

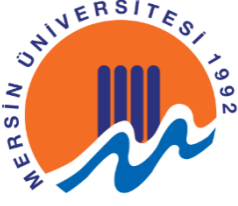
**T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

ERİŞKİN HASTALARDA DOKSORUBUSİNE BAĞLI KARDİYOTOKSİSİTEDE miRNA'LARIN ROLÜ

**Dr. Mustafa İLĞAN
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Emel SEZER**

MERSİN – 2020



**T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

ERİŞKİN HASTALARDA DOKSORUBUSİNE BAĞLI KARDİYOTOKSİSİTEDE miRNA'LARIN ROLÜ

**Dr. Mustafa İLĞAN
UZMANLIK TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Emel SEZER

**Bu tez, 2019-3-TP3-3673 kodlu proje olarak
Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi ve
P-TTOD-2020-58 kodlu proje olarak
Türk Tıbbi Onkoloji Derneği tarafından desteklenmiştir.**

MERSİN – 2020

TEŞEKKÜR

2016 yılında başladığım zorlu uzmanlık sürecimin ilk gününden itibaren, bana bilimsel açıdan geniş bir vizyon kazandıran, gıpta ederek izlediğim klinik deneyimlerini benden esirgemeyen, eğitim sürem boyunca çok zorlandığım dönemlerde bana karşı verdiği manevi desteği, göstermiş olduğu sabrı ve merhametiyle hep yanımda olan, zorlu tıpta uzmanlık tezimin en büyük destekçisi, tanımaktan büyük onur duyduğum, tez danışmanı hocam Prof. Dr. Emel Sezer'e saygı ve şükranlarımı sunarım.

İç Hastalıkları A.D Başkanı Prof. Dr. Esen Akbay'a ve onun nezdinde tüm değerli hocalarıma ve yandal uzmanlarıma, eğitimime olan emeklerinden dolayı en içten dileklerimle teşekkür eder, saygılarımı sunarım. Çalışmamızın multidisipliner olmasını sağlayan, genetik labaratuvar analizlerini, büyük bir özveri ve emek ile gerçekleştiren sayın Doç.Dr. Sevcan Tuğ Bozdoğan ve tüm çalışma arkadaşlarına, emeklerinden dolayı Prof.Dr. Dilek Çiçek Yılmaz, Dr. Emre Ertan Şahin ve tüm kardioloji ekibine, biyokimyasal analizlerle ilgili katkılarından dolayı, sayın Prof.Dr. Lülüfer Tamer ve çalışma arkadaşlarına, Genel Cerrahi hocamız Prof.Dr. Ahmet Dağ'a şükranlarımı sunarım.

Çalışmamın istatistiksel analizindeki büyük emeklerinden, sabır ve anlayışından dolayı Doç.Dr. Semra Erdoğan'a teşekkür ederim. Bana desteklerini esirgemeyen, beraber çalışmaktan onur duyduğum, mesleki olarak çok faydalandığım, enerjisi ve varlığı ile bizlere güven veren Doç. Dr. Vehbi Erçolak hocama, ilk günden itibaren bana desteğiyle güç veren, her konuda fikir danıştığım, dürüstlüğü ve kibarlığı ile örnek aldığım, kıymetli abim Uzm.Dr. Kadir Eser'e, beraber çalışma şansı yakaladığım Dr. Sabri Güncan ve Dr. Yusuf Atabay'a, tüm bu süreçte hastalarla iletişimime çok büyük katkı sağlayan, tıbbi sekreterler Tuba Boynukara, Nüket Öztürk ve çalışma arkadaşlarına, Mersin'de birlikte çalışma fırsatı bulduğum tüm asistan ve intörn meslektaşlarıma, asistanlığım boyunca büyük bir keyifle çalıştığım tüm hemşire ve personellere teşekkür ederim.

Hayatımın her döneminde, koşulsuz yanımda olan aileme sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Mustafa İLĞAN

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	5
GİRİŞ VE AMAÇ.....	7
GENEL BİLGİLER.....	12
1. Meme Kanseri.....	12
1.1. Tanım ve Epidemiyoloji.....	12
1.2. Etiyoloji ve Risk Faktörleri.....	13
1.3. Semptomlar.....	17
1.4. Patolojik ve Moleküler Sınıflama.....	19
1.5. Evreleme.....	24
2. Meme Kanseri Tedavisinde Antrasiklinler.....	29
2.1. Doksorubisin ile İndüklenen Kardiyotoksisite.....	31
2.2. Kardiyotoksisite Gelişiminin Risk Faktörleri.....	34
2.2.1. Antrasiklin Tedavisi Alan Hastalarda Kardiyovasküler Yönetim.....	36
2.3. Kardiyotoksisitenin Sınıflandırılması.....	36
2.4. Kardiyotoksisitenin Saptanmasında Kullanılan Yöntemler.....	38
2.4.1. Elektrokardiyografi.....	39
2.4.2. Ekokardiyografi.....	39
2.4.3. Kardiyak Biyobelirteçler.....	41
3. MikroRNA (miRNA).....	42
3.1. mikroRNA'ların Yapısı ve Biyolojik Roller.....	43
3.2. mikroRNA'ların Doksorubisin Kardiyotoksisitesindeki Yeri.....	45
GEREÇ VE YÖNTEM.....	49
1. Çalışmanın Tasarımı.....	49
2. Hasta Dahil Etme ve Dışlama Kriterleri.....	50
3. Hasta Verilerinin Toplanması.....	51
4. Ekokardiyografik verilerin toplanması.....	53
4.1. Sol Ventrikül Sistolik ve Diyastolik Fonksiyonlarının Ekokardiyografik Ölçümleri.....	53
5. Kardiyak Biyobelirteçlerin Ölçümü.....	54
5.1. Troponin-I Test Prensibi.....	54
5.2. NT-proBNP Test Prensibi.....	54
5.3. CK-MB Test Prensibi.....	55

