



T.C.

BEZMİÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ

İç Hastalıkları Anabilim Dalı

**NEOADJUVAN KEMOTERAPİ ALAN MEME KANSERLİ HASTALARDA  
SERUM M30 VE M65 DÜZEYLERİNİN KLİNİK VE PATOLOJİK  
PROGNOSTİK PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ VE PREDİKTİF DEĞERİ**

Uzmanlık Tezi

Dr. Rabia Sevda YILDIZ

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Hacı Mehmet TÜRK

İSTANBUL-2017

T.C.  
BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ  
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

**NEOADJUVAN KEMOTERAPİ ALAN MEME KANSERLİ HASTALARDA  
SERUM M30 VE M65 DÜZEYLERİNİN KLİNİK VE PATOLOJİK  
PROGNOSTİK PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ VE PREDİKTİF DEĞERİ**

Uzmanlık Tezi  
Dr. Rabia Sevda YILDIZ

Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Hacı Mehmet TÜRK

İSTANBUL-2017

Bu araştırma Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Birimi Tarafından Desteklenmiştir.

## TEZ ONAY FORMU

**Kurum :** Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi

**Programın seviyesi :** Yüksek Lisans ( ) Doktora ( )

**Anabilim Dalı :** İç Hastalıkları Anabilim Dalı

**Tez Sahibi :** Dr. Rabia Sevda YILDIZ

**Tez Başlığı :** Neoadjuvan Kemoterapi Alan Meme Kanserli Hastalarda Serum M30 ve M65 Düzeylerinin Klinik ve Patolojik Prognostik Parametrelerle İlişkisi ve Prediktif Değeri

**Jüri Bşk. (Danışman) Prof Dr. Hacı Mehmet TÜRK**  
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Üye ..... ..

Üye ..... ..

Bu tez, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıda belirtilen jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun ...../...../..... tarih ve ...../..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

## **BEYAN**

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Dr. Rabia Sevda YILDIZ

İSTANBUL-2017

## İTHAF



Minik meleğim İpek Yasemin'e.....

## TEŞEKKÜR

Öncelikle bu zamana kadar olan eğitim sürecimde emeği geçen tüm hocalarıma, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, tezimin hazırlanmasının her aşamasında bana büyük yardımları olan değerli hocam ve Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Hacı Mehmet Türk'e şükranlarımı sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca çalışma disiplini ve azmiyle bana her zaman örnek olan Rektör hocam Prof. Dr. Rümeyza Kazancıoğlu'na, yoğun çalışma temposu arasında güler yüzlülüğünü eksik etmeyen Prof. Dr. Mahmut Gümüş'e, Doç. Dr. Güven Çetin, Prof. Dr. Ertuğrul Taşan ve Doç. Dr. Özcan Karaman'a teşekkür ederim.

Her türlü problemimizin çözümüne samimiyetle yaklaşan ve değerli bilgileriyle eğitimimize katkıda bulunan Doç. Dr. Mesut Şeker ile Uzm. Dr. Ömer Celal Elçioğlu'na ve tezimde desteğini esirgemeyen Dr. Ezgi Çoban ve Doç. Dr. Cumali Karatoprak'a teşekkürü bir borç bilirim.

Tezimde bana yardımcı olan Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Abdurrahim Koçyiğit'e, Arş. Gr. Huri Bulut, Arş. Gr. Ersin Karataş, Hemşire Gizem Yüce İpek ve Hemşire Aysun Altın'a ayrıca tezimin istatistiğinde destek olan Yrd. Doç. Dr. Ömer Uysal'a teşekkür ederim.

Benim için çalışma arkadaşından öte dostum, kardeşim olan sevgili eş kıdemlim Dr. Şebnem Burhan başta olmak üzere beraber çalışmaktan keyif aldığım Dr. Nang Hseng Kyio, Dr. Nigar Gültekin, Dr. Shute Alie Dae, Dr. Elif Ece Doğan, Dr. Havva Nur Doğan, Dr. Migena Gjoni ve bana her zaman destek olan Uzm. Dr. Tuba Özkan, Uzm. Dr. Ayşe İrem Yasin, Uzm. Dr. Seda Turgut ve Uzm. Dr. Rabia Bağ Soytaş'a teşekkür ederim.

Beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda çalışan değerli sekreterlerimizden başta Ümmü Koca olmak üzere tüm hemşire, sekreter ve personeli ile rotasyonlarımdaki çalışma ekiplerine teşekkür ederim.

Bana her zaman destek olan sevgili eşim Dr. Mesut Yıldız'a ve bugünlere ulaşmamda büyük katkısı olan kıymetli aileme ayrıca çok teşekkür ederim.

Dr. Rabia Sevda YILDIZ

## ÖZET

### NEOADJUVAN KEMOTERAPİ ALAN MEME KANSERLİ HASTALARDA SERUM M30 VE M65 DÜZEYLERİNİN KLİNİK VE PATOLOJİK PROGNOSTİK PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ VE PREDİKTİF DEĞERİ

**Giriş-Amaç:** Lokal ileri meme kanseri olan hastalarda verilecek neoadjuvan kemoterapiye cevabın predikte edilebilmesi önemlidir. Hücre iskeleti elemanlarından olan sitokeratin 18'in apoptoz belirteci M30, hem apoptoz hem nekroz belirteci M65 düzeyleri epitelial kanseri olan hastaların takibinde tümör hücre aktivitesini yansıtırlar. Çalışmamızdaki amaç meme kanserinin neoadjuvan tedavisinde M30, M65 ve M65-30 (Nekroz) düzeylerinin prognostik kriterlerle ilişkisi ve prediktif değerinin araştırılmasıdır.

**Materyal – Metod:** Prospektif olarak yapılan bu çalışmaya neoadjuvan kemoterapi alacak olan meme kanserli yaş ortalaması 46.2 (28-67) olan 41 hasta alındı. Hastalar ilk 4 kür antrasiklin içeren kemoterapi (FEC, AC ya da EC) ardından 12 hafta paklitaksel tedavisi aldı. Tedavi başlamadan (0), 2, 4, ve 8. kürlerden 21 gün sonra kan alınarak ELISA yöntemiyle M30 ve M65 düzeyleri ölçüldü.

**Bulgular:** M30 ve M65 düzeylerindeki artış kürler arasında anlamlı saptanmışken ( $p < 0.05$ ), M65-30'un dağılımında anlamlı ilişki tespit edilememiştir. M30 ve M65 düzeylerinde 4. küre kadar anlamlı bir artış varken, 8. kürde azalma görülmüştür. Ayrıca M30, M65 ve M65-30 ile ER, PR, c-Erb-2, Ki-67, patolojik-T, patolojik-N ve kemoterapi cevabı karşılaştırılmış sadece M65 ile patolojik-N arasında anlamlı bir ilişki ( $p = 0.04$ ) bulunmasına rağmen diğerlerinde anlamlı bir ilişki gözlemlenmemiştir.

**Sonuç:** Çalışmamızda M30 ve M65 düzeyleri 4. kür sonrasına kadar antrasiklin içeren kemoterapi aldıkları sürece anlamlı olarak artış göstermişken paklitaksel kemoterapisi uygulandıktan 8. Kür sonrası düzeylerinin azaldığı gözlenmiştir. ER, PR, c-Erb-2, Ki-67, patolojik-T, patolojik-N gibi prognostik kriterlerle ilişkisi ve tedaviye yanıt ile ilişkisi tespit edilememiştir. M30 ve M65'in prediktif ve prognostik öneminin değerlendirilmesi için daha geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar Sözcükler:** Meme kanseri, M30, M65, neoadjuvan kemoterapi

## **ABSTRACT**

### **RELATIONSHIP OF SERUM M30 AND M65 LEVELS WITH CLINICAL AND PATOLOGICAL PROGNOSTIC PARAMETERS AND PREDICTIVE VALUE IN NEOADJUVAN CHEMOTHERAPY OF BREAST CANCER PATIENTS**

**Introduction-Purpose:** It is important that the neoadjuvant chemotherapy response of locally advanced breast cancer patients can be predicted. Apoptotic marker M30 and apoptotic and necrosis marker M65 levels, which are cytoskeletal elements of cytokeratin 18, reflect tumor cell activity by epithelial cancer patients. The aim of our study is to investigate the relation and prognostic value of M30, M65 and M65-30 (Necrosis) levels with prognostic criteria in neoadjuvant treatment of breast cancer.

**Materials and Methods:** Forty-one patients with a mean age of 46.2 (28-67) with breast cancer who underwent neoadjuvant chemotherapy were included in this prospective study. Patients received paclitaxel treatment for 12 weeks following chemotherapy with the first 4 cycles of anthracycline (FEC, AC or EC). Blood samples were collected before treatment (0) and 21 days after the 2nd, 4th, and 8th cycles. M30 and M65 levels were measured by ELISA.

**Findings:** The increase in M30 and M65 levels were significant between cycles ( $p < 0.05$ ), but no significant correlation was found in the distribution of M65-30. There was a significant increase in M30 and M65 in the first four cycles, and a decrease in the 8th cycle was observed. M30, M65 and M65-30 levels were compared with ER, PR, c-Erb-2, Ki-67, pathologic-T, pathologic-N and chemotherapy responses and only significant correlation ( $P = 0.04$ ) was found between M65 and pathologic-N.

**Conclusion:** In our study, M30 and M65 levels were significantly increased in the first four cycles, when patients received anthracycline-containing chemotherapy and significantly decreased after paclitaxel chemotherapy, so after the 8th cycle. There was no relationship between ER, PR, c-Erb-2, Ki-67, pathologic-T, pathologic-N and treatment response. More extensive studies are needed to assess the predictive and prognostic value of M30 and M65.

**Key words:** Breast cancer, M30, M65, neoadjuvant chemotherapy



# İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY FORMU .....	I
BEYAN .....	II
İTHAF .....	III
TEŞEKKÜR .....	IV
ÖZET .....	V
ABSTRACT .....	VI
İÇİNDEKİLER .....	VII
TABLO VE GRAFİK LİSTESİ .....	IX
KISALTMA LİSTESİ .....	X
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. MEME KANSERİ .....	3
2.1.1. Epidemiyoloji .....	3
2.1.2. Etyoloji ve Risk Faktörleri .....	3
2.1.3. Klinik Belirti ve Bulguları .....	6
2.1.4. Histopatolojik sınıflama .....	6
2.1.5. Meme Kanserinin TNM Sınıflaması ve Evrelendirilmesi .....	7
2.1.6. Prognostik Faktörler .....	12
2.1.7. Tanı .....	13
2.1.8. Tedavi .....	14
2.1.9. Meme Kanserinde Neoadjuvan Kemoterapi .....	15
2.2. SİTOKERATİN 18 BELİRTECİ M30 VE M65 .....	16
2.2.1. Hücre Ölümü .....	16
2.2.2. Nekroz .....	16
2.2.3. Apoptozis .....	16
2.2.4. Sitokeratin 18 Belirteci M30-M65 .....	19
3. ARAÇ-GEREÇ VE YÖNTEMLER .....	22
3.1. Araştırmanın Tanımı ve Hastaların Seçimi .....	22
3.2. M30-M65 Düzeylerinin Ölçümü .....	23

3.2.1. Kan Analizi .....	23
3.2.2. Araç ve Gereçler .....	24
3.2.3. Ölçüm Yöntemi.....	24
3.2.3.1. Test Protokolü: .....	24
3.2.3.2. Hesaplama.....	25
3.3. İstatistiksel Analizler.....	25
4. BULGULAR .....	26
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR .....	33
6. KAYNAKLAR .....	38

## TABLO VE GRAFİK LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b> Meme kanserinde TNM sınıflaması, primer tümör (T) evrelemesi .....	8
<b>Tablo 2.</b> Meme kanserinde TNM sınıflaması, bölgesel lenf nodu (N) evrelemesi .....	9
<b>Tablo 3.</b> Meme kanserinde TNM sınıflaması, patolojik lenf nodu (pN) evrelemesi .....	10
<b>Tablo 4.</b> Meme kanserinde TNM sınıflaması, uzak metastaz (M) evrelemesi .....	11
<b>Tablo 5.</b> Meme kanserinde evreleme sistemi .....	12
<b>Tablo 6.</b> Apoptozis ve Nekroz .....	17
<b>Tablo 7.</b> RECIST 1.1 kriterlerine göre radyolojik değerlendirme .....	23
<b>Tablo 8.</b> Hasta karakteristikleri .....	26
<b>Tablo 9.</b> M30, M65 ve M65-30 (Nekroz) sonuçlarının küller arasındaki dağılımı.....	27
<b>Grafik 1.</b> M30(a), M65(b) ve M65-30(c) düzeylerinin küllerdeki dağılımı .....	28
<b>Tablo 10.</b> M30 sonuçları.....	30
<b>Tablo 11.</b> M65 sonuçları.....	31
<b>Tablo 12.</b> M65-30 sonuçları .....	32

## KISALTMA LİSTESİ

<b>ABD</b>	: Amerika Birleşik Devletleri
<b>AC</b>	: Doksorubisin+Siklofosfamid
<b>AFP</b>	: Alfa Feto Protein
<b>Apaf 1</b>	: Apoptozis Proteaz Aktive Edici Faktör 1
<b>AJCC</b>	: America Joint Committee on Cancer
<b>ATP</b>	: Adenozin-3 Fosfat
<b>BEP</b>	:Bleomisin+Etoposid+Sisplatin
<b>B-HCG</b>	: Human Chorionic Gonadotropin
<b>BMI</b>	: Vücut Kitle İndeksi
<b>BRCA</b>	: Breast Cancer Susceptibility Gene
<b>BT</b>	: Bilgisayarlı Tomografi
<b>CK</b>	: Sitokeratin
<b>DCIS</b>	: Duktal Carcinoma İn situ
<b>DNA</b>	: Deoksiribo Nükleik Asit
<b>EC</b>	: Epirubisin+Siklofosfamid
<b>EGF</b>	: Epidermal Growth Factor
<b>ELISA</b>	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
<b>ER</b>	: Östrojen Reseptörü
<b>FEC</b>	: Fluorourasil+Epirubisin+Siklofosfamid

<b>HER</b>	: Human Epidermal Growth Factor
<b>KT</b>	: Kemoterapi
<b>LCIS</b>	:Lobüler Carcinoma İnsitu
<b>LDH</b>	: Laktat Dehidrogenaz
<b>MKC</b>	: Meme Koruyucu Cerrahi
<b>MR</b>	: Manyetik Rezonans
<b>NKT</b>	: Neoadjuvan kemoterapi
<b>OK</b>	: Oral Kontraseptif
<b>PET</b>	: Pozitron Emisyon Tomografisi
<b>PR</b>	: Progesteron Reseptörü
<b>RECIST</b>	: Response Evaluation Criteria in Solid Tumors
<b>USG</b>	: Ultrasonografi

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri her yıl yaklaşık 230.000'in üzerinde yeni vaka ve ABD'de 40.000'den daha fazla hastanın ölmesine sebep olan kadınlar arasındaki en yaygın kanserdir [1]. Meme kanserinde multidisipliner bir tedavi yaklaşımı gerekmektedir. Hastanın klinik evresi, tümörün histopatolojik özellikleri, prognostik ve prediktif faktörlere bağlı olarak lokal veya sistemik tedaviye karar verilir [2].

