	0	1
103	11	5	2	1	1
104	5	20	1	0	0
105	5	0	1	0	0
106	5	60	0	0	2
107	5		1	0	
107	8	5	1	0	1
108	5	5	2	0	1
109	5	10	0	0	0
110	5	5	2	0	1
111	5	20	3	0	0
111	8	5	3	1	0
111	9	0	3	1	1
111	19	0	2	0	0
111	11	10	2		1
112	5	20	1	0	0
112	10	0	2	1	0
112	11	0	2	1	1
112	19	0	2	0	0
112	15	0	2	1	0
113	5	0		0	0
114	5	0	3	0	0
114	11	0	2	1	2
114	19	0	3	0	0
115	5	0	3	0	0
116	5		0		
116	8		0	0	1

117	5	0	0	0	0
117	9	0	2	1	2
117	10	0	2	1	1
117	14	0	2	1	1
118	6	5	1	0	0
118	11		2	1	3
119	6	10	1	1	0
119	8	0	2	1	1
119	11	0	1	1	1
119	19	0	2	0	0
120	6	5	2	1	0
121	6		2	1	1
121	9	0	3	1	1
121	11	0	3	1	1
122	1	5	1	1	2
122	3	5	1	1	1
122	6	5	2	1	0
122	11	0	3	1	1
122	13	0	2	1	2
123	1	5	1	1	1
123	6	0	2	0	1
124	6		0	1	0
125	6	0			
126	6	0	1	1	1
127	6	0	3	1	1
128	6	0	2	1	1
128	8	0	2	1	1
129	7	0	2	1	0
129	8	0	2	1	1
129	10		1	1	2
130	7	0	2	1	1
130	8	0	2	1	2
130	11	210			3
131	7	5	2	0	0
131	9	0		0	1
132	7	0		0	1
133	7	0	3	1	1
133	9	0		1	2
133	15	0		1	3
134	7	0	0	1	1
134	1	0	1	1	1
135	7	0	2	1	1
136	7	0	1	0	1
137	7	0	2	0	0
138	7	5	3	1	0
139	14	5	1	1	1
139	25	0	2	1	2
140	25	5	2	1	1
140	19	0	1	0	1
140	32	0	0	1	2
141	25			1	1
141	32	0	1	1	1
142	27	10	2	1	1
143	25	60	1	1	1
144	25	0	1	1	1

144	22			0	0	
145	25	40	3	1	2	
145	27	0	3	0	1	
146	26	0	1	1	1	
147	26	0	3	1	1	
148	26	15	1	1	1	
149	25	0	3	1	2	
150	26	20	3	1	2	
151	27	0	3	1	2	
152	27	10	2	1	1	
153	25	0	3	1	1	
154	22	0	3	1	2	
155	22	10	2	1	2	
156	24	0	1	1	0	çalışmadan çıkarıldı
157	24	0	1	1	1	çalışmadan çıkarıldı
158	23	0	2	1	1	
159	22	0	2	0	1	
160	22	0	3	1	1	
161	22	0	3	0	1	
162	23	0	2	1	1	
163	22				1	
164	22	0	2	1	2	
165	22	0	3	1	1	
166	24	0	1	0	0	çalışmadan çıkarıldı
167	23	10		1	1	
168	29	30	1	0	2	
168	28	0	2	1	1	
169	29		1	0	3	
169	28		2	1	1	
170	29		1			
170	28	5	2	1	1	
171	28		2			
171	29	0	2	1	2	
172	28		2	1	1	
173	29		2	0	1	
173	28	5	3	1	2	
174	28	5	2	1	1	
175	29		3	0	2	
175	28	0		1	2	
176	29	10	1	0	2	
176	28	20	2	1	2	
177	29	10	2	0	3	
177	28	0	2	1	1	
178	32	0	3	1	2	
178	12	10	2	1	1	
179	32		2			
179	12	0	3	1	2	
180	32		3		2	
180	12	0		1	2	
181	12		1			
181	32	0	2	1	2	
182	32	0	1	1	1	



<b>182</b>	12		2	1	2
<b>183</b>	32	10	3	1	3
<b>183</b>	12	0	3	1	2
<b>184</b>	32	0	3	1	2
<b>184</b>	12	0	2	1	3
<b>185</b>	32		2		2
<b>185</b>	12		3	1	
<b>186</b>	32	10	2	1	2
<b>186</b>	12	0	2	1	2
<b>187</b>	32	0	2	1	1
<b>188</b>	12	0	3	0	1

**EK 3. İmmünohistokimyasal Çalışmaların Sonuç Verilerinde Numaralandırılmış Lezyonların Karşılıkları**

<b>Lezyon No</b>	<b>Lezyon Adı</b>
1	invaziv duktal karsinom
2	invaziv tübüler karsinom
3	invaziv kribriform karsinom
4	invaziv lobüler karsinom
5	metaplastik karsinom
6	intraduktal papiller karsinom
7	enkapsüle papiller karsinom
8	duktal karsinoma in situ
9	atipik duktal hiperplazi
10	atipili kolumnar lezyon – tümöre yakın
11	atipili kolumnar lezyon – tümöre uzak
12	atipisiz kolumnar lezyon
13	radyal skar
14	sklerozan adenozis
15	intraduktal papillom
16	atipik papillom
17	duktal epitel hiperplazi – şiddetli
18	duktal epitel hiperplazi – hafif şiddetli
19	kompleks apokrin metaplazi
20	apokrin metaplazi
21	atipik apokrin metaplazi (çalışmadan çıkarıldı)
22	benign filloides tümörü
23	borderline filloides tümörü
24	malign filloides tümörü (çalışmadan çıkarıldı)
25	fibroadenom
26	kompleks fibroadenom
27	juvenil fibroadenom
28	normal meme
29	fibrokistik değişiklik
30	fibroadenomatoid değişiklik
31	invaziv mikropapiller karsinom
32	atipili kolumnar lezyon -tümör içermeyen