5.4. Myoglobin Test Prensipli.....	55
5.5. Plazma Örneklerinden Q-PCR yapılması ve miRNA Analizi.....	56
5.5.1. Plazma Örneklerinin Toplanması.....	56
5.5.2. Plazma Örneklerinden miRNA Eldesi.....	56
5.5.3. miRNA için cDNA Elde Edilmesi.....	57
5.5.4. cDNA'nın Zenginleştirilmesi.....	58
5.5.5. Q-PCR (Real Time-PCR, Gerçek Zamanlı-PCR).....	58
5.5.6. $2^{-\Delta\Delta C_t}$ Analizi ile Kat değişimlerinin Hesaplanması.....	59
6. İstatistiksel Analiz.....	60
BULGULAR.....	61
TARTIŞMA.....	86
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	96
KAYNAKLAR.....	97
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	111
ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ.....	115
TABLolar DİZİNİ.....	116

ÖZET

Meme kanserinin, tanı ve tedavisindeki hızlı gelişmeler ile beraber son yıllarda bu hastaların teşhis sonrası sağ kalımı artmış lakin bu durum uzun dönem için tedavi yan etkilerine bağlı görülen kalp yetmezliği dahil birçok durumda ise artışa neden olmuştur. Bu çalışmamızda, erişkin hastalarda doksorubisine bağlı kardiyotoksisitede miRNA'ların yenilikçi birer belirteç olarak rollerini belirlemeyi hedefledik.

Daha önce kardiyotoksik herhangi bir tedavi almamış meme kanserli hastalar çalışmaya dahil edildi. Tedavi süresince farklı zamanlarda ayrılan plazma örneklerinden, tedavi öncesi, 2 kür doksorubisin bazlı kemoterapi (KT) sonrası ve 4 kür doksorubisin tedavisi tamamlandıktan sonra, seçilmiş 8 farklı miRNA gen ekspresyonlarında, başlangıca göre meydana gelen değişiklikler hesaplandı, ayrıca rutindeki kardiyak parametreler, kardiyak görüntüleme sonuçları, diğer biyokimyasal belirteçler de ölçüldü. Bu parametreler arasındaki ilişki araştırıldı.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre kemoterapi süresince, miRNA-4638-3p, miRNA-423-5p, miRNA-199a-3p, miRNA-133b, miRNA-126-3p ve miRNA-1'in kat artışlarının görüntüleme parametreleri ve klasik kardiyak belirteçlerle korele olduğunu saptadık.

Sonuç olarak çalışmamız gösterdi ki, miRNA'lar geleceğin potansiyel aday biyobelirteçleridir. Çalışmamızdaki gibi aday miRNA'lar ile ilgili daha büyük ve kapsamlı, uzun dönem hasta takiplerini de içeren çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Antrasiklin, doksorubisin, kardiyotoksisite, meme kanseri, mikroRNA

ABSTRACT

Role of miRNAs in Doxorubicin-induced Cardiotoxicity in Adult Patients

With the rapid developments in the diagnosis and treatment of breast cancer, the survival of these patients after diagnosis has increased in recent years, but this has led to an increase in many cases including heart failure due to treatment side effects for the long term. In this study, we aimed to determine the roles of miRNAs as an innovative marker in cardiotoxicity due to doxorubicin in adult patients.

Breast cancer patients who had not received any cardiotoxic treatment before were included in the study. From the plasma samples separated at different times during the treatment, before treatment, after 2 cycles of doxorubicin-based chemotherapy (CT), and after 4 cycles of doxorubicin treatment, changes in 8 different miRNA gene expressions according to baseline were calculated. Also, cardiac parameters, cardiac imaging results, other biochemical markers were also measured. The relationship between these parameters was investigated.

According to our results, we observed that the fold increases of miRNA-4638-3p, miRNA-423-5p, miRNA-199a-3p, miRNA-133b, miRNA-126-3p and miRNA-1 correlated with imaging parameters and classical cardiac markers during chemotherapy.

As a result, our study showed that miRNAs are potential candidate biomarkers of the future. As in our study, there is a need for larger and more comprehensive long-term patient follow-up studies on candidate miRNAs.

Key words: Anthracycline, breast cancer, cardiotoxicity, doxorubicin, microRNA

GİRİŞ VE AMAÇ

2020 yılında Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde 1.806.590 yeni kanser vakası ve 606.520 kanser ölümü meydana geleceği tahmin edilmektedir¹. 2018 yılında küresel çapta, 185 ülkeden elde edilen verilere göre, kanser insidansı ve mortalitesi tüm dünya için kanserin öneminin gün geçtikçe arttığını kanıtlar niteliktedir. Aynı verilere göre meme kanseri, genel popülasyon içinde akciğer kanserinin hemen arkasında en sık teşhis edilen ikinci kanser türüdür ve her yıl iki milyondan fazla yeni vakayı oluşturmaktadır². Diğer yandan meme kanseri dünya çapında kadınlarda kanser ölümünün önde gelen nedenidir. Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan araştırmalara göre, meme kanseri en yaygın kadın kanseridir ve kadınlarda kanser ölümünün en yaygın ikinci sebebi olarak sıralanmaktadır¹. Ülkemizde de istatistiksel verilere göre meme kanseri kadınlarda tüm maligniteler içerisinde %22,9 sıklıkla ilk sıradadır³.

Kanser tedavisindeki hızlı gelişmeler ile beraber son yıllarda kanser hastalarının sağ kalımı artmış lakin bu durum tedavilerimiz sonucu oluşan istenmeyen etkiler nedeniyle birçok mortalite veya morbidite oranında yüksekliklere sebep olmuştur⁴.