Neoadjuvan kemoterapi, tümörün boyutunu ve ameliyat öncesi evreyi azaltarak cerrahi tedavi sonuçlarını iyileştirip lokal ileri meme kanseri olan hastalarda tercih edilen tedavi seçeneği olmuştur [3]. Çeşitli rejimler neoadjuvan kemoterapide kullanılmaktadır. Neoadjuvan kemoterapi olarak antrasiklin içeren kemoterapiler ve sonrasında taksan içeren altı veya sekiz kür tedaviden oluşur [3]. Meme kanserinde neoadjuvan kemoterapiye yanıt sağkalım için en önemli prediktif faktör olarak bulunmuş olmasına rağmen hangi hastanın neoadjuvan kemoterapiye cevap vereceği kesin olarak bilinmemektedir [4].

Kemoterapi tümör hücreleri üzerine apoptoz, nekroz, otofaji, mitotik katastrofi ve yaşlanma gibi farklı mekanizmalarla etki etmektedir [5]. Hücre sel sonuç kullanılan ilacın türüne, tümör özelliklerine ve mikroçevresine, tümör hücrelerine ulaşacak ilacın konsantrasyonu gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Apoptoz birçok anti kanser ilaçla tedavinin hücre sel sonucudur ve apoptotik mekanizmalardaki bozuklukların tedavide dirence neden olduğu düşünülmektedir [6]. Ayrıca antineoplastik ilaçların klinik kullanımı sırasında doz bağımlı olarak kemik iliği depresyonu, gastrointestinal, kardiyak ve nöronal yan etki gibi toksisiteler gelişebilir. Bu nedenle tedaviye cevap vermeyen hastaların tedavinin erken safhasında saptanması kemoterapi toksisitesinden hastayı koruyacaktır [3].

Apoptoz sırasında hücrelerde meydana gelen yapısal değişikliklere, hücre içi substratı parçalayan kaspaz ailesinin proteazları aracılık eder. Bu substratlardan biri olan sitokeratin 18 (CK 18), basit epitel hücrelerinin ara filamanlarının önemli bir bileşenidir [4]. Apoptoz sırasında kaspazlar tarafından CK-18 proteolitik komponentlerine bölünür [7]. CK-18'in kaspazla parçalanmış neoepitopunu tanıyan M30 bir monoklonal antikordur. M65 monoklonal antikoru ise

hem apoptotik hem de nekrotik hücre ölümü sırasında salınan tüm CK-18 fragmanlarını gösterir [7]. Literatürde neoadjuvan meme kanserinde M30 ve M65 düzeylerini değerlendiren sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

Araştırmamızda amaç neoadjuvan kemoterapi alan meme kanserli hastalarda hücre ölümünün göstergesi olarak değerlendirilen M30, M65 ve M65-30 (Nekroz)'ın tedaviye yanıtla ilişkisi ve meme kanserinde bilinen prognostic parametrelerle olan ilişkisini araştırmaktır.



## **2.GENEL BİLGİLER**

### **2.1. MEME KANSERİ**

#### **2.1.1. Epidemiyoloji**

Meme kanseri kadınlar arasında en sık görülen kanserdir ve önemli bir halk sağlığı problemidir. Dünya genelindeki meme kanseri vakalarının yaklaşık yarısı ve kansere bağlı ölümlerin %60'ı gelişmekte olan ülkelerde gözlemlenmiştir [8]. Dünyada her sekiz kadından birinde meme kanseri tanısı konulmaktadır. Meme kanseri kansere bağlı ölümlerin en sık nedeni olan akciğer kanserinden sonraki ikinci sık sebebidir [8, 9].

Son 20 yıl içerisinde meme kanserine bağlı ölüm oranlarında azalma görülmektedir. ABD'de 2005-2009 yılları arasındaki ölüm oranlarında; 50 yaşından küçüklerde yıllık %3, 50 yaş ve üzerindeki hastalarda yıllık %2 azalma gözlemlenmiştir. Bu duruma, erken tanı ve etkin tedavideki gelişmeler ve östrojen-progesteron içeren postmenopozal hormon replasman tedavisinin kullanımındaki azalma etkili olmuştur [8, 10].

#### **2.1.2. Etyoloji ve Risk Faktörleri**

Meme kanserine yakalanan kadınların % 70-80'inde belirlenebilen bir risk faktörü yoktur. Ancak genetik, çevresel, hormonal, sosyobiyojik ve psikolojik etkenlerin meme kanseri oluşumunda rol aldığı düşünülmektedir. Bu etyolojik etkenler birkaç temel başlık altında sınıflandırılır.

##### **Yaş ve Genetik**

Yaş bağımsız en önemli risk faktörüdür. İnsidans eğrisi menopoza kadar her on yılda bir, iki katı artarak yükselir, 50 yaşında plato yapar ve daha sonra yine dik bir şekilde yükselir. Bu yaşla ilgili insidans eğrisinin şekli önemli ölçüde over aktivitesinden etkilenmektedir [11]. Aile öyküsü ile meme kanseri riski arasındaki ilişki birçok çalışmada araştırılmıştır. Birinci derece akrabasında (anne, kız kardeşler ve kızlar) meme kanseri olanlarda risk 2-3 kat artmıştır. Ayrıca birinci derece akrabalarında premenapozal kanseri olanlarda ya da bilateral meme kanseri tespit edilenlerde risk çok daha fazladır [12].



Genetik faktörler meme kanserlerinin yaklaşık %5-10'undan sorumludur. 30 yaşından genç kadınlarda %25 oranında bu faktörler etkindir [12]. Genetik yatkınlığa neden olduğu düşünülen genler BRCA1 ve BRCA2 (Breast cancer susceptibility gene-meme kanserine yatkınlık geni) genleridir. BRCA1, 17. kromozomun uzun bacağı üzerinde bulunan otozomal dominant bir gendir. Bu genin mutasyonları ailevi meme kanseri ve over kanserinde rol oynamaktadır [13, 14]. BRCA2 ise 13. kromozomun üzerinde bulunmaktadır. Ailevi olgularda bilateral kanser veya hastalığın erken ortaya çıkmasında rol oynadığı düşünülmektedir [15]. Bunların dışında bazı herediter sendromlarda (herediter meme over kanseri sendromu, bölgeye spesifik herediter meme kanseri, Li-Fraumeni sendromu ve Cowden sendromu) meme kanseri görülme sıklığının arttığı bilinmektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda meme kanserinin siyah ırkta beyaz ırka göre daha kötü seyirli olduğu tespit edilmiştir [16, 17].

### **Hormonlar ve Reprodüktif Nedenler**

Meme kanserinin riski bir kadının hayat boyu geçirdiği toplam ovuluar menstruel siklusların sayısı ile ilişkilidir. Risk menarş yaşı ile ters orantılı olup, menopoza girme yaşının geç olmasıyla artış göstermektedir. Erken menarş meme hücre proliferasyonunu daha erkene çeker bu yüzden hücreler diferansiye değilken östrojene ve diğer karsinojenlere maruz kalmaya başlar. Menarşda her bir yıllık gecikme başına premenopozal meme kanseri riskinde % 9, postmenopoz meme kanseri riskinde ise % 4 oranında azalma sağlanır [18].

Her gebelik sonrasında riskin geçici olarak arttığını gösteren çalışmalar da vardır. Bu çalışmalara göre multiparite; artmış hormonal dönem nedeniyle kısa vadeli riskli dönemlerin ardından, meme gelişiminin bu dönemde tamamlanması nedeniyle uzun vadede koruyucudur. Erken yaşta doğum, riski belirgin olarak düşürür. Nulliparit durumda risk artar [19].

Meme kanseri ve laktasyon arasındaki zıt ilişki çeşitli mekanizmalarla açıklanmaktadır. Bunlardan biri laktasyon sırasında prolaktinin etkisiyle hipofizer-ovaryan aksın baskılanması sonucu seks hormonlarına maruziyetin azalmasıdır. Östrojen ve progesteronun meme hücrelerinde mitozu artırdığı bilinmektedir. Bir başka hipotez ise laktasyonun meme hücrelerinde diferansiasyonu sağlaması sonucu karsinojenlere karşı direncin artmasını ileri sürmektedir. Herhangi bir zamanda ve sürede emziren kadınlarla hiç emzirmeyen kadınlar karşılaştırıldığında meme kanseri riski oldukça düşmektedir [19].

Sentetik ve doğal östrojenler kontrasepsiyon veya postmenopoz değişikliklerin önlenmesi amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Östrojen ve progesteron içeren oral kontraseptifler (OK) ile meme kanseri riski arasındaki ilişkiyi araştıran çok sayıda çalışma olup, bu çalışmalardan çıkarabilecek tek kesin sonuç OK'lerin meme kanserine karşı koruyucu olmadığıdır. Geniş çaplı yapılan epidemiyolojik çalışmanın sonucunda, OK kullanım süresiyle risk artışı arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır [20]. Bununla birlikte premenopoz ve uzun süreli OK kullanmış kadınlarda rölatif risk, bir metaanalizde 1.5, diğerinde ise 1.4 olarak tespit edilmiştir. 45 yaş altındaki genç kadınlarda uzun süreli OK kullanımının etkisini araştıran yedi çalışmanın tümünde meme kanseri riskinde anlamlı bir artış gözlemlenmiş olup her OK kullanılan yıl için meme kanseri riskinin % 3,1 arttığı hesaplanmıştır [21].

Meme kanserinin over aktivitesiyle ilişkili olması östrojenin hastalık patogenezinde önemli rol oynadığını göstermektedir. Hayvanlardaki deneysel çalışmalarda dışarıdan verilen östrojenin ve özellikle östradiolün meme kanseri oluşumunu artırdığı, overlerin çıkartılmasının veya dışarıdan antiöstrojen verilmesinin ise kanser oluşumunu azalttığı gösterilmiştir [22]. Bir çalışmada oofektomi yapılan kadınlar arasında meme kanseri gelişme oranı araştırılmış ve oofektomi yapılan kadınlarda meme kanseri riski beklenenin çok altında seyretmiştir [19, 23].

### **Yaşam Şekli ve Çevresel Faktörler**

Bazı çalışmalar yağ içeriği yüksek yiyeceklerin uzun süreli tüketiminin serum östrojen düzeylerini yükselterek meme kanseri riskinin artışına sebep olduğunu göstermiştir. Ama bu konuyla ilgili çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Bazı çalışmalarda haftada 5 kez kırmızı et yenilmesi ile meme kanseri riskinde artış olduğu gösterilmiştir [24, 25]. Vitamin A ile ilgili sonuçlar tartışmalıdır. Bazı çalışmalarda düşük selenyum düzeyinin meme kanseri oluşma riskini artırdığının gösterilmesine rağmen, yüksek selenyum düzeylerinin koruyucu bir etkisinin olduğu kanıtlanamamıştır [26]. Vitamin E, C veya beta-karoten gibi antioksidan kullanımının meme kanseri riskine etki ettiğini gösteren kanıtlar tespit edilememiştir [27]. Fiziksel aktivitenin sedanter yaşam tarzına oranla meme kanseri riskini % 20–30 oranında azalttığı düşünülmektedir. Haftada 3 kez yapılan düzenli egzersizle yağ dokusu, dolayısıyla endojen östrojen üretimi azalmaktadır [28].

Sigara içenlerde serumda ve idrarda östrojenlerin azalması ve menopoz yaşını düşürmesi nedeniyle meme kanserine karşı koruyucu bir etkisi olabileceği düşünülmüştür. Yapılan geniş

olgu-kontrol ve prospektif çalışmalarda, sigara içimi ile meme kanseri riski arasında hiçbir ilişki gösterilememiştir [29]. Çalışmalar alkol tüketim miktar ve süresindeki artışın meme kanseri riskini artırdığını göstermiştir. Alkol tüketiminin serum östradiol seviyesini yükselttiği bilinmektedir [30]. Yakın zamanda yapılan bir toplum bazlı çalışmada, artmış alkol tüketiminin östrojen reseptör pozitif meme kanseri gelişiminde etkili olduğu gösterilmiştir [31]. Radyasyona maruz kalmak da meme kanseri riskini artırmaktadır.

### **2.1.3. Klinik Belirti ve Bulguları**

Meme kanserli kadınların % 70 kadarında ilk bulgu memede ele gelen kitledir. Genellikle kitle ağrısız, sert ve hareketsizdir; çoğu zaman hasta tarafından tesadüfen farkedilir. Meme içerisinde büyüyen tümör Cooper bağlarını infiltre ettiğinde retraksiyona sebep olur. Meme dokusundaki lenf damarlarına giren tümör hücreleri lenfatik akımın yavaşlamasına yol açar. Deri kalınlaşır, kıl folikülleri içeri doğru çekilmiş gibi kalır ve bu durum deride portakal kabuğu (*peau d'orange*) gibi görünüme neden olur. Bu görüntü ileri evre meme kanseri göstergesidir. Tümör hücrelerinin lenfatik yapıyı daha fazla tıkaması sonucu derinin beslenmesi bozulup eritem oluşmasına, ilerleyen dönemlerde beslenmesi bozulan deride ülserasyon başlar. Santral bölgede gelişen bir tümör meme başını içeri doğru çekerek meme başı retraksiyonuna sebep olur. Nadir de olsa patolojik bir neden içermeyen tek taraflı meme başı retraksiyonu da görülebilir [32].

Meme kanserli kadınların yaklaşık % 10 kadarında ilk belirti tek taraflı ve spontan meme başı akıntısı görülebilir. Akıntı seröz, seröz-kanlı ya da sadece kan şeklinde olabilir. Meme kanserli hastaların % 2'sinde önce meme başı, daha sonra areolayı da içine alan egzematöz bir lezyon ve ileri dönemde ülserasyon gelişebilir. İyileşmeyen durumda Paget hastalığı düşünülüp biyopsi yapılmalıdır. Hastaların % 2-4'ünde kanser öncelikle inflamasyon bulguları ile gelir. Meme derisi kızarıp kalınlaşarak portakal kabuğu görünümü alır [32].

### **2.1.4. Histopatolojik sınıflama**

Meme kanserinin tedavi planlanması açısından histopatolojik tipinin belirlenmesi çok önemlidir. Bu kanserlerinin yaklaşık % 95'i glandüler epitelden kaynak alıp terminal duktal toplayıcı kanalların distalinde yer alan fonksiyonel birim olarak kabul edilen duktal lobüllerden oluşmaktadır. Nadir görülen diğer meme tümörleri ise skuamöz hücreli karsinom, phylloides tümör, sarkom ve lenfomalardır [33].

Meme kanseri mikroskobik görünüm ve biyolojik davranışlarına göre başlıca iki ana grupta incelenmektedir. İn situ karsinomlarda tümör hücreleri duktus veya lobüle sınırlı olup ışık mikroskobunda stromaya invazyon göstermemiştir. İnvaziv karsinomlarda ise tümör hücreleri bazal membranı aşarak stromaya invazyon yaparlar. Bu nedenle invaziv meme karsinomları, lenfovasküler invazyonla bölgesel lenf nodlarına ve uzak organlara metastaz yapabilmektedir [33].

İnvaziv kanser meme tümörlerinin herhangi birine sınıflandırılmayan tüm meme kanserleri için geçerli ortak bir terimdir. Son zamanlarda duktal karsinom olarak da adlandırılmaktadır. Meme kanserlerinin yaklaşık % 65-80'lik bölümünü oluşturur ve çoğu zaman in situ duktal karsinom (DCIS) komponenti de bulunur. Kalsifikasyon bunlarda sık olarak rastlanır. Kan damarı, lenfatik ve perinöral invazyon görülebilmektedir [34].