İlaç geliştirme çalışmalarıyla birlikte yeni tedavi protokollerinin ortaya çıkması ve bunu izleyen uzun süreli sağkalım süresiyle birlikte, kanser tedavisinin geç yan etkileri, tedavinin tamamlanmasından on yıllar sonra dahi klinik olarak belirgin hale gelebilir. Kardiyovasküler hastalıklar (KVH)'a ait sorunlar bu olumsuz etkiler içinde en sık görülenleridir ve bu olumsuz istenmeyen etkiler kanser tedavisinde tedaviye iyi cevap verenlerde erken aşamada morbidite ve mortaliteye sebep olması konusunda, zamanla artan kaygılara sebep olmaktadır. Kanser hastaları ek olarak altta yatan kardiyovasküler hastalıklara sahip olabilirler ve hastalar genellikle tümör büyümesinin veya tedavinin yarattığı stres ile kardiyovasküler açıdan daha da kötüleşebilirler⁵. Kardiyo-onkoloji tüm bu nedenlerden dolayı son yıllarda giderek ilgi odağı olmaya devam etmektedir. Elde edilen birçok çalışma verisine sahip olsak da ışın tedavisi ve kemoterapi nedenli KVH'nin henüz bilmediğimiz çok fazla sorusuna cevap aranmaktadır. Ayrıca kemoterapilere bağlı kardiyak yan etkilerin yıllar sonraki sonuçlarının bilinmezliği, KVH açısından klinikte eksik

ve hatalı tanı konmasıyla sonuçlanmaktadır, bu durumdan ötürü bazen istenmeyen etkiler engellenemiyor ya da kür sağlama şansı olan tedavilerin kesilmesiyle sonuçlanıyor⁶.

Anti-tümör antibiyotikler başlığında yer alan antrasiklinler, hem tedavi protokollerinde çok sık kullanılması, hem de kardiyak yan etkiler açısından kardiyo-onkoloji çalışmaları için tipik bir ilaçtır. Antrasiklin grubu ilaçlar 1950'lerde, Streptomyces peucetius'tan daunorubisinin tanımlanması ile ortaya çıkmıştır⁷. Antrasiklinler; polisiklik, aromatik ve kırmızı pigmentli antibiyotik grubu anti-neoplastik ilaçlardır. Antrasiklinler solid tümörlerin ve hematolojik malignitelerin tedavisinde etkinlikleri çok iyi olması nedeni ile kliniklerde fazlasıyla kullanılmaktadır. Diğer tarafta ise, antrasiklinler geri dönüşümsüz bir şekilde kardiyak hasar yapabilir, bu da kardiyak nedenlerle prognozu etkiler⁸. Bu tip etkili ilaçların kardiyak yan etkilere bağlı endişelerden ötürü kullanımlarından kaçınılması ise hastaların kanser tedavisini kötü etkileyebilir⁹.¹⁰. Eğer antrasikline bağlı gelişen kardiyak disfonksiyon mümkün oldukça erken tespit edilebilir ve kalp yetmezliği ilaçları ile tedavi edilirse, hastalar çoğunlukla belirgin fonksiyonel iyileşme gösterebilirler. Fakat, hastalar kardiyak fonksiyon kaybının başlangıcında değil, geç döneminde saptanırsa, kalp yetmezliği tedavisi daha da güç bir hal alır¹¹. Yapılan çalışmalar, antrasiklin tedavisi ardından %9 genel kardiyotoksisite insidansı olduğunu ve vakaların %98'inin birinci yılda ortaya çıktıklarını ve asemptomatik olduklarını gösterdi. Antrasiklinlere bağlı kardiyotoksisite, yüksek olasılıkla sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunun (SoVEF)'da progresif ve kalıcı bir düşüş ile kendini gösteren bir antitedir. Etkilenenlerin birçoğu önceleri semptom göstermezler ve klinik semptom ve bulgular uzun yıllardan sonra, genelde diğer kardiyak risk faktörlerinin de eklenmesiyle klinikte karşımıza çıkmaktadır. İşte bu bilgilerden öğrendiklerimize göre doksorubisin ve türevlerinin, hastalarda kompanzasyon mekanizmalarını bozduğunu gösterir^{12, 13}.

En sık kullanılan antrasiklinler; adriamisin (doksorubisin), daunorubisin, idarubisin, epirubisin ve mitoksantrondur¹⁴. Meme kanseri hastalarında yaygın olarak kullanılan ve tedavinin en önemli ayağını oluşturan adriamisin (doksorubisin) bazlı kemoterapi rejimleri onkoloji kliniklerinin çok aşına olduğu protokolleri oluşturur, lakin en önemli yan etkisi yukarıda detaylıca bahsettiğimiz üzere kardiyotoksisitedir. Dolayısıyla, karşılaşma ihtimalimiz olan kardiyak yan

etkileri önlemek için, antasiklinlere bağlı oluşan kardiyak toksisitenin çok geçmeden tespit edilmesi kardiyoloji ve onkoloji disiplinleri için büyük önem arz etmektedir¹⁵. Doksorubisine bağlı gelişen kardiyak toksisite doz bağımlı ve kümülatiftir. Bazı çalışmalara göre hayat boyu doksorubisin 400 mg/m² lik doza ulaşıldığı anda %5 kalp yetmezliğine sebep olur ve dozun daha fazla alınması halinde bu oluşan risk de katlanarak yükselişe sebebiyet verir, 700 mg/m² dozda ise yaklaşık %48 gibi risk artışı ile ilişkilidir. Burada asıl dikkat edilmesi gereken nokta, doksorubisine hassasiyet açısından hastaların risk faktörleri kişiden kişiye göre değiştiğidir. Hastalar çoğunlukla normal doz doksorubisini uzun süre komplikasyon yaşamadan atlatırken, bazı hastalarda ise tedavinin henüz ilk dozundan itibaren kardiyak toksisite karşımıza çıkabilmektedir⁶. Kardiyotoksisite riski yıllar içinde artış gösterir. Bu nedenle kardiyotoksisite için risk grubundaki hastaların semptomatik olmadan önce belirlenmesi önem taşır. Klinik olarak belirgin kalp yetmezliği yaşayanlara ek olarak asemptomatik şekilde kardiyak fonksiyonlarını yitirenlerin %18 gibi ciddi bir oranda olması kardiyotoksisitenin başlangıç aşamasında tespitini kıymetli kılar¹⁶. Lakin rutinde henüz elimizde, kardiyotoksisiteyi erkenden saptayabilecek, istenen özelliklerde bir biyobelirteç mevcut değildir.