İnvaziv meme karsinomlarının yaklaşık % 15'ini invaziv lobüler karsinom oluşturur [35]. Kalsifikasyon invaziv duktal karsinoma göre daha nadir görülmektedir. Diffüz büyüme paterni ve multifokal olabilmesi nedeniyle mamografide saptanması zordur. İnvaziv lobüler karsinomun bilateral olma olasılığı diğer invaziv kanserlere göre daha fazladır. Lobüler karsinomlarda sıklıkla glandüler yapılar normaldir [34].

### **2.1.5. Meme Kanserinin TNM Sınıflaması ve Evrelendirilmesi**

Meme kanserinin evrenmesi en uygun tedavi seçeneğinin belirlenmesi ve prognozun ön görülmesi açısından önemlidir. Bu amaçla günümüzde en sık kullanılan AJCC'nin (Amerikan Bileşik Kanser Komitesi 7. Edisyon) kabul ettiği TNM evreleme sistemidir. Bu sınıflama primer tümör çapı ve karakteristikleri (T), bölgesel lenf nodlarının durumu (N) ve uzak metastazların (M) varlığına göre yapılmaktadır [36].

**Tablo 1.** Meme kanserinde TNM sınıflaması, primer tümör (T) evrelemesi

<b>Tx:</b> Primer tümör değerlendirilemiyor
<b>To:</b> Primer tümör bulgusu yok
<b>Tis:</b> Karsinoma in situ veya tümör bulgusu olmayan meme başının Paget hastalığı
<b>T1:</b> Tümör boyutu en geniş yerinde 2 cm'den küçük <b>T1mi:</b> Tümör boyutu 0.1 cm'den daha küçük <b>T1a:</b> Tümör boyutu 0.1-0.5 cm arasında <b>T1b:</b> Tümör boyutu 0.5- 1 cm arasında <b>T1c:</b> Tümör boyutu 1-2 cm arasında
<b>T2:</b> Tümör boyutu en geniş yerinde 2- 5 cm arasında
<b>T3:</b> Tümör boyutu en geniş yerinde 5 cm'den büyük
<b>T4:</b> Tümör boyutu ne olursa olsun deri veya toraks duvarına invaze Not: Tek başına dermis invazyonu varsa T4 tümör olarak sınıflandırılmaz. <b>T4a:</b> Toraks duvarına invaze (Not: Kostalar, interkostal kaslar veya serratus anterior kası toraks duvarına dahildir, fakat pektoral kas toraks duvarına ait değildir.) <b>T4b:</b> Meme derisinde ödem (portakal kabuğu görünümü dahil), ülserasyon, tümörlü memede satellit deri lezyonları <b>T4c:</b> T4a+T4b <b>T4d:</b> İnflamatuvar karsinom

**Tablo 2.** Meme kanserinde TNM sınıflaması, bölgesel lenf nodu (N) evrelemesi

<b>Klinik lenf nodu evreleme (N)</b>
<b>Nx:</b> Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor (örn. daha önce çıkarılmıştır)
<b>N0:</b> Bölgesel lenf nodlarına metastaz yok
<b>N1:</b> İpsilateral seviye I ve II aksiller lenf nodlarına mobil metastaz varlığı
<b>N2:</b> İpsilateral seviye I ve II’de klinik olarak fikse aksiller lenf nodları veya klinik olarak aksiller lenf nodu metastazı olmaksızın ipsilateral internal mammarian lenf nodlarında metastaz tesbiti <b>N2a:</b> Fikse veya komşu dokulara yapışık seviye I ve II aksiller lenf nodu metastazları <b>N2b:</b> Klinik olarak aksiller lenf nodu metastazı olmaksızın ipsilateral internal mammarian lenf nodu metastazları
<b>N3:</b> İpsilateral infraklavikuler (seviye III aksiller) lenf nodu metastazı ve/veya seviye I-II aksiller lenf nodu metastazı; veya klinik olarak görülebilen ipsilateral internal mammarian lenf nodu metastazı ve seviye I-II aksiler lenf nodu metastazı veya ipsilateral supraklavikuler lenf nodu metastazı <b>N3a:</b> İpsilateral infraklavikuler lenf nodu metastazı <b>N3b:</b> İpsilateral internal mammarian lenf nodu ve aksiller lenf nodu metastazı <b>N3c:</b> İpsilateral supraklavikuler lenf nodu metastazı

**Tablo 3.** Meme kanserinde TNM sınıflaması, patolojik lenf nodu (pN) evrelemesi

<b>Patolojik lenf nodu evreleme (pN)</b>
<p><b>pNx:</b> Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor</p>
<p><b>pN0:</b> Histolojik olarak bölgesel lenf nodu metastazı yok, izole tümör hücreleri için ek inceleme yok</p> <p>Not: Hemotoksilen-eozin boyası ile verifiye edilebilen ancak sıklıkla sadece immünohistokimyasal (İHK) veya moleküler metodlarla saptanan, 0.2 mm'den daha geniş olmayan tek tümör hücreleri veya küçük hücre kümeleri izole tümör hücreleri olarak tanımlanır. İzole tümör hücreleri proliferasyon veya stromal reaksiyon gibi malign aktivite kanıtlarını genellikle göstermez.</p> <p><b>pN0(i-):</b> Histolojik bölgesel lenf nodu metastazı yok, negatif İHK</p> <p><b>pN0(i+):</b> Bölgesel lenf nodundaki izole malign hücre kümesi (pozitif İHK) 0.2 mm'den geniş değil</p> <p><b>pN0(mol-):</b> Histolojik bölgesel lenf nodu metastazı yok, negatif (RT-PCR) moleküler bulgular</p> <p><b>pN0(mol+):</b> Histolojik bölgesel lenf nodu metastazı yok, pozitif (RT-PCR) moleküler bulgular (RT-PCR: Ters transkriptaz / polimeraz zincir reaksiyonu)</p>
<p><b>pN1:</b> 1-3 adet aksiller ve/veya internal mammarian lenf nodlarında sentinel lenf nodu diseksiyonu ile saptanan mikroskopik hastalıkla birlikte metastaz, fakat klinik olarak belirgin değil</p> <p><b>pN1 mi:</b> Mikrometastaz (0.2-2.0 mm arasında)</p> <p><b>pN1a:</b> 1-3 adet aksiller lenf nodunda metastaz (en az bir metastaz 2 mm'den büyük)</p> <p><b>pN1b:</b> Sentinel lenf nodu biyopsisi (SLNB) ile internal mammarian lenf nodlarında saptanan mikro/makrometastaz, fakat klinik olarak belirgin değil</p> <p><b>pN1c:</b> 1-3 adet aksiller ve internal mammarian lenf nodlarında SLNB ile saptanan mikro/makrometastaz, fakat klinik olarak belirgin değil (pN1a+pN1b)</p>
<p><b>pN2:</b> 4-9 adet aksiller lenf nodunda metastaz veya aksiller lenf nodu metastazı olmaksızın internal mammarian lenf nodlarında klinik olarak belirgin metastaz</p> <p><b>pN2a:</b> 4-9 adet aksiller lenf nodunda metastaz (2 mm'den büyük en az bir tümör odağı)</p> <p><b>pN2b:</b> Aksiller lenf nodu metastazı olmaksızın internal mammarian lenf nodlarında klinik olarak belirgin metastaz</p>

**Tablo 3.** Meme kanserinde TNM sınıflaması, patolojik lenf nodu (pN) evrelemesi (Devamı)

<p><b>pN3:</b> 10 veya daha fazla aksiller lenf nodunda veya infraklavikuler (seviye III aksiller) lenf nodlarında veya bir ya da daha fazla sayıda seviye I-II pozitif aksiller lenf nodu varlığında klinik olarak belirgin ipsilateral internal mammarian lenf nodlarında metastaz veya internal mammarian lenf nodlarında klinik olarak negatif ancak SLNB ile saptanan mikro/makrometastaz ile birlikte 3'ten daha fazla aksiller lenf nodunda metastaz veya ipsilateral supraklaviküler lenf nodlarında metastaz</p> <p><b>pN3a:</b> 10 veya daha fazla aksiller lenf nodunda metastaz (2 mm'den büyük en az bir tümör odağı) veya infraklavikuler lenf nodlarında metastaz</p> <p><b>pN3b:</b> Bir veya daha fazla pozitif aksiller lenf nodu varlığında klinik olarak belirgin ipsilateral internal mammarian lenf nodu metastazı veya klinik olarak belirgin olmayan ancak SLNB ile saptanan internal mammarian lenf nodlarında mikro/makrometastaz ile birlikte üç veya daha fazla aksiller lenf nodunda metastaz</p> <p><b>pN3c:</b> İpsilateral supraklaviküler lenf nodlarında metastaz</p>
---

**Tablo 4.** Meme kanserinde TNM sınıflaması, uzak metastaz (M) evrelemesi

<p><b>M0:</b> Uzak metastaz varlığı ile ilgili klinik veya radyolojik bulgu yok</p>
<p><b>cM0(i+):</b> Uzak metastaz varlığı ile ilgili klinik veya radyolojik bulgu yok, ancak kanda, kemik iliğinde veya bölgesel olmayan diğer nodal dokularda semptom veya bulgu vermeyen 0.2 mm'den küçük mikroskopik veya moleküler düzeyde tümör varlığı</p>
<p><b>M1:</b> Klinik veya radyolojik metastaz bulgusu veya histolojik olarak 0.2 mm'den büyük metastaz varlığı</p>



**Tablo 5.** Meme kanserinde evreleme sistemi

<b>EVRELER</b>	<b>T</b>	<b>N</b>	<b>M</b>
<b>0</b>	Tis	N0	M0
<b>I</b>	Tmic	N0	M0
	T1	N0	M0
<b>IIA</b>	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
<b>IIB</b>	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
<b>IIIA</b>	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T3	N2	M0
<b>IIIB</b>	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
	T4	N2	M0
<b>IIIC</b>	T1-4	N3	M0
<b>IV</b>	T1-4	N0-3	M1

### 2.1.6. Prognostik Faktörler

Meme kanserinde tümör çapı özellikle lenf nodu metastazı olmayan hastalarda adjuvan tedavi seçimi ve nüks açısından önemli ve güvenilir prognostik bir faktördür [37, 38]. Tümör çapının klinik ve patolojik ölçümleri arasında çelişki saptandığında patolojik ölçümlerin gerçek tümör çapını daha iyi yansıttığı ve dikkate alınması gerektiği yapılan çalışmalarda vurgulanmıştır [37]. Tümör çapı ile aksiller lenf nodu tutulumu arasında da ilişki bulunmaktadır. Histolojik tip, meme kanseri prognozundaki en önemli faktörlerden birisidir [32].

Grade tümörün diferansiyasyon derecesi ve mitoz sayısına göre belirlenmektedir. Tümörün köken aldığı dokuya benzerliğini diferansiyasyon yansıtır. Grade I'den III veya IV'e kadar derecelendirilebilir. Grade I iyi diferansiyasyon grade III veya IV kötü diferansiyasyon olarak ifade edilir. Prognoz ile histolojik grade arasında güçlü bir ilişki saptanmıştır. Sağkalım oranının Grade I tümörlerde daha yüksek olduğu bildirilmiştir [32].

Meme kanserinde östrojen reseptörü (ER) ve progesteron reseptörü (PR) prognostik faktördür. ER ve PR pozitifliği hormonal tedaviye daha iyi yanıtı sağlar. ER ve PR pozitifliğine postmenopozal dönemde, premenopozal dönemden daha sık rastlanır. Reseptör negatif olması kötü prognostik faktördür [39]. Meme kanserli hastalarda yüksek tümör proliferasyon oranları kötü

prognoz ile ilişkilidir. Proliferasyon oranı; mitotik indeks, immunohistokimyasal yöntemlerle Ki-67 oranı ve Siklin A gibi çeşitli yöntemlerle belirlenir [40-42].

Hücrede kanser oluşumuna büyüme faktörü sentezindeki artış ya da büyümeyi inhibe eden faktörlerin sayısındaki azalmanın neden olduğu düşünülmektedir. İnsanlardaki başlıca büyüme faktörleri; EGF (Epidermal Growth Factor), TGF (Transforming Growth Factor), IGF-I- II (Insulin-like Growth Factor), PDGF (Platelet Derived Growth Factor) ve FGF (Fibroblast Growth Factor) den oluşur. Bu büyüme faktörleri EGFR (HER) ailesi olarak adlandırılan reseptörlere bağlanırlar. EGFR ailesi hücre zarında monomer olarak bulunan 4 adet reseptörden oluşur. Bu reseptörler; HER-1, HER-2/neu, HER-3 ve HER-4 olarak isimlendirilir. HER-3 dışında diğerlerinin tirozin kinaz aktivitesi vardır. Bu reseptörlerden sadece HER-2 'nin spesifik ligandı bulunamamıştır. Ligandsız HER-2 gen amplifikasyonuna bağlı olarak hücre membranında aşırı eksprese edilirse kendiliğinden dimerize olarak tirozin kinaz aktivasyonu sonucunda nükleustaki transkripsiyon faktorlerine ulaşan sinyal ileti yolunun uyarılmasına sebep olurlar [43].

HER-2 (c-erbB2) meme kanserlerinin % 20-35'inde aşırı ekspresyon gösteren en önemli EGFR dir. HER-2 onkogeninin yapılan çalışmalarda hücre proliferasyon ve diferansiasyonunun önemli bir düzenleyicisi olduğu görülmüştür [44] . HER-2 pozitifliğinin sağkalımda azalmayla arasında bir ilişki vardır. Bu ilişkiye daha spesifik hasta gruplarında yapılan çalışmalarda rastlanılamamış olsa da c-erb B2'nin amplifikasyonu ya da ekspresyonunun agresif meme kanserlerinde daha sık görüldüğü bildirilmiştir [45].

Meme koruyucu cerrahi uygulanacak olgularda multipl odakta tümör bulunması önemli bir prognostik faktördür [46]. Lenfovasküler invazyon kötü prognostik faktörlerdendir. Çoğu zaman lenf nodu metastazı varlığında görülür. [32]. Meme kanserinde prognozu belirleyen en önemli faktörler metastatik lenf nodu tutulumudur. Tutulan lenf nodu sayısı ile sistemik metastaz riski ve hastalığın klinik seyri arasında yakın ilişki mevcuttur [32].