Erişkin çağı kanserleri için kemoterapi protokollerinde doksorubisinin önemi ve toksisitenin bireye göre değişkenliği dikkate alındığında, kardiyotoksisite düzeyinin saptanması için uygun bir yöntem veya biyobelirteç belirlenmesi onkoloji ve kardiyoloji gibi milyonlarca insanın yaşamını ilgilendiren disiplinler için çok kıymetli bir keşif olacaktır.

Kanser hastalarında kardiyotoksisitenin belirlenmesi amacıyla kardiyovasküler görüntüleme [elektrokardiyografi (EKG), ekokardiyografi (EKO), nükleer yöntemler, kardiyak MR (KMR)] ve biyokimyasal belirteçleri (troponin, beyin natriüretik peptitler vb.) sıklıkla tercih ederiz. EKG’de nonspesifik ST-T değişiklikleri, QRS süresi ve morfolojisinde gerçekleşen bozulma, QT değişimleriyle birlikte aritmiler ve ileti anomalileri saptanabilir. EKO, tedavi öncesinde, tedavi tamamlandıktan sonra ve tedavi sürerken kardiyak işlev bozukluğunun belirlenmesi için tercih edilen görüntüleme aracıdır. Endokardiyal sınırlar belirgin ise ejeksiyon fraksiyonunun (EF) ölçülmesi konusunda en ideal EKO yöntemi olan üç boyutlu EKO tercih edilemiyorsa, hastalar için kalp odacıklarının hacimleri ve EF’nin ölçülmesinde iki boyutlu biplan Simpson

metodu tavsiye edilir. Kardiyotoksisitede EKO'da etkilenme, bariz sistolik disfonksiyon olabileceği gibi ejeksiyon fraksiyonu korunmuş hastalarda diyastolik disfonksiyon şeklinde de görülebilir. Diyastolik fonksiyon bozukluğu; sistol sonu ölçülen basınç normal iken dolum basıncının uyumlu şekilde artmadığı, sol ventrikül dolumunun yetersizliği ile tipikleşen bir durum olup EKO'da transmitral doppler akım paternlerine ve doku doppler incelemelerine bakılarak tespit edilebilir^{6, 17}.

Günümüzde, erken dönemde subklinik kardiyak hasarı saptama yöntemleri yetersizdir. Bu amaçla miyokardda yüksek konsantrasyonda bulunan bir protein olan troponin birçok kez araştırılmıştır. Hastalarda doksorubisin toksisitesinde kardiyak görüntüleme yöntemlerindeki bozuklukların belirginleşmesinden evvel subklinik kardiyak yetmezliği tespit etme konusunda troponin değerlerinin sürekli yüksek olması klinik olarak kardiyotoksisite ile ilişkili düşünülmesine rağmen, bu konuda yapılan farklı araştırmaların çıktıları birbiriyle çelişmektedir. Doksorubisin kardiyotoksisitesinde araştırılan bir diğer belirteç olan beyin kaynaklı natriüretik peptit (BNP); belirginleşen kardiyak duvar stresine bağlı ventriküllerden salgılanmaktadır. Kardiyotoksisite çalışmalarında bazı kısıtlılıkları olsa da etkinliği gösterilmiş bir biyobelirteçtir. Geleneksel olarak kullanılan bu biyobelirteçlerin kardiyotoksisiteyi belirlemede birçok kısıtlılığı ve literatürde konuyla ilgili çelişkili veriler mevcuttur^{6 18, 19}.

MikroRNA (miRNA)'lar ise 22-26 nukleotidden oluşan fonksiyonel Ribo Nükleik Asit (RNA) molekülleridir. Genom üzerindeki protein kodlamayan bölgelerdeki RNA genlerinden ve protein kodlayan ekzon veya intron bölgelerinden transkripsiyonu sağlanan, ancak proteine translasyonu gerçekleşmeyen, fonksiyon olarak, birçok gen ekspresyonunun sürecinde ve fonksiyonunda belirleyici bir aracı olduğu için son 20 yıldan beri literatürün popüler konularından biri olmuştur^{19, 20}. Son zamanlarda da kardiyak hasarı belirlemek amacıyla miRNA'lar bir biyobelirteç olarak araştırılmaktadır²¹. Birçok kanıt, çevresel uyarı ve stres yaratan çok yönlü etkileşimler yoluyla oluşan miRNA'lardaki polimorfizmler ile ilaç metabolize edici enzimlerin, taşıyıcıların ve nükleer reseptörlerin üretiminde bireyler arası değişkenliğin modülasyonunda miRNA ifadesinin önemli bir rol oynadığını gösterdi.

Kanser araştırmasında, miRNA biyobelirteçlerinin kanser tedavilerine intrinsek ve edinilmiş dirençle aracılık ettiği belirlenmiştir. İlaç güvenliği

değerlendirmesinde, miRNA'lar kardiyotoksisite, hepatotoksisite ve nefrotoksisite ile ilişkili olduğu bulunmuştur^{20, 22}. İnsanda tanımlanan miRNA'ların başta kanser olmak üzere kalp hastalıkları, otoimmün süreçler, infeksiyon hastalıkları, gelişim bozuklukları, kas hastalıkları, nörolojik hastalıklar olmak üzere çeşitli hastalıklarla ilişkisi olduğu gösterilmiştir^{18, 19, 21}.