### **2.1.7. Tanı**

Günümüzde meme kanseri tanısında kullanılan tanı yöntemleri ana başlıklar halinde şunlardır[32]:

## **Non İnvaziv Yöntemler**

- Klinik muayene
- Mamografi
- Meme ultrasonografisi ve doppler ultrasonografi
- Digital mamografi
- Manyetik rezonans görüntüleme
- Bilgisayarlı tomografi
- Mamosintigrafi (Talyum-201, TC-99m tetrafosmin, Tc-99m sestamibi)
- Pozitron emisyon tomografi

## **İnvaziv Yöntemler**

- İnce iğne aspirasyon biyopsisi (İ.İ.A.B.)
- Kesici iğne biyopsisi
- İnsizyonel biyopsi

### **2.1.8. Tedavi**

#### **Cerrahi Tedavi**

Meme kanserinin cerrahi tedavisinde mastektomi ve meme koruyucu cerrahi (MKC) olmak üzere iki türlü yöntem kullanılmaktadır. MKC memenin tamamının alınmadığı sadece tümörün çıkarıldığı ameliyatlardır. Bu ameliyatlar lumpektomi ve parsiyel mastektomi olmak üzere 2 ayrı yöntemden oluşmaktadır. Lumpektomi memenin normal dokusu ile birlikte 3–4 cm'yi geçmeyen kanserli dokuların çıkarılmasıdır, parsiyel mastektomi ise memenin dörtte birinin ya da daha fazlasının kanserli doku ile birlikte alınması işlemidir. Her iki çeşit MKC sonrası da memede kalmış olabilecek kanserli hücreleri yok edebilmek için radyoterapi gerekmektedir [47].

Mastektomi; basit, modifiye radikal ve radikal olmak üzere 3 çeşittir. Basit mastektomi; sadece meme dokusunun tumor ile birlikte çıkarıldığı, altındaki kas tabakası ile koltuk altı lenf bezlerinin korunduğu yöntemdir. Modifiye radikal mastektomi, son zamanlarda yaygın olarak yapılan, meme dokusunun tümü ile meme derisinin, koltuk altı lenf bezlerinin bir kısmı ya da tamamının çıkarıldığı operasyonlardır. Radikal mastektomi, yaklaşık 25 yıl öncesine kadar sık uygulanan memenin tümünün, pectoralis minör ve majör kasları ile koltuk altı lenf bezlerinin

tamamının alınması işlemidir. I. ve II. evrede hastalık henüz metastaz yapmadığından ve iyileşme şansı yüksek olduğundan basit mastektomi ve modifiye radikal mastektomi gibi büyük ameliyatlara uygulanabileceği gibi lumpektomi ve parsiyel mastektomi de yapılmaktadır. III. evrede daha sık basit mastektomi ya da modifiye radikal mastektomi uygulanırken, IV. evrede ise metastazlar olduğu için kemoterapi ve hormonal tedavi gibi sistemik tedaviler verilmektedir [48].

### **Radyoterapi**

Radyoterapi meme koruyucu cerrahi sonrası cerrahi sınırları negatif olan hastalarda lokal rekürrens riskini azaltmak için uygulanabilir. Ayrıca metastatik hastalıkta palyatif olarak verilebilir [49].

### **Sistemik Tedavi**

Kemoterapi, hormonal tedavi ve immünoterapi yöntemlerini içeren tedavi şekilleridir. Kemoterapi cerrahi öncesi neoadjuvan olarak ve cerrahi sonrası adjuvan olarak uygulanabilir. Tümör yükü fazla olan hastalarda neoadjuvan kemoterapi önerilmektedir [50].

#### **2.1.9. Meme Kanserinde Neoadjuvan Kemoterapi**

Neoadjuvan kemoterapi (NKT) cerrahi öncesi yapılan kemoterapi uygulamasıdır. Meme kanseri başta olmak üzere akciğer, rektum ve mide kanseri gibi diğer birçok kanser tipinde uygulanmaktadır. NKT’de hedef; primer operable meme kanserlerinde meme koruyucu cerrahi şansını arttırmak, inoperable ve inflamatuvar meme kanserlerinde operabiliteyi sağlamak ve genel ya da hastalısız sağkalımı uzatabilmektir. Hastanın NKT öncesi anamnez, fizik muayene ve evreleme tetkiklerinin tamamlanmış olması gerekmektedir. Memedeki kitleden yapılan biyopsi örneği ER, PR, HER-2 çalışmalarının yapılabilmesi ve arşivleme için yeterli olmalıdır. MKC yapılacak olan hastalarda primer tümör yatağı işaretlenmelidir. Tedaviye yanıt cerrahi öncesi klinik ve radyolojik olarak, cerrahi sonrası patolojik olarak değerlendirilmelidir [32, 51]. Neoadjuvan kemoterapinin, sağkalıma olan etkisi adjuvan kemoterapi ile benzerlik gösterse de kemoterapiye cevap en önemli prediksyon sağlayan faktördür. Buna rağmen NKT’ye alınacak cevap öngörülememektedir. [4].

## **2.2. SİTOKERATİN 18 BELİRTECİ M30 VE M65**

### **2.2.1.Hücre Ölümü**

Fizyolojik strese maruz kaldığında hücre çoğu zaman yapısını koruyabilir. Hücrenin adaptasyon seviyesi aşıldığı zaman hücrede zedelenme meydana gelir. Bu zedelenme belli bir noktaya kadar geri dönüşlü olmasına rağmen kalıcı stres durumunda geri dönüşümsüz hale gelir ve ölümle sonuçlanır [52]. Hücre ölümü, homeostazisi sağlamak için vücutta hücre bölünmesi kadar önemlidir [53]. Hücre ölümü embriyonik ve yetişkin hayatı boyunca hücrenin fazla oluşumunu dengeler [54]. Yakın geçmişe kadar temel hücre ölüm yolağının apoptoz olduğu düşünülmekteydi. Son yıllarda yapılan araştırmalarda kemoterapötik ve diğer faktörlerin, hücrenin apoptoz dışındaki ölüm mekanizmalarına da yönelmesine sebep olduğu gösterilmiştir. Bu mekanizmalar otofaji, mitotik katastrof, otofagositoz ve nekrozdur [55, 56].

### **2.2.2. Nekroz**

Nekroz enerji kaybı, hücresel şişme, hücre-içi komponentlerin entegrasyon ve plazma membranının bütünlüğünün bozulması ile karakterizedir. Şiddetli bir travma veya zararlı bir uyarı ile oluşabilir ve çoğu zaman hücreleri gruplar halinde etkiler. Endoplazmik retikulum ve mitokondride şişme, plazma membran iyon transportunun bozulması, hücrelerin şişmesi ve parçalanması morfolojik olarak tipiktir. Hücre içeriği ve lizozomal enzimler, hücrelerin parçalanmasıyla dış ortama dökülür. Hücre dışına çıkan enzimler komşu hücre ve dokuları zedeleyerek inflamatuvar yanıtın oluşmasına neden olmaktadır [56, 57].

### **2.2.3. Apoptozis**

Gelişmiş organizmalarda hücreler arası iletişimin gereği olarak artık gereksinim duyulmayan veya fonksiyonları bozulan hücrelerin çevreye zarar vermeden ortadan kaldırılmasını sağlayan apoptosis genetik kontrol altında gerçekleşir [58]. Hücrenin içinden veya dışından gelen sinyaller, kaspazları aktive etmesiyle başlar. Hedef proteinleri yıkan aktif kaspazlar, hücre içi değişikliklere neden olur. Çeşitli morfolojik ve biyokimyasal değişikliklerin oluşması sonucunda hücre parçalanarak apoptotik cisimlere ayrılır. Apoptotik cisimler fagositoz ile ortamdan

uzaklaştırılır [59]. Böylelikle apoptoz yolu ile ölen hücreler inflamasyon oluşturmada dokulardan temizlenir [56].

Apoptoz ve nekroz tetikleyen sebepler ve farklılıkları tablo 6’de özetlenmiştir [56].

**Tablo 6.** Apoptozis ve Nekroz

ÖZELLİK	APOPTOZ	NEKROZ
Etyoloji	-Hücre yaşlanması -Büyüme faktörü eksikliği -Kanser ilaçları -Radyasyon -HIV -Oksidatif stres -Yüksek doz glukokortikoid	-İskemi -Siddetli oksidatif stres -Hipertermi -Hipoksi -Litik viral enfeksiyon -Toksik maddeler
Biyokimyasal Özellikler	-Kontrollüdür. -ATP gereklidir. - +4 °C’de gerçekleşmez. -DNA internükleozomal alanlarda mono ve oligonükleozomlara ayrılır -Prelitik DNA fragmentasyonu	-Kontrolsüzdür. -ATP gerekmez. -+4 °C’de gerçekleşebilir. -DNA rastgele parçalanır -Postlitik DNA fragmentasyonu
Morfoloji	-Hücre zarı bütünlüğünü korur. -Kromatin nükleer zar civarında toplanır ve yoğunlaşır. -Hücre küçülür. -Organellerde parçalanma yoktur. -Hücre zarla kaplı apoptotik cisimciklere parçalanır.	-Hücre zarının bütünlüğü bozulur. -Kromatin kümelenir. -Hücre şişer. -Organeller parçalanır. -Endoplazmik retikulum genişler. -Büyük vaküoller oluşur. -Hücre lizisi meydana gelir.
Diğer	-Hücreler tek ya da birkaç tanesi birarada ölür. -Fizyolojik şartlarda da gerçekleşir. -Hücreler komşu hücreler veya makrofajlar tarafından fagosite edilir. -İnflamasyon görülmez.	-Hücreler gruplar halinde ölür. -Patolojik etkiler sonucu oluşur. -Lizozomal enzimler salınır. -İnflamasyona neden olur.

Apoptotik hücre ölümünün aşamaları:

1. Apoptozisin başlatılması
2. Hücre içi proteazların (kaspazların) aktivasyonu
3. Hücrede çeşitli morfolojik ve biyokimyasal değişikliklerin oluşması
4. Fagositoz

### **1. Apoptozisin Başlatılması (Sinyal Üretici Yollar)**

Hücrede apoptoz gerçekleşebilmesi için öncelikle hücre içinden veya dışından ilgili genetik mekanizmayı harekete geçirecek sinyale ihtiyaç vardır [60].

### **2. Hücre İçi Proteazların Aktivasyonu**

Hücrede iç ve dış sinyallerle bir grup kaspaz adı verilen proteazlar harekete geçer. İç ortamdan gelen sinyaller mitokondrideki başlatıcı kaspazları, ortamdan gelen ölüm reseptörlerini aktive eden sinyaller adaptör proteinlerini aktive ederler [60]. Sinyaller mitokondrinin dış zarında geçirgenlik artışına neden olurlar. Bu geçirgenliği bcl-2 gibi bazı proteinler ayarlamaktadır. Antiapoptotik Bcl-2 proteini mitokondri dış zarında bulunan apoptozis proteaz aktive edici faktör 1 (Apaf 1)'e tutulur. Hücrenin içinden gelen apoptotik sinyaller Apaf 1'in mitokondriden ayrılmasına neden olarak dış mitokondri zarının geçirgenliğini artırır. Geçirgenliğin artması, mitokondrinin iki zarı arasında bulunan sitokrom C'nin sitoplazmaya çıkmasına sebep olur. Sitoplazmada sitokrom C, Apaf 1, kaspaz 9 ve ATP ile birleşerek apoptozomu meydana getirir. Apoptozom sonlandırıcı kaspaz olan kaspaz 3'ü aktifleyerek apoptozisi başlatır [61].

### **3. Hücrede Oluşan Biyokimyasal ve Morfolojik Değişiklikler**

#### **A) Biyokimyasal Değişiklikler**

Sonlandırıcı kaspazlar aktive olduktan sonra sitoplazmada ve çekirdek içinde hedef proteinlerini yıkararak:

- 1-DNA kırıklarının meydana gelmesi
- 2-Hücre iskeletinin yıkılması
- 3-Hücre membranında değişikliklerin oluşmasını sağlarlar.

## B) Morfolojik Değişiklikler

Hem fizyolojik hem de patolojik şartlarda apoptozis meydana gelmektedir. Apoptoziste hücre küçülerek hücrenin kromatini nükleus membranının çevresinde toplanır ve yoğunlaşır [59, 62, 63]. Apoptotik hücre membranı sağlamdır, üzerinde ufak cepçikler oluşur. Apoptotik hücre küçük cisimciklere bölünür. Apoptotik cisimcikler, membran ile kaplıdır, değişik miktarlarda nükleus veya diğer hücre içi elemanları içerirler [63]. Apoptotik hücre veya cisimcikler parankim hücreleri veya makrofajlar tarafından fagosite oldukları için enflamasyon oluşmaz [59, 62]. Apoptotik hücrede görülen önemli değişikliklerden biri olan normalde plazma membranının iç yüzünde bulunan fosfotidilserinin erken evrede membranın dış yüzüne doğru yer değiştirmesi sonucu olarak apoptotik hücrelerin parankim hücreleri ve makrofajlar tarafından tanınmasını sağlar [62].

### **4. Fagositoz**

Apoptotik cisimcikler parankim hücreleri ve makrofajlar tarafından fagosite edilerek dokudan uzaklaştırılır [59]. Oluşan apoptoz hematoksilen-eozin boyama, TUNEL, elektron mikroskopi, Western Blotting ve ELISA gibi çeşitli yöntemlerle gösterilebilir [64].

Günümüzde birçok hastalığın hücre ölüm ya da yaşamı ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu sebeple apoptozis üzerine yapılan yeniden düzenlenme ile önemli tedavi yöntemleri gündeme gelmektedir. Bütün radyoterapi ve sitotoksik ilaçlar tümör hücrelerinde apoptozu başlatır. Apoptozis olan direnç ise tedavide başarısızlığı neden olur [65].

#### **2.2.4. Sitokeratin 18 Belirteci M30-M65**

Hücre iskeleti 3 farklı tip filament sisteminden oluşur[65]. :

1. Ara filament (Tip I-V)
2. Aktin içeren filament (MF)
3. Mikrotübüller (MT) <sup>[66]</sup>

Ara filament proteinler, nükleer laminler ve dokuya spesifik sitoplazmik proteinlerden oluşmaktadır. Epitel hücrelerinde keratinler, nöronal hücrelerde nörofilamentler, kasta desmin, mezenkimal hücrelerde vimentin dokuya spesifik olan sitoplazmik proteinlerdir [67]. Genomik yapıları ve aminoasid dizilişine göre ara filamentler beş tipe ayrılır [49].



Tip I ve II keratinler (K) (“yumuşak” keratinler veya sitokeratinler de denir) epitel hücrelerinde bulunur ve hücre tipine spesifik en az 20 çeşit üyesi vardır (CK1–CK20). Non-kovalent bağlı tip I ve II heteropolimerler meydana getirir [49]. Bu sitokeratinler birbirinden izoelektrik noktaları ve antijenik özelliklerine göre ayrılır. Tip I keratinler rölatif olarak asidikken (K9-20), Tip II keratinler ise rölatif olarak baziktir (K1-K8). Keratinler ara filament proteinlerin en büyük alt grubunu oluşturur. Hem normal hem de transforme epitel hücrelerinde bulunur ve ayrıca kanserlerin çoğunda eksprese olur [68].

Sitokeratinler epitelyal hücrelerin iskeletini oluşturan ara filamentlerdir. Bu dokularda hücrelerin şekil ve bütünlüğünün desteklenmesine katkıda bulunurlar. Son zamanlarda CK’lerin sinyal iletiminde rol aldıklarını ve hücrelerin göçünde şekil ve hareketine katkıda buldukları ileri sürülmektedir [69]. CK’ler yaygın olarak basit ve keratinleşmemiş çok katlı epitelden ve epitel kaynaklı dokulardan salgılanmaktadır. Sağlıklı kişilerde squamoz epitelden CK 1-6 ve 9-17, basit epitelden CK 7, 8, 18-20 eksprese olur. Malinitelerde ise sadece CK 8, 18, 19 bol miktarda salgınır [70].