Son yıllarda yayınlanan bazı araştırmalara göre doksorubisin tedavisi sonrasında kardiyotoksisite gelişen hastalarda bazı miRNA'ların kardiyak hasar ile doğrudan ilişkili olarak dolaşımdaki düzeyleri artmaktadır^{19, 23}. Dolaşımdaki miRNA'lar, plazmada, dokuda veya hücreye spesifik dağılımda yüksek kararlılık ve niceliksel ölçüm kolaylığı nedeniyle kardiyovasküler hastalıkların gelecek vaat eden biyolojik belirteçleridir²³.

Bu çalışmamızda, erişkin hastalarda doksorubisine bağlı kardiyotoksisitede miRNA'ların rolünü belirlemeyi hedefledik. Hastaların serum miRNA düzeylerinin (miRNA-1, miRNA-29b-1-5p, miRNA-34a-5p, miRNA-126-3p, miRNA-133-b, miRNA-199a-3p, miRNA 423-5p, miRNA-4638-3p) alınan doksorubisin dozu ile ilişkisi tespit edilecektir. Bu miRNA'ların kardiyotoksisitede birer biyobelirteç adayı olabileceklerini göstermek amacıyla, rutindeki kardiyak parametreler, kardiyak görüntüleme yöntemleri (EKO, EKG vb.) ve diğer biyokimyasal belirteçler ile korelasyon olup olmadığının gösterilmesini hedefledik. Aynı zamanda hastalarda kardiyotoksisite gelişiminin daha erken tanınması için görüntüleme teknikleri ve rutin kardiyak parametrelerin etkinliğinin belirlenmesini ve miRNA'lar ile ilişkisini saptayarak, kardiyoloji ve onkoloji alanında geniş kapsamlı bulgular elde etmeyi arzulamaktayız.

GENEL BİLGİLER

1. Meme Kanseri

1.1. Tanım ve Epidemiyoloji

Kanser biyolojisine ilişkin yeni fikirler, son 15 ile 20 yıl içinde hızlanan bir ivmeyle klinik uygulamalarda birçok iyileştirmeye dönüştürülmüştür²⁴. Hem bireysel kanserleri hem de kanser hastalarının popülasyonlarını sorgulamak için gittikçe daha sofistike moleküler araçların kullanılması, çeşitli solid tümörlerin ve hematolojik malignitelerin doğal geçmişi değiştirilen, sürekli yeni teşhis ve terapötik müdahalelere yol açmıştır^{25, 26}.

Meme kanseri, nokta mutasyonları, kromozomal amplifikasyonlar, delesyonlar, translokasyonlar ve duplikasyonlar dahil olmak üzere, giderek artan genetik sapmaların neden olduğu heterojen bir hastalıktır. Germline mutasyonları tüm meme kanserlerinin tahminen %10'unu oluşturur ve çeşitli kalıtsal meme kanseri sendromlarıyla ilişkilidir^{27, 28}.

Elimizdeki verilere göre kanserden kurtulanların sayısının ABD' de gelecek yıllarda da artmaya devam etmesi beklenmektedir. Son yıllarda, yaşanan nüfus artışı ile karşılaştırıldığında, kurtulanlar tarafındaki artışın, daha çok kanserin erken teşhisini sağlayan, daha etkili ve daha az toksik tedavi seçeneklerinin geliştirilmesine yol açan, üstün teşhis yöntemlerinden kaynaklandığı öngörülmektedir^{1, 2, 29}.

2020 yılında Amerika'da 1.806.590 yeni tanı kanser hastası ayrıca 606.520 kanser ölümü meydana geleceği tahmin edilmektedir¹. 2018 yılında küresel çapta, 185 ülkeden elde edilen verilere göre, kanser insidansı ve mortalitesi tüm dünya için kanserin öneminin gün geçtikçe arttığını kanıtlar niteliktedir. Aynı verilere göre meme kanseri, genel popülasyonda akciğer kanserinin hemen arkasında en sık teşhis edilen ikinci kanser türüdür ve her yıl iki milyondan fazla yeni vakayı oluşturmaktadır². Diğer yandan meme kanseri dünya çapında kadınlarda kanser ölümünün önde gelen nedenidir. Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan araştırmalara göre, meme kanseri en yaygın kadın kanseridir ve kadınlarda kanser ölümünün en yaygın ikinci sebebi olarak sıralanmaktadır¹. İnsidans oranları en yüksek Kuzey Amerika, Avrupa'nın kuzeyi ve batısı, Avustralya, en düşük insidans ise Asya ve Sahra altı

Afrika'dadır³⁰. Bu uluslararası coğrafi farklılıkların sebebi sanayileşmenin bir sonucu olarak toplumsal değişimlerle ilişkilidir. Örneğin; beslenme alışkanlıklarına bağlı değişen; yağ alımı, alkol alımı, vücut ağırlığındaki farklılıklar veya gebelik sayısı, ilk gebelik yaşı, menarş yaşı, emzirmedeki farklılıklar gibi faktörler bu farklılıkta rol almaktadır³¹.

Ülkemizde de istatistiksel verilere göre meme kanseri kadınlarda tüm maligniteler içerisinde %22,9 sıklıkla ilk sıradadır³. Ülke içinde kanser teşhisi konulan kadınların %25'i meme kanseridir. Bu hastaların büyük çoğunluğu 50-69 yaş bandı ile 25-49 yaş bandındaki hastalardan oluşmaktadır. Halk sağlığı verilerine göre, meme kanseriyle yeni tanışan hastalarımızın %11,1'i Evre 4 aşamasındadır³. Ayrıca 40-49 yaş arası kadınlar arasında meme kanseri nedenli ölümler, önde gelen ölüm nedeni içerisinde yer almaktadır. Meme kanserinin, cerrahi onkoloji, radyasyon onkolojisi ve tıbbi onkolojiyi içeren multidisipliner bir yaklaşımla tedavi edilmesi, mortalitesinin azalmasından ötürü, önerilen yaklaşımdır³². Meme kanseri mortalite oranları 1970'lerden beri azalmaktadır³³. Mortalitedeki bu azalma meme kanseri taramasında iyileşme ve adjuvan tedavideki iyileşmelerden kaynaklanmaktadır^{34, 35}.