CK’ler radyolojik metodlardan önce hastalığın durumu hakkında doğru bilgi veren, basit, ucuz, noninvazif, güvenilir tümör markerlarıdır. Hücre iskeletinde, CK’ler çok düşük çözünürlük göstermekte olup, normalde dolaşıma çıkabilmeleri için yıkılmaları gerekmektedir [71]. CK’ler tümör hücrelerinden salındığında kan, idrar, plevral mayii, BOS, kist sıvısı ve asit sıvısında saptanabilir. Sağlıklı bireylerde CK’lerin dolaşımdaki seviyeleri düşüktür. Epitel hücresiyle ilişkili kanserlerde düzeyleri anlamlı derecede yüksek gözlenir [72].

Hızlı büyüyen tümörlerin epitelyal hücrelerinden CK-18 aşırı derecede salgınır. Artmış düzeyleri hücre turnoverı ve proliferasyonla ilişkilidir [73]. Total CK-18 proliferasyondaki hücrelerde fazla miktarda üretilir. Nekrozda membran bütünlüğü bozulunca dolaşıma salgınır. Kırılmış CK-18 ise yalnızca apoptozisle ölen hücrelerde, total CK-18’in kaspazlarla kırılması sonucunda oluşur. Apoptozis sırasında oluşan apoptotik cisimcikler, makrofajlar ve komşu hücreler tarafından fagosite edilirler. Kanser gibi hücre turnoverının ve hücre ölümünün çok yüksek olduğu durumlarda ise apoptozise giden hücrelerin bir kısmı sekonder nekrozise uğradığından hücre içindeki kırılmış CK-18 dolaşıma salgınır. Kısaca, total CK-18, hücreler nekrozisle ölünce dolaşıma salgınırken kırılmış CK-18 ise apoptozis sırasında oluşur ve hücreler sekonder nekrozise giderken dolaşıma verilir [64].

CK proteinlerinin kaspazlarla parçalanması sonucunda apoptotik cisimciklerin oluşumu kolaylaşır ve apoptotik sinyalleri artırır. Yapılan invitro çalışmalarda kırılmış CK-18'in apoptozis sürecinde kaspaz sindirimi sonucunda ekstrasellüler sahaya salındığı gösterilmiştir [74]. Apoptozis sırasında CK-18 kaspazlarla aspartat 238 ve aspartat 396 noktasında bölünür ve ortaya CK-18Asp396 neoepitopu (M30 antijeni) çıkar. Buna karşı geliştirilen monoklonal M30 belirteci özellikle CK-18'in aspartat 396'da bölünmüş fragmanını tespit eder ve ölçülmesini sağlar. Bununla beraber monoklonal M65 belirteci hem sağlam CK-18'i hemde bölünmüş CK-18'in düzeyini ölçmektedir. Bu sayede monoklonal M30 ve M65 antikoları apoptotik sürecin belirteçleri olarak kullanılabilir [60, 66]. M30 yalnızca apoptozu gösterirken M65 hem apoptoz hem de nekrozun bir belirtecidir. Bu yüzden M65 değerinden M30 çıkarıldığı zaman bize oluşan nekrozu gösterir.

CK'ler epitel hücreli kanseri olan hastaların takibinde tümör hücre aktivitesini yansıtır. CK'ler erken karar verme ve daha etkili tedavi için diğer metodlardan önce hastalığı saptamada yararlı olabilir. CK'ler organ spesifik değildir. Semptomatik hastaların tedavisi sırasında ve iyileşme sonrası değerlendirilmede yararlıdır. CK'ler meme kanserinde rekürrens ve metastazın markerı olarak kullanılabilceği düşünülmektedir. Artmış düzeylerde CK'lerin varlığı meme kanseri olan hastalarda metastazın bir göstergesi olabilir. Bununla birlikte CK'lerin markır olarak kullanımının değerlendirilmesi için ek klinik çalışmalar gerekmektedir [73].

### 3. ARAÇ-GEREÇ VE YÖNTEMLER

#### 3.1. Araştırmanın Tanımı ve Hastaların Seçimi

Çalışmamıza Mart 2015 - Temmuz 2016 tarihleri arasında Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı'nda meme kanseri teşhisi ile neoadjuvan kemoterapi uygulanan toplam 41 hasta gönüllülük esası içinde çalışmaya dahil edildi. Bu çalışma için Bezmialem Vakıf Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun onayı alındıktan sonra yapılmıştır. Çalışmaya dahil edilen tüm hastalara gönüllü bilgilendirme formu okunarak bilgi verildikten sonra onam formu imzalatılmıştır. Çalışmaya dahil edilme kriterleri; 18 yaş ve üzeri, performans skoru 0-2 olan, kemik iliği, karaciğer ve böbrek fonksiyonları kemoterapi almak için uygun olan ve kemoterapiye engel komorbitesi olmayan, ikincil bir kanseri ve uzak metastaz bulgusu olmayan hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Tüm veriler prospektif olarak kaydedilmiştir.

Hastaların tümü tedavi öncesinde onkoloji konseyinde tartışıldı. Anamnez, fizik muayene sonrasında klinik evreleme amacıyla tedavi öncesi değerlendirmede tam kan sayımı, kan biyokimyası, PA akciğer grafisi, batin ultrasonografisi, mamografi, meme ultasonografisi ve/veya meme MR, PET-CT gibi laboratuvar ve radyolojik görüntüleme yöntemleri kullanıldı. Uzak metastaz saptanmayan olgular değerlendirmeye alındı. Neoadjuvan kemoterapi uygulanmasına karar verilen hastalara önce 21 günde bir 4 kür FEC (5-Fluorourasil 500 mg/m<sup>2</sup>, Epirubisin 100 mg/m<sup>2</sup> Siklofosfamid, 500 mg/m<sup>2</sup>) veya AC (doksorubisin 60 mg/m<sup>2</sup>, Siklofosfamid 600 mg/m<sup>2</sup>) veya EC (Epirubisin 75 mg/m<sup>2</sup>, Siklofosfamid 600 mg/m<sup>2</sup>) protokollerinden birini ve daha sonra 12 hafta boyunca haftalık paklitaksel (80 mg/m<sup>2</sup>) uygulandı. c-Erb-2 pozitif olan hastalara paclitaxel ile birlikte ek olarak trastuzumab (8 mg/kg yükleme sonrası 6 mg/kg idame) tedavisi verildi.

Bu hastalardan kanlar kemoterapi öncesi (0) ve 2, 4, 8. kür tedavisi verildikten 21 gün sonra jelli biyokimya tüpüne alınmıştır. Kanlar santrifüj edilip serumları tüm hasta kanları tamamlanana kadar -80 °C'de saklanmıştır. Kemoterapilerini tamamlayan hastalar operasyon için Genel cerrahi'ye yönlendirilmiştir. Pre-op dönemde hastalara meme USG, Mammografi ve/veya meme MR ile kontrol görüntüleme yapılmıştır. Olguların cinsiyet, yaş, BMI gibi demografik özellikleri yanında operasyon sonrası patoloji raporlarındaki meme kanseri için prognostik parametreler ile

M30, M65 ve M65-30'un kürleri arasındaki seyri değerlendirildi. Bakılan bu prognostik faktörler; östrojen reseptörü, progesteron reseptörü, c-Erb-2, ki-67, grade, patolojik-T, patolojik-N, kemoterapi cevabı. Hastaların kemoterapiye cevabı radyolojik olarak değerlendirmiş olup RECIST 1.1 (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors) (Tablo-7) kriterleri kullanılmıştır.

**Tablo 7.** RECIST 1.1 kriterlerine göre radyolojik değerlendirme

YANIT	KRİTER
Tam yanıt	Tüm lezyonların kaybolması
Kısmi yanıt	Tedavi öncesi ölçülen değer referans alındığında, tedavi sonrası ölçümde hedef lezyonların en uzun çaplar toplamında en az %30 oranında azalması.
İlerleyici hastalık	Tedavi öncesi ölçülen değer referans alındığında, tedavi sonrası ölçümde hedef lezyonların en uzun çaplarının toplamındaki %20 oranında artma veya yeni lezyonların ortaya çıkması.
Stabil hastalık	Tedavi öncesi ölçülen değer referans alındığında, ne kısmi yanıt ne de ilerleyici hastalığı karşılıyor.

## 3.2. M30-M65 Düzeylerinin Ölçümü

### 3.2.1. Kan Analizi

Çalışmaya katılan hastaların antekubital brakial veninden vacutainer kullanılarak biyokimya tüpüne kan örneği alındı. Biyokimya tüpüne alınan materyal 3000 xg de 10 dk santrifüj edildi. Elde edilen serum ependorfa alınıp çalışma gününde kullanılmak üzere -80°C ye kaldırıldı.

Çalışma gününde ependorflar oda ısısına getirilerek donmuş halde olan serumların erimesi sağlandı. Serum örneklerinde CK 18-M65 ve CK 18-M30 parametreleri ELISA yöntemi ile çalışıldı.

### 3.2.2. Araç ve Gereçler

- Santrifüj (Nüve NF1200, Nüve NF1200R)
- Distile su cihazı (Nüve Water Distiller-ND112)
- Vorteks (BioCote Voortex Mixer SA8, bibby scientific, UK)
- Orbital karıştırıcı (Biosan, OS-20, EU)
- Etüv (Nüve Cooled Incubator, ES120)
- Manyetik karıştırıcı (Stuart heat stir, CB162, bibby scientific, UK)
- -80°C derin dondurucu (New Brunswick Scientific. C54285 model)
- ELISA okuyucusu (Thermo Scientific Multiskan FC, 2011-06, USA)
- ELISA yıkayıcısı (Thermo Scientific WellWash microplate washer, 2011-08,USA)
- Pipet (1000, 500, 200,100,10 uL'lik; Gilson)
- 8'li multipipet
- Pipet uçları (1000, 200,100,10 uL'lik)
- Human CK 18-M65 ELISA kiti (SUNLONG Biotech Co, Ltd, Cat no: SL0585Hu)
- Human CK 18-M30 ELISA kiti (SUNLONG Biotech Co, Ltd, Cat no: SL0584Hu)

### 3.2.3. Ölçüm Yöntemi

#### 3.2.3.1. Test Protokolü:

1. Çalışmaya başlamadan önce örnekler ve kit oda ısısına getirildi.
2. Her iki kit için altışar adet standart, kitin içerisinden çıkan CK 18-M65 e ait 45 pg/ml'lik ve CK 18-M30 a ait 540 pg/ml'lik stok standartların seri olarak sulandırılması ile elde edildi.
3. Belirlenen kuyucuklara hazırlana standartlar 50 'şer µl pipetlendi.
4. Antikor ile kaplı mikrolaktaki örnek kuyucuklarına, 40 µl örnek sulandırma tamponu ve ardından 10 µl örnek eklendi ve 37 °C'de 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
5. Kit içerisinde bulunan 25X'lık yıkama solüsyonu hazırlandıktan sonra, ELISA plaklar yıkayıcıda 350 µl'de 4 kez yıkandı.
6. Tüm kuyucuklara 50 µl "HRP konjugat" eklendi ve 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi.
7. İnkübasyon sonrası tüm kuyucuklar yıkama solüsyonu ile 350 µl'de 5 kez yıkandı.
8. Tüm kuyucuklara 50'şer µl olacak şekilde sırasıyla Solüsyon A ve Solüsyon B eklendi ve 37 °C'de 15 dakika inkübe edildi.

9. Tüm kuyucuklara 50 µl “Stop Solüsyonu” ilave edildi.
10. Mikroplak bekletilmeden, 450 nm absorbansta plak okuyucuda (Thermo Scientific Multiskan FC, 2011-06, USA) okundu.

### **3.2.3.2. Hesaplama**

Elde edilen absorbans değerleri; standartlara ait absorbans ve konsantrasyon değerleri ile karşılaştırılarak, örneklere ait konsantrasyon değerleri belirlendi. Standartlara ait absorbanslar x ekseninde, konsantrasyonlar y ekseninde olacak şekilde log-log grafikler elde edilip, sonuçlar pg/ml şeklinde ifade edildi.

### **3.3. İstatistiksel Analizler**

Çalışmada elde edilen veriler değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 15.0 programı kullanıldı. Nümerik değişkenler ortalama ve standart sapma olarak, nominal değişkenler oranlar olarak verildi. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediği Kolmogorov-Smirnov Z testi ile incelenmiştir. Verinin tanımlayıcı istatistikleri, sürekli verilerde normal dağılım gösteren değişkenler için Ortalama ± Standart sapma ve normal dağılım göstermeyen değişkenler için medyan (minimum-maksimum) olarak ve kategorik değişkenler için frekans, yüzde “n (%)” olarak belirtilmiştir. Bağımsız iki grubun tekrarlayan ölçümlerinin karşılaştırılmasında repeated measures test kullanılmıştır. Kategorik verilerin analizinde Pearson ki-kare testi kullanılmıştır. İki yönlü p değeri <0.05 ise anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

Mart 2015 - Temmuz 2016 tarihleri arasında meme kanseri teşhisi ile neoadjuvan kemoterapi uygulanan 41 hasta çalışmaya alınmıştır. Olguların cinsiyetleri incelendiğinde sadece 1 (%2.4) erkek hasta olduğu saptanmıştır. Çalışmaya katılan hastaların yaş ortalaması 46.2 (28-67), BMI ortalaması  $29.2 \pm 6.2$  olarak hesaplanmıştır (Tablo-8).

**Tablo 8.** Hasta karakteristikleri

Parametre	N (%)
<b>Cinsiyet</b>	
Kadın	40 (97.6)
Erkek	1 (2.4)
<b>Menopoz</b>	
Premenopoz	28 (68.3)
Postmenopoz	12 (29.3)
<b>ER</b>	
Pozitif	31 (75.6)
Negatif	10 (24.4)
<b>PR</b>	
Pozitif	28 (68.3)
Negatif	13 (31.7)
<b>c-ERB-2</b>	
Pozitif	9 (22)
Negatif	32 (78)
<b>Ki-67</b>	
<%20	9 (22)
>%20	32 (78)
<b>Grade</b>	
1- 2	20 (48.8)
3	8 (19.5)
<b>Patolojik-T</b>	
T0	7 (17.1)
T1	17 (41.4)
T2	8 (19.5)
T3	4 (9.8)
<b>Patolojik-N</b>	
N0	13 (31.72)
N1	12 (29.28)
N2	9 (21.9)
N3	2 (4.9)
<b>Kt Cevabı</b>	
Stabil	15 (36.6)
Tam/parsiyel yanıt	26 (63.4)

Hastaların menopoz durumlarının sayı ve oranları değerlendirildiğinde premonopoz 28 (%68.3), postmenopoz 12 (%29.3) olgu olduğu görüldü. 41 olgunun ilk tanındaki patoloji sonuçlarına göre 31 (%75.6)'inde ER, 28 (%68.3)'inde PR ve 9 (%22)'unda c-Erb-2 pozitifken geri kalan hastalarda bu parametreler negatifti. Ki-67 sonuçları için %20 cut-off olarak alındığında 9 (%22) hastada %20'nin altında iken 32 (%78) hastada %20'nin üzerindedir. Opere olan hastaların (n=36) patolojilerinden elde edilen veri sonuçlarına göre grade 1-2 olanların sayısı 20 (%48.8), grade 3 olanların sayısı 8 (%19.5)'dir. Patolojik-T değerlerine göre T0-T1 olanlar 24 (%58.5) hasta, T2-T3 olanlar 12 (%29.3) hastadır. Benzer şekilde patolojik-N sonuçlarına göre N0-N1 olgu sayısı 25 (%61) iken N2-N3 olanların sayısı 11 (%26.8)'dir. Hastaların kemoterapiye cevapları radyolojik olarak RECIST 1.1 kriterlerine göre değerlendirildiğinde 15 (%36.6) hastada stabil hastalık tespit edilmişken 26 (%63.4) hastada tam ya da parsiyel yanıt görülmüştür.