Meme kanserleri daha erken tedavi edildiğinde hayat kurtarır, 40 ile 69 yaş arası kadınların dahil olduğu mamografi taraması ile yapılan bir çalışmada, tarama yapılan kadınların, yapılmayanlara göre tanıdan sonraki 10 yıl içinde meme kanserinden ölme riskinin %60 daha düşük olduğu, tanı sonrası 20 yıl içinde meme kanserinden ölme riskinin ise %47 daha düşük olduğu gösterilmiştir³⁶.

1.2. Etyoloji ve Risk Faktörleri

Meme maligniteleri için literatürde fazlasıyla risk faktörü araştırılmış ve bazıları ilişkilendirilmiştir. Buna rağmen çoğu vakada kanserin net olarak etyolojisi bilinmemektedir, fakat genetik ve edinsel olabilen pek çok predispozan faktör ileri sürülmüştür³⁷. Elimizdeki veriler ışığında yeni tanı konulan meme kanserli hastaların yaklaşık yarısında bilinen bir risk faktörü yoktur^{37, 38}.

Bilinen en önemli risk faktörü cinsiyettir³⁷. Meme kanseri esas olarak kadınların hastalığıdır ve kadınlarda görüldüğünün ancak %1'i oranında erkeklerde de meme kanseri görülür^{37, 39, 40}. Amerika Birleşik Devletleri'nde her

yıl 270.000'den fazla kadına meme kanseri teşhisi konulmaktadır, bu sayı erkeklerde her yıl 3000'den az tanılı vaka ile istatistiklere girmektedir¹.

Kadın cinsiyet büyük bir risk faktörüdür ve kadın olmanın getirdiği bazı üreme ve doğurganlık ile ilgili risk faktörlerini de beraberinde getirir, erken menarş, geç menopoz, nulliparite ve ilk gebelik yaşının geç olması ve infertilite bunlara dahildir³⁷. Bunların birçoğu uzun dönem boyunca memenin daha fazla östrojene maruz kalmasıyla ilişkilendirilmiştir. Postmenopozal obezite ve meme kanseri arasında saptanan ilişki de yüksek ihtimal östrojen maruziyetinin sonucudur. Benzer sebeplerle laktasyon meme kanserini önleyici bir faktördür³⁷
39, 40

Diğer önemli bir risk faktörü yaştır³⁷. Birleşik Devletler' de meme kanseri vakalarının yaklaşık %75'i 50 yaş üzerindeki kadınlarda saptanır. Yaşlanma ile birlikte meme kanseri riski artmaktadır^{37, 41}. Meme kanseri vakalarının %75'i postmenopozal dönemde teşhis edilmektedir. Postmenopozal hastalarda ise prognoz daha iyidir³⁷.

Meme kanserinin patogeneğinde östrojenin ciddi bir etkisi vardır³⁷. Postmenopozal dönemdeki kadınlarla ilgili bir metaanalize göre meme kanseri teşhisi konan vakaların östrojen düzeyinin, sağlıklı kadınlara göre %15 fazla olduğu saptanmış⁴². Oral kontraseptif kullanımı (OKS) ile meme kanseri gelişme riskini araştıran fazlasıyla çalışma mevcuttur. Özellikle ailede meme kanseri öyküsü olanlarda OKS kullanımı, meme kanseri riskini arttırmaktadır, bazı araştırmalarda kanser gelişme riskini düşük de olsa (1,24 kat) artırır^{37, 43, 44}.

Bir başka kritik risk faktörü aile öyküsüdür³⁷. Meme malignitesi olan hastalarının tahminen %20'si ailede meme kanseri hikayesi mevcut olan kadınlarda meydana gelir; risk 50 yaşın altında meme kanseri tanısı almış birinci derece akrabalar var ise artmaktadır. Birinci derece yakınlarında malign meme öyküsü olan bir kadında kanser gelişme riski 1,5 ile 3 kat artar^{37, 45}. Meme kanseri vakalarının %5-8'i yüksek riskli ailelerde meydana gelmektedir³⁷. Moleküler anomaliler ile ilişkili pek çok ailesel meme kanseri sendromu saptanmıştır. Bunların en önemlisi BRCA1 (Breast cancer gen) ve BRCA2 meme kanseri yatkınlığı genlerinde germline mutasyonlar ile ilişkili olan meme-over kanseri sendromudur^{37, 46}. Ailevi meme kanseri olgularının %15-20'sinde BRCA1 ve BRCA2 gen mutasyonu saptanmıştır. BRCA-1 otozomal dominant aktarılan bir gendir ve 17. kromozomda bulunurken, BRCA2 geni 13.

kromozomun uzun kolu üzerinde bulunmaktadır. Her iki gen; DNA (Deoksiribo nükleik asit) integrasyon ve transkripsiyon regülasyonunu sağlayan tümör supresör proteinlerin kodlarını taşımaktadır^{37, 46}. Bu mutasyonlar otozomal dominant kalıtım ile kalıtılır ve bu nedenle maternal veya paternal kaynaklı olabilir^{37, 46}. Geniş çalışmalar ile bu genlerin %50-85 oranlarında yaşam boyu meme malignitesi gelişimi riski ile alakalı olduğu gösterilmiştir. Herediter meme kanser sendromu düşündüren semptomları olan kadınlarda BRCA1 (Breast cancer antigen), ve BRCA2 testleri günümüzde standart bir seçenek olarak düşünülmektedir; bunlara ailede çok kişide erken başlangıçlı meme veya over kanseri olması, bilateral meme kanseri veya Askenazi Yahudileri kökenli olmak dahildir³⁷. Genetik yatkınlığa neden olan mutasyonlar başta BRCA1 ve BRCA2 olmak üzere PTEN, TP53, MLH1, MLH2, CDH1 ve STK11 genlerinde meydana gelen mutasyonlardı^{37, 46}. P53 geninde germline mutasyonlar ile ilişkili Li-fraumeni sendromu, PTEN geninde kalıtsal mutasyonlar ile ilişkili Cowden sendromu örnektir^{37, 46}. Son olarak, bu yüksek penetranslı genetik yatkınlık sendromlarına ek olarak, genom boyunca ilişki çalışmalarında çeşitli genlerde nükleotid polimorfizmleri gibi pek çok düşük penetrasyonlu genetik ilişkiler saptanmıştır³⁷. Meme kanseri olgularının %20-30'unda aile öyküsü mevcut olup %5-10'unda ise genetik yatkınlık görülmüştür^{37, 46}. BRCA1 ve BRCA2 mutasyonları genel toplumda %1 oranında görülürken, Askenazi Yahudileri gibi bazı etnik gruplarda daha fazla görülmektedir⁴⁶.

Atipik hiperplazi ve lobüler karsinoma in situ gibi bazı meme patolojisi histolojileri de meme kanseri risk artışı ile ilişkilidir³⁷. Premalign lezyonlar: Atipik epitel kökenli hiperplazi ve beraberindeki fibrokistik değişiklikler (atipik duktal hiperplazi, atipik lobüler hiperplazi) riski 4,4 kat oranında artırır. Hücre proliferasyonu olan kadınlarda (sklerozan adenozis, orta derecede hiperplazi, papilloma) risk 1,6 kat artmış olarak kabullenilir. Proliferasyon olmayan lezyonların (fibroadenom, apokrin değişiklikler, duktal ektazi ve atipisiz hafif epitel hiperplazisi), kanser riskinin genel topluma göre daha fazla olmadığı gösterilmiştir^{37, 47}.

Mamografide artmış meme dansitesinin saptanmasının da risk faktörü olabileceği olasılığı gündeme getirilmiştir. Mamografideki non-radyolüsen alanlar memenin fibroz ve glanduler yapısını gösterir ve mamografik dansite olarak tanımlanır. Yüksek dansite oranlarına sahip postmenapozal kadınlarda

yapılan birçok çalışmada, düşük dansiteye sahip kadınlarla yapılan kıyaslamada meme kanseri riskinin 4 kata kadar arttığı belirtilmiştir^{37, 48}. Kadınlar arasındaki bu dansite farkının mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte insülin like growth faktör-1 (IGF-1) ve hormonların etkili olduğu öne sürülmektedir⁴⁹. Yapılan çalışmalara göre ergenlik ve erişkinlik dönemindeki egzersizlerin kanser riskini düşürdüğü belirlenmiş ve haftalık 4 saat ve üstü egzersiz yapmış olan kadınların kanser ihtimali hiç yapmamış olanlara kıyasla %60 oranda azdır⁵⁰.

Obezite bir diğer risk faktörü olarak yer almaktadır. Obezite (Vücut Kitle indeksi=VKİ 30 üstü olarak tanımlanır) morbidite ve mortalitede genel bir artış ile ilişkilidir. Bununla birlikte, VKİ ile ilişkili meme kanseri riski menopozal duruma göre değişir. Daha yüksek VKİ ve/veya perimenopozal kilo artışı, menopoz sonrası kadınlar arasında sürekli olarak daha yüksek meme kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir^{37, 51, 52}. Obezite postmenopozal kadınlarda meme kanseri riskini arttıran bir faktördür. Zayıf kadınlarla mukayese edildiğinde, fazla kilolu kadınlarda meme kanseri riski 1,5 kat, obez kişilerde ise neredeyse iki katı kadar daha fazla saptanmıştır⁵³. Kadınlarda kilo artışının meme kanseri riski ile doğru orantılı olduğu düşünülmektedir. Her 5 kilo artışında risk 1,08, her 15-20 kilo artışında meme kanseri görülme riski 1,5 kat artmaktadır⁵⁴. Ek olarak, hiperinsülinemi obezite-meme kanseri ilişkisini de açıklayabilir, çünkü yüksek VKİ daha yüksek insülin seviyeleri ile ilişkilidir⁵⁵. Postmenopozal kadınlardan farklı olarak, artan VKİ, premenopozal kadınlarda meme kanseri riskinin düşük olması ile ilişkilidir^{56, 57}. Konuyla ilgili çelişkili yayınlar mevcut olduğundan konuyla ilgili daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Sigara, antiöstrojenik etkili olsa da meme kanseri riskini artırmaktadır⁵⁸. Konuyla ilgili farklı görüşler olsa da son yıllarda Amerikan Kanser Topluluğu'nun yaptığı meşhur meta analizde; sigara içenlerin içmeyenlere kıyasla %12 oranda daha çok meme kanseri riskine sahip olduğu gözlenmiştir^{37, 59}.

Alkol kullanımı meme kanseri riskini artırmaktadır^{37, 60}. Alkolün östrojen seviyelerini artırmasının bilinmesi üzerine yapılan çalışmalar, alkol tüketiminin meme kanseri riskinde artışa yol açtığını düşündürmektedir⁶¹. Çalışmalar arasındaki oranlar farklı olsa da birçok çalışmada günlük 1-2 kadeh alınan içkinin meme kanseri insidansını yüzde 30 ile 50 oranlarında artırdığı gösterilmiştir⁶².

Uzun boy, menopozdan bağımsız olarak kadınların meme kanseri riski ile ilişkilidir^{63, 64}. Bu birlikteliğin altında yatan mekanizma bilinmemektedir, ancak çocukluk ve ergenlik döneminde beslenme maruziyetlerinin etkisini yansıtabilir⁶⁵.

Kemik mineral yoğunluğu, kemikler östrojen reseptörleri içerdiğinden ve dolaşımdaki östrojen seviyelerine oldukça duyarlı olduğundan, kemik mineral yoğunluğu endojen ve ekzojen östrojene uzun süreli maruz kalma için bir yedek belirteç olarak kabul edilir. Birden fazla çalışmada, kemik yoğunluğu daha yüksek olan kadınların meme kanseri riski daha yüksektir^{66, 67}.