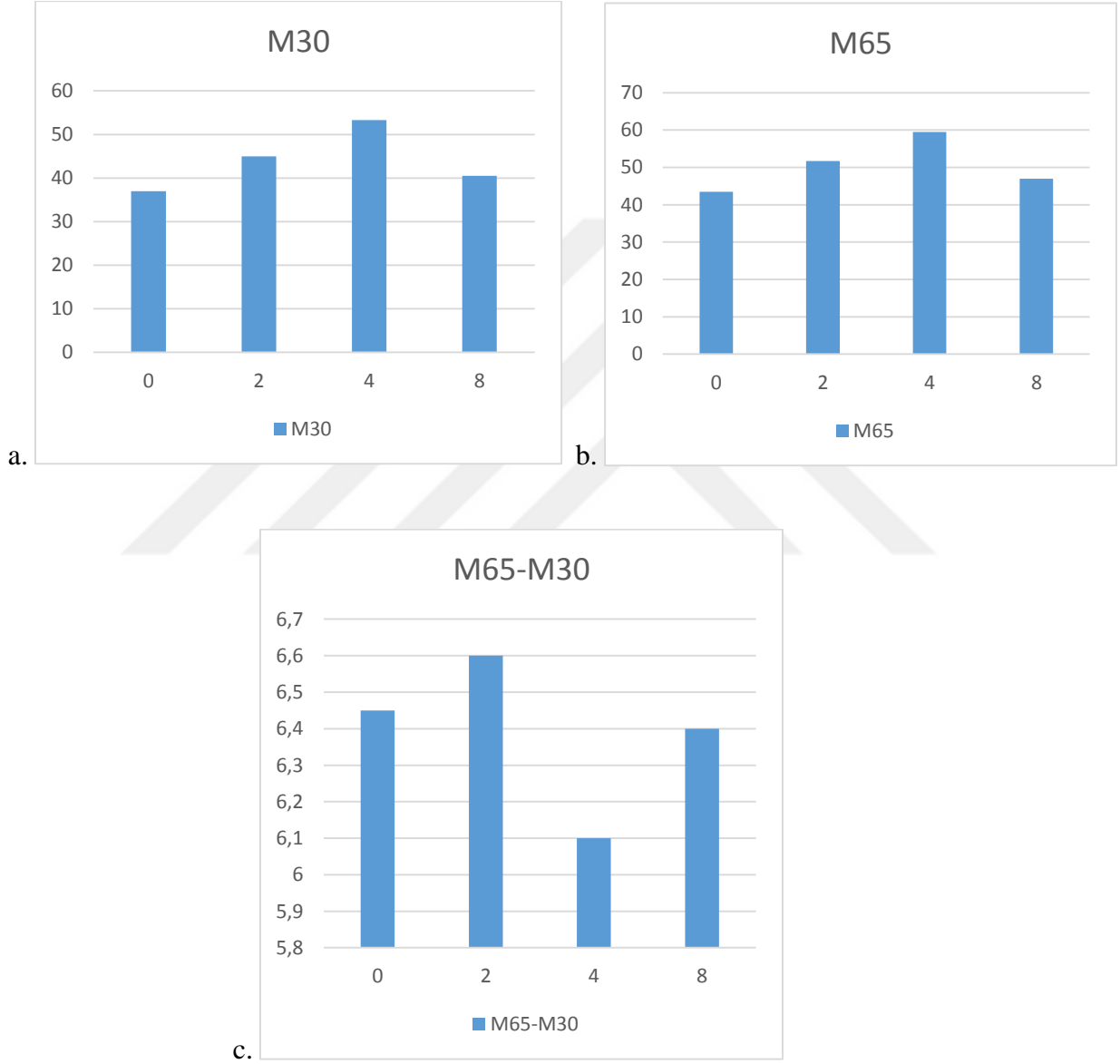
Hastaların 0 (kemoterapiye başlamadan), 2, 4 ve 8. kür tedavileri sonrası bakılan M30, M65 ve M65-30 (Nekroz) değerlerinin sonuçları Tablo-9 gösterilmiştir. M30 ve M65'in kürler arasındaki dağılımı anlamlı iken ( $p<0.05$ ), M65-30'un kürler arasındaki dağılımı anlamlı bulunamamıştır ( $p=0.95$ ).

**Tablo 9.** M30, M65 ve M65-30 (Nekroz) sonuçlarının kürler arasındaki dağılımı

	0	2. Kür	4. Kür	8. Kür
<b>M30</b>	37 ± 11.6	45 ± 13	53.3 ± 14.5	40.5 ± 11.4
<b>M65</b>	43.5 ± 12	51.7 ± 13.5	59.5 ± 14.9	47 ± 12.1
<b>M65-30</b>	6.45 ± 3.2	6.6 ± 3.2	6.1 ± 3.2	6.4 ± 3.1

Grafiksel olarak M30, M65 ve M65-30 sonuçlarına bakıldığında ise M30 ve M65 değerlerinde kemoterapiye başlamadan önce alınan kan sonuçlarından 4. küre kadar progresif bir artma varken 8. kürde azalma tespit edilmiştir. M65-30 incelendiğinde ise 4. kürdeki azalmayı 8. kürde bir artma izlemiştir (Grafik-1).





**Grafik 1.** M30(a), M65(b) ve M65-30(c) düzeylerinin kürlerdeki dağılımı

M30 M65 ve M65-30 değerlerinin kürler arasındaki dağılımı premenopoz ve postmenopoz hastalar arasında karşılaştırıldığında anlamlı fark tespit edilememiştir (Tablo 10-12). Patoloji sonuçlarından alınan östrojen reseptörü, progesteron reseptörü ve c-Erb-2 sonuçları pozitif ve

negatif olanlarda ve benzer şekilde hastalar Ki-67 %20'nin altında ve üstünde olanlar şeklinde gruplandırılarak M30, M65 ve M65-30 değerlerine bakıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Operasyon sonrası hastaların patolojilerinden elde edilen verilerden grade 1-2 olanlar bir grup grade 3 olanlar ayrı bir grup yapıp M30, M65 ve M65-30 düzeyleri karşılaştırıldığında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Patolojik-T boyutlarına göre T0-T1 olanlar ile T2-T3 olan hastaların M30, M65 ve M65-30 değerleri karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmemiştir. Benzer şekilde patolojik-N durumuna göre; N0-N1 olan hastalar ile N2-N3 olan hastaların M30, M65 ve M65-30 düzeylerinin kürler arasındaki seyri karşılaştırıldığında M65 ile anlamlı bir ilişki tespit edilmişken ( $p=0.04$ ) diğerleri ile anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Hastaların kemoterapiye cevapları radyolojik olarak RECIST 1.1 kriterlerine göre değerlendirilip stabil olan hastalar ile tam ya da parsiyel yanıtı olan hastaların M30, M65 ve M65-30 değerlerinin kürler arasındaki dağılımı karşılaştırıldığında anlamlı bir ilişki görülmemiştir.

**Tablo 10.** M30 sonuçları

<b>M 30</b>	<b>KT öncesi</b>	<b>2. KÜR</b>	<b>4. KÜR</b>	<b>8. KÜR</b>	<b>P</b>
<b>Menopoz</b>					
Premenopoz	38.2 ±13.5	47.1 ± 14.5	54.5 ±15.9	41.6 ±12.9	0.24
Postmenopoz	34.3 ± 5.2	39.9 ± 7.4	50.1 ±11.4	38 ± 7.3	
<b>ER</b>					
Pozitif	37.1 ±11.2	45.2 ± 13.5	54.1 ±14.2	40.7 ±10.9	0.75
Negatif	36.5 ±13.3	44.7 ± 11.9	50.7 ±15.8	39.9 ±13.3	
<b>PR</b>					
Pozitif	38.5 ±13.6	46.7 ± 14.9	54.7 ±14.9	42.1 ±12.5	0.21
Negatif	33.7 ± 3.6	41.4 ± 6.5	50.2 ±13.6	37.2 ± 7.8	
<b>c-Erb-2</b>					
Pozitif	37.3 ±13.7	42.7 ± 12	53 ± 16. 1	41.5 ±11.4	0.92
Negatif	36.9 ±11.1	45.7 ± 13.4	53.4 ±14.3	40.3 ±10.3	
<b>Ki-67</b>					
<%20	38.8 ±13.4	42.9 ± 14.1	51.1 ±15.2	40.8 ±13.3	0.87
>%20	36.4 ±11.2	45.6 ± 12.9	53.9 ±14.5	40.5 ± 11	
<b>Grade</b>					
1- 2	40.9 ±14.8	47.2 ±15.6	59.2 ±15.8	42.5 ±14.2	0.3
3	33.8 ± 5.9	42.4 ±10.6	50.3 ±13.1	40.7 ± 9.7	
<b>Patolojik-T</b>					
T0-T1	35.6 ± 9	44.6 ± 12.9	53.6 ±14.4	38.1 ±8.9	0.19
T2-T3	41.1 ±16.7	47.8 ± 15.6	56.4 ±15.7	46.6 ±14.9	
<b>Patolojik-N</b>					
N0-N1	36.8 ±11.4	46.1 ± 12.8	55.5 ±14.2	39.7 ±10.5	0.08
N2-N3	38.9 ±14.3	44.7 ± 16.1	52.5 ±16.2	43.9 ±14.4	
<b>Kt Cevabı</b>					
Stabil	36.5 ± 11	42.2 ± 10.2	52 ± 14.7	41.3 ±11.7	0.7
Tam/parsiyel yanıt	37.2 ± 12	46.6 ± 14.4	54 ± 15	40.1 ±11.4	

**Tablo 11. M65 sonuçları**

<b>M 65</b>	<b>KT öncesi</b>	<b>2. KÜR</b>	<b>4. KÜR</b>	<b>8. KÜR</b>	<b>P</b>
<b>Menopoz</b>					
Premenopoz	44.2 ±14.1	53.4 ± 15.3	60 ± 16.5	47.9 ± 14	0.42
Postmenopoz	41.9 ± 6	47.4 ± 7.6	57.7 ± 11.7	44.9 ± 7	
<b>ER</b>					
Pozitif	43.9 ±11.5	52 ± 14.1	60.3 ± 14.6	47.5 ± 12.2	0.65
Negatif	42.3 ±14.4	51 ± 12.3	56.6 ± 16.5	45.7 ± 14.7	
<b>PR</b>					
Pozitif	45.4 ± 14	53.7 ± 15.5	61.1 ± 15.5	48.7 ± 13.3	0.18
Negatif	39.5 ± 4.5	47.7 ± 6.6	56 ± 13.5	43.5 ± 8.7	
<b>c-Erb-2</b>					
Pozitif	45.6 ±14.8	50.5 ± 12.6	61.3 ± 18.1	49 ± 15.7	0.75
Negatif	42.9 ±11.4	52.1 ± 14	58.9 ± 14.2	46.5 ± 11.2	
<b>Ki-67</b>					
<%20	43.9 ± 12	48.5 ± 12.7	56.1 ± 13.5	46.2 ± 12	0.63
>%20	43.4 ±12.3	52.6 ± 13.8	60.4 ± 15.4	47.3 ± 12.4	
<b>Grade</b>					
1 ya da 2	47.8 ±15.1	54.5 ±15.6	65.9 ±16.1	49.2 ±14.5	0.31
3	41.1 ± 7	49.5 ±14.5	55.9 ± 12	47.8 ±11.7	
<b>Patolojik-T</b>					
T0-T1	42.7 ± 9.9	51.8 ± 13.8	60.2 ± 14.9	44.9 ± 10.1	0.17
T2-T3	46.9 ± 17	53.9 ± 15.6	61.8 ± 15.6	52.5 ± 15.5	
<b>Patolojik-N</b>					
N0-N1	43.6 ±12.4	53 ± 13	62.3 ± 15.2	46.3 ± 11.4	0.04*
N2-N3	45.2 ±13.5	51.4 ± 17.3	57.3 ± 14.6	50.1 ± 12.5	
<b>KT Cevabı</b>					
Stabil	44 ± 12.5	49.3 ±11.7	59.4 ± 17.2	48.1 ± 12.	0.92
Tam/parsiyel yanıt	43.3 ± 12	53.2 ± 14.5	59.5 ± 13.8	46.4 ± 12.1	

**Tablo 12. M65-30 sonuçları**

<b>M 65-30</b>	<b>KT öncesi</b>	<b>2. KÜR</b>	<b>4. KÜR</b>	<b>8. KÜR</b>	<b>P</b>
<b>Menopoz</b>					
Premenopoz	6.1 ± 3.3	6.3 ± 3.7	5.5 ± 3.2	6.3 ± 3.3	0.2
Postmenopoz	7.6 ± 3.1	7.5 ± 2	7.6 ± 3.1	6.8 ± 2.8	
<b>ER</b>					
Pozitif	6.8 ± 3.4	6.8 ± 3.6	6.3 ± 3.4	6.7 ± 3.2	0.51
Negatif	5.8 ± 2.7	6.3 ± 2.1	5.9 ± 2.6	5.8 ± 2.6	
<b>PR</b>					
Pozitif	6.9 ± 3.3	6.9 ± 3.7	6.3 ± 3.4	6.6 ± 3.2	0.51
Negatif	5.8 ± 3	6.2 ± 2.2	5.8 ± 3	6.3 ± 3	
<b>c-Erb-2</b>					
Pozitif	8.3 ± 3.4	7.8 ± 3	8.3 ± 3.3	7.5 ± 3.1	0.08
Negatif	6 ± 3	6.4 ± 3.3	5.6 ± 2.9	6.2 ± 3.1	
<b>Ki-67</b>					
<%20	5.1 ± 3.1	5.6 ± 2.8	5.1 ± 3.1	5.4 ± 3.2	0.17
>%20	7 ± 3.2	7 ± 3.4	6.5 ± 3.2	6.8 ± 3	
<b>Grade</b>					
1 ya da 2	6.8 ± 3.2	7.3 ± 3	6.7 ± 3.2	6.6 ± 2.9	0.95
3	7.2 ± 4.3	7.1 ± 4.8	5.7 ± 4.4	7.1 ± 4.4	
<b>Patolojik-T</b>					
T0-T1	7.1 ± 3.3	7.1 ± 3.4	6.6 ± 3.4	6.8 ± 3.2	0.31
T2-T3	5.7 ± 3	6.1 ± 3.2	5.4 ± 2.9	5.9 ± 3.1	
<b>Patolojik-N</b>					
N0-N1	6.8 ± 3.1	6.9 ± 2.8	6.8 ± 3.1	6.6 ± 2.9	0.48
N2-N3	6.3 ± 3.7	6.7 ± 4.5	4.9 ± 3.3	6.2 ± 3.7	
<b>KT Cevabı</b>					
Stabil	7.4 ± 3.5	6.8 ± 3.2	7.4 ± 3.5	6.9 ± 3.3	0.26
Tam/parsiyel yanıt	6 ± 3	6.6 ± 3.4	5.4 ± 2.8	6.3 ± 3	

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Prediktif ve prognostik biyokimyasal markerlar, hastaları tedavi öncesi sınıflandırmak, en etkin tedaviyi seçmek ve klinik yanıtı mümkün olduğunca erken izlemek için gereklidir [75]. Dolaşımdaki tümör ilişkili biyomarkerlar, nükleozom ve sitokeratin parçaları gibi hücre ölümü markerları, tümörlerde sistemik kemoterapi ve radyoterapi sırasında terapötik cevabı tahmin etmek için önemli oldukları gösterilmiştir [76]. Tümör hücrelerinden salınan sitokeratinlerin, epitel orijinli malignitesi olan hastalarda klinik progresyonu değerlendirmek için kullanılabilecek serum tümör belirteçleri olduğu düşünülmektedir [77]. Bu sitokeratinlerden biri olan sitokeratin 18 (CK18)'in apoptotik hücre ölümünü M30, total hücre ölümünü ise M65 monoklonal antikoru gösterir [78]. Neoadjuvan kemoterapi alacak olan meme kanserli hastalarda cevabı predikte eden biyomarkere ihtiyaç vardır [3]. Tümörün tedaviye cevabının apoptozis veya farklı tekniklerle değerlendirilmesi bireyselleştirilmiş neoadjuvan kemoterapinin yapılmasını sağlayabilir [4]. Bu şekilde hem daha etkin farklı bir rejime geçme fırsatı doğarken hem de hastalar gereksiz ilaç toksisitesinden korunmuş olunur [3, 4].

Prospektif olarak yaptığımız çalışmaya neoadjuvan kemoterapi alan 41 hasta dahil edilmiştir. Hastalara ilk 4 kür antrasiklin içeren kemoterapi (FEC, AC ya da EC) protokolleri verilmiş olup daha sonrasında haftalık paklitaksel ile 12 hafta boyunca (4 kür) tedaviye devam edilmiştir. Bu çalışmada kemoterapi öncesi, 2, 4 ve 8. kürden 21 gün sonra M30, M65 ve M65-30 (Nekroz) ölçümleri yapılmıştır. M30 ve M65'in kürler arasındaki dağılımı anlamlı iken ( $p < 0.05$ ), M65-30'un kürler arasındaki dağılımında anlamlı ilişki tespit edilememiştir ( $p = 0.95$ ).

Literatürde meme kanseri üzerine öncü olan Ueno ve ark. tarafından yapılan çalışmada meme kanserli hücrelere kültür ortamında apoptozu indüklemek için paklitaksel verilmiş [79]. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında M30 düzeylerinde 48. saatte belirgin bir artış ( $p = 0.049$ ) tespit edilmiş. İkinci yaptıkları deney grubunda ise hücrelere ısı tedavisi uygulandığında hücrelerde canlılık kaybına neden olduğu ve M30 antikorunun artmadığı gözlemlenmiştir. Aynı çalışmada 152 metastazı olmayan ve 49 nüks meme kanserli toplam 201 hasta ile 82 sağlıklı gönüllüde tedavi

öncesi alınan kanlarında M30 çalışılmış. Primer kanserli hastaların sağlıklı kontrollerden daha yüksek M30 antikör düzeylerinin ( $P = 0.0001$ ) olduğu tespit edilmiş. Nüksü olan hastalarda ise sağlıklı kontroller ve nüksü olmayan meme kanserli hastalara göre M30 seviyelerinin daha fazla olduğu gösterilmiş (sırasıyla  $p < 0.0001$  ve  $P = 0.008$ ). Ayrıca nüksü hastalarda performans durumu ( $p=0.014$ ) ve metastatik organ sayısı ( $p=0.041$ ) ile M30 arasında korelasyon bulunmuş. Tutulan organ sayısı ile bir ilişki olduğu gibi farklı major nüks alanları arasında da M30 düzeyleri arasında anlamlı bir fark tespit edilmiş ( $p=0.02$ ). Cilt tutulumu olanlarda olmayanlara göre M30 seviyelerinin daha yüksek olduğu gösterilmiş ( $p=0.016$ ). Östrojen reseptörü (ER) negatif hastalarda M30 düzeyleri ER pozitif hastalara göre daha yüksek ( $p=0.04$ ) gözlemlenmiş olmasına rağmen menopoz durumu, tümör boyutu, histolojik tip, progesteron reseptörü (PR) ve lenf nodu sayısı gibi prognostik faktörlerle M30 arasında anlamlı bir ilişki görülemedi [79]. Biven ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada rekürren meme kanseri olan 32 hastanın kemoterapi cevabı ve M30 arasındaki ilişki değerlendirilmiş [80]. Kemoterapiye cevap verenlerdeki artışların cevap vermeyen hastalara göre daha yüksek olduğu bulunmuş ( $p=0.0001$ ).

Ulukaya ve ark. tarafından yapılan farklı bir çalışmada 37 meme kanserli (non-metastatik 32, metastatik 5 hasta), 35 benign meme hastalığı olan ve 34 sağlıklı gönüllü alınarak M30 düzeyleri araştırılmış [81]. Metastatik hastalar ile kontrol grubu karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmemişken ( $p < 0.05$ ), benign ve non-metastatik hastalar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark tespit edilememiş. Hastalara 4 kür FEC ya da epirubisin ve dosataksel tedavisi neoadjuvan olarak verilmiş. 11 non-metastatik hastadan ilk kemoterapiye başlamadan ve 24-48. saatlerde kan örnekleri alınmış. Bazal M30 düzeyleri ile 24. saat karşılaştırıldığında anlamlı bir fark tespit edilmişken, bazale göre daha yüksek M30 seviyeleri olmasına rağmen 48. saat bazal ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülemedi. Bu hastalar kemoterapiye cevaplarına göre regrese, stabil ve progrese olmak üzere 3 grup yapıldığında, stabil (n:4) ya da progrese (n:1) hastalığı olanda M30 değerlerinde önemli bir artış gözlenmezken regrese olan (n:5) hastalarda 3 katı kadar artış olduğu görülmüş. Olgu sayıları düşük olduğu için istatistiksel değerlendirilmemiş. ER negatif (n:8) olanlar ER pozitif (n:14) olanlarla, PR negatif (n:4) olanlar PR pozitif (n:18) olanlarla karşılaştırıldığında negatiflerde M30 değerleri daha yüksek gözlenmiş ( $p < 0.05$ ).

Demiray ve ark. neoadjuvan kemoterapi alacak olan 42 meme kanseri olan hastada kemoterapi öncesi ve kemoterapi sonrası 24-48. saatlerdeki M30 düzeyleri ile antrasiklin içeren 4 kür kemoterapi sonrası cevap arasındaki ilişkiyi değerlendirmişlerdir [4]. Kemoterapiye cevap verenlerin M30 düzeyleri 24 ve 48. saatlerde istatistiksel olarak anlamlı artış gösterirken ( $p<0.001$ ;  $p=0.004$ ), yanıt vermeyenlerde anlamlı artış gözlenmemiş. Grade 3 tümörlerde başlangıç M30 düzeyleri grade 1-2 olan tümörlere göre daha yüksek bulunmuş ( $p<0.001$ ) olmasına rağmen klinik evre, aksiller tutulum, ER ve PR ile M30 arasında korelasyon gösterilememiş. Bir başka çalışmada ise Taş ve ark. 80 meme kanserli hastada metastatik hastalığı bulunanlarda M30 ve M65 seviyelerinin, metastatik olmayanlara göre daha yüksek olduğunu tespit etmişler (sırasıyla  $p=0.017$  ve  $p=0.003$ ) [82]. Bu çalışmada M30 ve M65 serum seviyeleri ile kemoterapiye cevap arasında bir korelasyon bulunmamış. M30 ve M65 düzeyleri ile sağkalım arasında anlamlı ilişki tespit edilememiş.

Germ hücreli testis kanserli 34 hastanın M30 ve M65 seviyelerinin, klinikte kullanılan rutin belirteçlerdeki (LDH, AFP, B-HCG) değişimlerle kemoterapi kaynaklı değişikliklerin korele olduğu yansıtılmış [83]. BEP (Bleomisin, Etoposid, Sisplatin) protokolü 3 haftada bir 3 ya da 4 kür verilen hastalardan kemoterapiye başlamadan ve sonrasında ise 24 ve 48. saat ile 5, 7, 14 ve 21. günde alınan kanlarında kemoterapiye başladıktan 7 gün sonrasına kadar M30 ve M65 seviyelerinde anlamlı artış tespit edilmiş ( $p=0.026$ ,  $p=0.010$ ). Daha sonra bazale göre karşılaştırıldığında M65 düzeylerinde 14 ve 21. günlerde ( $p=0.021$ ,  $p=0.016$ ), M30'da ise 14. günde ( $p=0.008$ ) anlamlı bir azalma görülmüş. Ayrıca hastalar IGCCC rehberine göre prognostik (iyi, orta, kötü) olarak gruplandırıldığında iyi ve orta dereceli prognoz grubundaki hastalarda tedavinin seyri boyunca M30 ve M65 seviyelerinde tekrarlanan ilaçla uyarılan artışlar sergilerken, kötü prognostik gruptaki hastalarda M30 ve M65 düzeyleri başlangıçta çok yüksek olmasına rağmen ilk kemoterapiden sonra hızla azalmıştır. Az sayıda seçilmiş hastada yapılan araştırmada M65 ve M30 piklerinin kemoterapi ile indüklenen tümör hücresi ölümü için spesifik olduğunun kanıtlanamayacağı ve gözlenen piklerin normal epitel dokusunda kemoterapi kaynaklı toksisite sonucu oluşması dışlanamayacağı belirtilmiş [83].

Bir başka çalışmada ise 51 lokal, 28 metastatik meme kanserli ve 31 sağlıklı gönüllüde M30 dahil olmak üzere apoptotik biyolojik belirteçlerin seri kan düzeyleri prospektif olarak



değerlendirilmiş [3]. Kanlar 1 ve 2. Küre başlamadan önce ve tedavinin sonunda bir kısım hastada ise 1. Kürden 8 gün sonra alınmış. M30 düzeyleri metastatik meme kanserli hastalarla sağlıklı kişiler karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek tespit edilmişken ( $p=0.014$ ) bu ilişki lokal meme kanserli hastalarla görülmemiş. Neoadjuvan kemoterapi cevaplarına göre hastalar tam ve parsiyel cevabı olanlar ile stabil hastalığı olanların M30 değerleri karşılaştırıldığında anlamlı bir fark tespit edilememiş.

Tümör biyolojisindeki değişiklikler ve sitotoksik tedavinin etkileri, tedaviden etkilenen serum biyomarkerlarının seri ölçümleriyle izlenebilir [3]. Çalışmamızda yaptığımız seri ölçümlerde M30, M65 ve M65-30 değerleri ile diğer prognostik belirteçler karşılaştırılmıştır. M65 ile patolojik-N arasında anlamlı bir ilişki ( $p=0.04$ ) bulunmuş. Uneo ve ark. [79] ER negatif olanlarda ER pozitif olanlara göre M30, Ulukaya ve ark. [81] ise hem ER hem PR de ayrı ayrı negatif olanlarda pozitif olanlara göre M30 düzeyleri yüksek bulunmuş olmasına rağmen bizim çalışmamızda M30 ve M65 ile ER ve PR negative olanlarla pozitif olanlar arasında bir ilişki tespit edilememiştir. Ayrıca çalışmamızda M30, M65 ve M65-30 ile menopoz durumu, grade, Patolojik-T ve kemoterapiye cevap arasında bir ilişki bulunamamıştır. Demiray ve ark. [4] neoadjuvan kemoterapi alacak meme kanserli hastalardan kemoterapiye başlamadan önce ve başladıktan 24-48 saat sonra alınan kanlardan M30 düzeylerini, de Haas. ve ark. [83] germ hücreli testis kanseri olan hastalarda kemoterapiye başlamadan ve başladıktan 24-48 saat sonra ve 5, 7, 14, 21. günlerde alınan kanlarda hem M30 hem de M65 seviyelerini, Stoetzer ve ark. ise meme kanserli hastalardan 1. ile 2. küre başlamadan, tedavinin sonunda ve 1. kürden 8 gün sonra M30 düzeylerini incelemişler. Yaptığımız çalışmada ise biz hastalarda kemoterapiye başlamadan önce ve 2, 4, 8. kürden 21 gün sonra M30 ve M65 düzeylerini araştırdık. M30 ve M65 düzeylerinde 4. küre kadar bir artış varken 8. kürde bir azalma, M65-30 da ise 4. kürdeki azalmayı takip eden 8. kürde bir artma gözlenmiştir. Burada hücre ölüm şeklinin değişmiş olabileceği düşünülerek M65-30 sonuçlarına bakılmış ama anlamlı bulunamamıştır. 4. küre kadar antrasiklin grubu kemoterapötik ajanlar verilmişken daha sonra paklitaksel ile tedaviye devam edilmiştir. Son kürde M30 ve M65 düzeylerindeki azalma farklı bir ilaç ile tedaviye geçilmesi ve ilacın etki mekanizması değiştiğinden apoptoz gelişme süresi etkilendiği için olabilir. Olofsson ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada dosataksel veya FEC tedavisi (ortalama 3-8 kür) sırasında 61 meme kanseri

hastasından (43 hasta neoadjuvan, 18 hasta adjuvan) alınan serumda M30 ve M65 düzeylerine bakılmış [6]. FEC tedavisi dosataksel ile karşılaştırıldığında M30 ve M65 düzeylerinde daha hızlı artış gözlemlenmiş. 24. saatte FEC tedavisi alanlarda hem M30 hem de M65 düzeylerinde anlamlı artış (her iki  $p < 0.00001$ ) görülürken, dosataksel ile tedavi edildiğinde ise 72. saatte M30 düzeyinde anlamlı artış ( $p = 0.0089$ ) varken M65 düzeyinde anlamlı ilişki tespit edilememiştir. FEC tedavisi alanlarda baskın bir şekilde M65 artışı görülürken M30 düzeylerinde bir heterojenite olması farklı tümörlerde farklı hücre ölümüne işaret etmektedir. Kemoterapötik ajanlar apoptozise genellikle yavaş kinetik etkiyle (24 saatten uzun) neden olurlar. Paklitaksel CK-18 bölünmesini 12 saatten fazla inkübasyon döneminden sonra indükler [80]. Çalışmamızda gözlemlenen 8. Kürdeki M30 ve M65 seviyelerindeki azalmada kemoterapi rejiminin değişmiş olması, tümör boyutunda meydana gelen küçülmeye bağlı salınan sitokeratinlerdeki azalma, tümör dokusundaki hipoksiye bağlı gelişen ilaç direnci veya ulaşan ilaç konsantrasyonu etkili olabilir. Ayrıca tüm kanların plazmada değil serumda değerlendirilmesi, santrifüj edilene kadar oda sıcaklığında ve daha sonra  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de numunenin bekleme süresinde elde edilen sonuçları etkileyebilecek önemli parametrelerdir.

Sonuç olarak neoadjuvan meme kanseri tedavisinde M65 ve M30'un prediktif olabilmesi için kemoterapi cevabına göre bu markerların düzeyleri farklılık göstermelidir. Bu bize M30 ve M65'in bir cevap belirteci olarak kullanılabilmesi için cevaplanmayı bekleyen halen bazı hususların olduğunu göstermiştir. Çalışmamızdaki hasta sayısının azlığı sonuçları etkilemiş olabilir. Ama çalışmamız literatüre katkıda bulunmuştur. Bununla birlikte daha geniş hasta grubunda seri M30 ve M65 ölçümleri meme kanserinde bu belirteçlerin klinik önemini göstermek için gereklidir.

## 6. KAYNAKLAR

1. Siegel, R., D. Naishadham, and A. Jemal, *Cancer statistics, 2013*. CA Cancer J Clin, 2013. 63(1): p. 11-30.
2. Aydiner, A. and E. Topuz, *Meme kanseri tanı tedavi takip*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2007.
3. Stoetzer, O.J., et al., *Prediction of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients by circulating apoptotic biomarkers nucleosomes, DNase, cytokeratin-18 fragments and survivin*. Cancer Lett, 2013. 336(1): p. 140-8.
4. Demiray, M., et al., *Response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer could be predictable by measuring a novel serum apoptosis product, caspase-cleaved cytokeratin 18: a prospective pilot study*. Cancer Invest, 2006. 24(7): p. 669-76.
5. Ricci, M.S. and W.-X. Zong, *Chemotherapeutic approaches for targeting cell death pathways*. The oncologist, 2006. 11(4): p. 342-357.
6. Olofsson, M.H., et al., *Cytokeratin-18 is a useful serum biomarker for early determination of response of breast carcinomas to chemotherapy*. Clin Cancer Res, 2007. 13(11): p. 3198-206.
7. Ueno, T., et al., *Measurement of an apoptotic product in the sera of breast cancer patients*. European Journal of Cancer, 2003. 39(6): p. 769-774.
8. Jemal, A., et al., *Global cancer statistics*. CA: a cancer journal for clinicians, 2011. 61(2): p. 69-90.
9. Parkin, D.M., et al., *Estimating the world cancer burden: Globocan 2000*. International journal of cancer, 2001. 94(2): p. 153-156.
10. *American Cancer Society, Cancer Facts and Figures 2013 Breast; 9-11*. 01.11.2013.
11. Henderson, B.E., R. Ross, and L. Bernstein, *Estrogens as a cause of human cancer: the Richard and Hinda Rosenthal Foundation award lecture*. Cancer research, 1988. 48(2): p. 246-253.

12. della Rovere, G.Q., J.R. Benson, and M. Nava, *Oncoplastic and reconstructive surgery of the breast*. 2010: CRC Press.
13. Futreal, P.A., et al., *BRCA1 mutations in primary breast and ovarian carcinomas*. SCIENCE-NEW YORK THEN WASHINGTON-, 1994: p. 120-120.
14. Miki, Y., et al., *A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1*. Science, 1994. 266(5182): p. 66-71.
15. Wooster, R., et al., *Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12-13*. Science, 1994. 265(5181): p. 2088-90.
16. Clark, G.M., C.K. Osborne, and W.L. McGuire, *Correlations between estrogen receptor, progesterone receptor, and patient characteristics in human breast cancer*. Journal of Clinical Oncology, 1984. 2(10): p. 1102-1109.
17. Hilsenbeck, S.G., et al., *Time-dependence of hazard ratios for prognostic factors in primary breast cancer, in Prognostic variables in node-negative and node-positive breast cancer*. 1998, Springer. p. 317-327.
18. Clavel-Chapelon, F. and M. Gerber, *Reproductive factors and breast cancer risk. Do they differ according to age at diagnosis?* Breast cancer research and treatment, 2002. 72(2): p. 107-115.
19. Harman, Ö., *Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Medikal Onkoloji Bölümü'ne BaĖvuran Meme Kanserli Hastalarda Risk Faktörlerinin Dağılımı (Tez)*. 2007, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi: Ankara.
20. Anonim. *Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast Cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data on 53297 women with breast cancer and 100239 women without breast cancer from 54 epidemiological studies*. Lancet 1996. 47:1713-1727.
21. Stoetzer, O.J., et al., *Prediction of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients by circulating apoptotic biomarkers nucleosomes, DNase, cytokeratin-18 fragments and survivin*. Cancer letters, 2013. 336(1): p. 140-148.
22. Miller, W.R., *Oestrogens and breast cancer: biological considerations*. Br Med Bull, 1991. 47(2): p. 470-83.

23. Olson, J.E., et al., *Bilateral oophorectomy and breast cancer risk reduction among women with a family history*. *Cancer detection and prevention*, 2004. 28(5): p. 357-360.
24. Cho, E., et al., *Red meat intake and risk of breast cancer among premenopausal women*. *Archives of internal medicine*, 2006. 166(20): p. 2253-2259.
25. Taylor, E., et al., *Meat consumption and risk of breast cancer in the UK Women's Cohort Study*. *British journal of cancer*, 2007. 96(7): p. 1139-1146.
26. Kushi, L.H., et al., *Intake of vitamins A, C, and E and postmenopausal breast cancer. The Iowa Women's Health Study*. *Am J Epidemiol*, 1996. 144(2): p. 165-74.
27. Lin, J., et al., *Vitamins C and E and beta carotene supplementation and cancer risk: a randomized controlled trial*. *J Natl Cancer Inst*, 2009. 101(1): p. 14-23.
28. Lee, I.-M., *Physical activity and cancer prevention--data from epidemiologic studies*. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 2003. 35(11): p. 1823-1827.
29. Bernstein, L., et al., *Physical exercise and reduced risk of breast cancer in young women*. *Journal of the National Cancer Institute*, 1994. 86(18): p. 1403-1408.
30. Terry, M.B., et al., *Lifetime alcohol intake and breast cancer risk*. *Annals of epidemiology*, 2006. 16(3): p. 230-240.
31. Suzuki, R., et al., *Alcohol and postmenopausal breast cancer risk defined by estrogen and progesterone receptor status: a prospective cohort study*. *Journal of the National Cancer Institute*, 2005. 97(21): p. 1601-1608.
32. Sarıtaş, A.G., *Lokal İleri Evre Meme Kanserli Hastalarda, Neoadjuvan Kemoterapinin VEGF(Vasküler Endotelial Growth Faktör) ve Ki-67 Değişimine Etkisi*, in *Genel Cerrahi*. 2013, Çukurova Üniversitesi: Adana.
33. Rosen, P.P., *Rosen's breast pathology*. 2001: Lippincott Williams & Wilkins.
34. Subaşı, V., *Meme Kanseri Olgularında Geç Çekim PET/CT Bulgularının Klinik ve İmmünohistokimyasal Prognostik Faktörlerle İlişkisi*, in *Nükleer Tıp*. 2014, İnönü Üniversitesi: Malatya
35. Damjanov, I. and J. Linder, *Anderson's Pathology-Vol 1*. 1996.
36. Edge, S.B. and C.C. Compton, *The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM*. *Annals of surgical oncology*, 2010. 17(6): p. 1471-1474.

37. Crowe, J.P., et al., *Primary tumor size: relevance to breast cancer survival*. Archives of Surgery, 1992. 127(8): p. 910-916.
38. Joensuu, H., S. Toikkanen, and P.J. Klemi, *DNA index and S- phase fraction and their combination as prognostic factors in operable ductal breast carcinoma*. Cancer, 1990. 66(2): p. 331-340.
39. Ünal, C., *Meme Hastalıkları*. 2001: Nobel Tıp Kitabevleri: 10-34.
40. Bryant, J., et al., *S-phase fraction combined with other patient and tumor characteristics for the prognosis of node-negative, estrogen-receptor-positive breast cancer*, in *Prognostic variables in node-negative and node-positive breast cancer*. 1998, Springer. p. 47-61.
41. Clark, G.M., *Interpreting and integrating risk factors for patients with primary breast cancer*. MONOGRAPHS-NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2001. 30: p. 17-21.
42. Clark, G.M., et al., *Prediction of relapse or survival in patients with node-negative breast cancer by DNA flow cytometry*. New England Journal of Medicine, 1989. 320(10): p. 627-633.
43. Brennan, P.J., et al., *HER2/neu: mechanisms of dimerization/oligomerization*. Oncogene, 2000. 19(53).
44. Catlett-Falcone, R., W.S. Dalton, and R. Jove, *STAT proteins as novel targets for cancer therapy*. Current opinion in oncology, 1999. 11(6): p. 490.
45. Reed, W., et al., *The prognostic value of p53 and c- erb b- 2 immunostaining is overrated for patients with lymph node negative breast carcinoma*. Cancer, 2000. 88(4): p. 804-813.
46. Monyak, D. and S. Levitt, *Breast: locally advanced (T3 and T4) and recurrent tumors*. Principles and practice of radiation oncology. Philadelphia: Lippincott, 1992: p. 948-69.
47. Sayhan, E.S., *Trakya Üniveristesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi'ne 2007-2011 Yılları Arasında Başvuran Meme Kanseri Tanılı Hastaların Değerlendirilmesi in Halk Sağlığı*. 2013, Trakya Üniversitesi: Edirne.
48. Bozfakioğlu, Y. and O. Asoğlu, *Meme kanseri*. 2006, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi. 277-86.

49. Ku, N.-O., et al., *The cytoskeleton of digestive epithelia in health and disease*. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology, 1999. 277(6): p. G1108-G1137.
50. Torosian, M., *Breast cancer: a guide to detection and multidisciplinary therapy*. 2002: Humana Press.
51. Güler, N., et al., *LOKAL İLERİ MEME KANSERİ 2010 İSTANBUL MEME KANSERİ KONSENSUS TOPLANTISI*. Meme Sağlığı Dergisi/Journal of Breast Health, 2011. 7(2).
52. Kumar, V., R.S. Cotran, and S.L. Robbins, *1995, Temel Patoloji*. 1995, İstanbul: Yüce Yayın.
53. Hengartner, M., *The Biochemistry Of Apoptosis*. 2000. 407:770-6.
54. Grimsley, C. and K.S. Ravichandran, *Cues for apoptotic cell engulfment: eat-me, don't eat-me and come-get-me signals*. Trends in cell biology, 2003. 13(12): p. 648-656.
55. Stepień, A., M. Izdebska, and A. Grzanka, *The types of cell death*. Postępy higieny i medycyny doświadczalnej (Online), 2007. 61: p. 420.
56. Batu, J., *Kolorektal Kanser Hastalarının Kemoterapiye Yanıtının İzleminde Serum Sitokeratin 18'in Öneminin Araştırılması*, in *Biyokimya Anabilim Dalı*. 2008, Dokuz Eylül: İzmir.
57. Lossi, L. and A. Merighi, *In vivo cellular and molecular mechanisms of neuronal apoptosis in the mammalian CNS*. Progress in neurobiology, 2003. 69(5): p. 287-312.
58. Öktem, S., M.H. Özhan, and D. Özol, *Apoptozisin önemi*. Toraks Dergisi, 2001. 2(1): p. 91-95.
59. Thompson, C.B., *Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease*. Science, 1995. 267(5203): p. 1456.
60. Hirose, Y., et al., *Expression of bcl- 2, bax, and bcl- XL proteins in azoxymethane-induced rat colonic adenocarcinomas*. Molecular carcinogenesis, 1997. 19(1): p. 25-30.
61. Afford, S. and S. Randhawa, *Apoptosis*. Mol Pathol, 2000. 53(2): p. 55-63.
62. Behnia, M., K.A. Robertson, and W.J. Martin, *Lung infections: role of apoptosis in host defense and pathogenesis of disease*. CHEST Journal, 2000. 117(6): p. 1771-1777.
63. Cooper, G., *Programmed cell death. The Cell. Chapter 14*. 592-96.

64. GÜLEŞ, Ö. and E. Ülker, *Apoptozun Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler*. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 2008. 19(2): p. 73-78.
65. Çiftçi, H., *Akciğer Kanserlerinde NGAL Ekspresyonu ve Apoptozisle İlişkisi*, in *Biyokimya Anabilim Dalı*. 2014, Selçuk Üniversitesi: Konya.
66. Ueno, T., M. Toi, and S. Linder, *Detection of epithelial cell death in the body by cytokeratin 18 measurement*. Biomedicine & pharmacotherapy, 2005. 59: p. S359-S362.
67. Lazarides, E., *Intermediate filaments as mechanical integrators of cellular space*. Nature, 1980. 283(5744): p. 249-256.
68. Fuchs, E. and D.W. Cleveland, *A structural scaffolding of intermediate filaments in health and disease*. Science, 1998. 279(5350): p. 514-519.
69. Dhar, P., *Measuring tobacco smoke exposure: quantifying nicotine/cotinine concentration in biological samples by colorimetry, chromatography and immunoassay methods*. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 2004. 35(1): p. 155-168.
70. Moll, R., et al., *The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells*. cell, 1982. 31(1): p. 11-24.
71. Rydlander, L., et al., *Molecular Characterization of a Tissue- Polypeptide- Specific- Antigen Epitope and its Relationship to Human Cytokeratin 18*. European Journal of Biochemistry, 1996. 241(2): p. 309-314.
72. Sundström, B. and T. Stigbrand, *Cytokeratins and Tissue Polypeptide Antigen: review*. International Journal of Biological Markers, 1994; 9: 102-108, 1994.
73. Barak, V., et al., *Clinical utility of cytokeratins as tumor markers*. Clinical biochemistry, 2004. 37(7): p. 529-540.
74. Ku, N.-O. and M.B. Omary, *Effect of mutation and phosphorylation of type I keratins on their caspase-mediated degradation*. Journal of Biological Chemistry, 2001. 276(29): p. 26792-26798.
75. Beachy, S. and E. Repasky, *Using extracellular biomarkers for monitoring efficacy of therapeutics in cancer patients: an update*. Cancer Immunology, Immunotherapy, 2008. 57(6): p. 759-775.
76. Holdenrieder, S. and P. Stieber, *Clinical use of circulating nucleosomes*. Critical reviews in clinical laboratory sciences, 2009. 46(1): p. 1-24.



77. Linder, S., et al., *Determining tumor apoptosis and necrosis in patient serum using cytokeratin 18 as a biomarker*. Cancer letters, 2004. 214(1): p. 1-9.
78. Ozturk, B., et al., *Elevated serum levels of M30 and M65 in patients with locally advanced head and neck tumors*. International immunopharmacology, 2009. 9(5): p. 645-648.
79. Ueno, T., et al., *Measurement of an apoptotic product in the sera of breast cancer patients*. Eur J Cancer, 2003. 39(6): p. 769-74.
80. Biven, K., et al., *A novel assay for discovery and characterization of pro-apoptotic drugs and for monitoring apoptosis in patient sera*. Apoptosis, 2003. 8(3): p. 263-8.
81. Ulukaya, E., et al., *Chemotherapy increases caspase-cleaved cytokeratin 18 in the serum of breast cancer patients*. Radiol Oncol, 2011. 45(2): p. 116-22.
82. Tas, F., et al., *Clinical significance of serum M30 and M65 levels in patients with breast cancer*. Biomed Pharmacother, 2014. 68(8): p. 1135-40.
83. de Haas, E.C., et al., *Clinical evaluation of M30 and M65 ELISA cell death assays as circulating biomarkers in a drug-sensitive tumor, testicular cancer*. Neoplasia, 2008. 10(10): p. 1041-8.