Gece vardiyası çalışması, eldeki kanıtlar karışık olmasına rağmen, Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından olası bir kanserojen olarak kabul edilmektedir⁶⁸. Bu ilişki gece ışığına maruz kalma ile ilişkili olabilir, bu da gece melatonin üretiminin epifiz bezi tarafından baskılanması ile sonuçlanabilir⁶⁹. Bunu destekleyecek kanıtlar, düşük 6-sülfatoksimeatonin (majör melatonin metaboliti) seviyelerinin meme kanseri riskinde artış ile ilişkili olduğu bulgusundan kaynaklanmaktadır^{69, 70}.

Son olarak, ekzojen çevresel faktörlerin meme kanserine yatkınlığa neden olma olasılığı üzerinde çok durulmuştur, iyonize radyasyon, diyet faktörleri, çevresel faktörler, coğrafya, kullanılan bazı ilaçlar ve kimyasallar ile ilgili de birçok çalışma mevcuttur.

1.3. Semptomlar

Meme kanseri genellikle mamografik bir bozukluk veya memede kitle, asimetrik kalınlaşma, meme ucu akıntısı, deri veya meme ucu değişiklikleri gibi fiziksel değişiklikler ile prezente olur^{37, 71}.

Meme kanseri tarama programları belirlenmiş ülkelerde, çoğu hasta anormal mamogram nedeniyle başvurur. Bununla birlikte, kadınların yüzde 15' ine kadar mamogramda tespit edilmeyen (mamografik olarak occult hastalık) bir göğüs kitlesinin varlığı nedeniyle meme kanseri teşhisi konur ve diğer yüzde 30'unda mamografi çekimlerinin arasında bir meme kitlesi bulunur (interval kanserleri)^{37, 72}. Ek olarak, tarama mamogramlarına erişimi olmayan kadınlar ve 40 yaşın altındaki rutin tarama mamogramlarına giremeyen genç kadınlar, cilt değişiklikleri veya bir meme veya aksiller kitle ile başvurabilirler.^{37, 71, 73}

Meme maligniteleri çoğunlukla sinsi ve uzun bir seyir gösterir. Kanserli lezyonların "klasik" özellikleri arasında ağrısız, sert, sınırları düzensiz, hareketsiz, tek dominant bir lezyon yer alır^{71, 73}. Bununla birlikte, bu özellikler iyi huylu bir malign tümörden güvenilir bir şekilde ayırt edilemez.

Meme kanseri olan kadınların %70'i için genelde ilk bulgumuz memede kitle bulunmasıdır. Kanser sebepli lezyonların %45'i üst-dış kadranda, %25'i santral kadranda⁷³. Bazen bu lezyonlar meme asimetrisi yapabilir ya da bakarak fark edilecek boyutlara ulaşabilir^{37, 73}. Memede kitle, hastalarca tesadüfen ya da muayene ile bulunur. Genellikle başka semptomlar (ağrı, akıntı) ya da travma nedeniyle hasta muayenesinde ortaya çıkar^{74, 75}.

Nadir görülen iki klinik prezentasyon meme ucunun Paget hastalığı ve inflamatuvar meme kanseridir. Daha ileri lokorejyonel hastalığın belirtileri arasında aksiller adenopati veya inflamatuvar meme kanseri olduğunu düşündüren memenin dermal lenfatiklerinin tutulduğuna işaret eden kızarıklık, ısı artışı ve ödem, kalınlaşma veya çukurlaşma gibi deri bulguları (peau d'orange) bulunur, bu semptomlar basit bir mastit ile karıştırılmamalıdır. Paget hastalığı deri ve duktusları tutan bir adenokarsinomadır ve meme ucu derisinde bozulma ile karakterizedir^{37, 71}.

Meme ucu akıntısı meme maligniteleri ile ilişkili olabilir. Sütlü akıntı nadiren malignite ile ilişkili olsa da, şeffaf ve kanlı meme ucu akıntısı olan hastalarda göğüs muayenesi, mamografi ve bazen şüpheli bölgeden biyopsi yapılmalıdır. Lezyonun saptanması için duktografi veya duktoskopi gerekebilir. Kanlı akıntı genellikle intraduktal papillomaya bağlı görülür^{37, 71, 73}.

Meme ağrısı, özellikle de premenopozal kadınlarda premenstrüel bir semptom olarak sık görülür. Ancak aynı zamanda altta yatan bir malignite ile de ilişkili olabilir. Lokalize non siklik meme ağrısı görülen kadınlara meme muayenesi yapılmalı ve bilateral mamografi çekilmelidir. Bunlar normal ise, az olan malignite olasılığını ekarte etmek için ultrason veya MRG (Manyetik Rezonans Görüntüleme) yapılabilir^{37, 71, 73}.

Metastatik meme kanseri belirtileri ile de prezente olabilir, böyle bir durumda ilgili organlara bağlı prezentasyon gösterir; en yaygın tutulum bölgeleri kemik (örneğin sırt veya bacak ağrısı), karaciğer (karın ağrısı, bulantı, sarılık) ve akciğerlerdir (örn. nefes darlığı veya öksürük)^{37, 71}.

1.4. Patolojik ve Moleküler Sınıflama

Meme malignitelerinin çoğu epitelden kaynaklanır ve karsinom olarak sınıflandırılır. Meme karsinomları mikroskobik görünüm ve biyolojik davranış bakımından farklılık gösteren çeşitli lezyonlar grubudur, ancak bu bozukluklar sıklıkla tek bir hastalık olarak tartışılmaktadır. Tarihsel olarak, invaziv meme kanserlerinin sınıflandırılması, ışık mikroskopisi ile görüldüğü gibi kanserin morfolojik görünümüne dayanmaktadır⁷⁶. Histolojik olarak meme karsinomları invaziv ile in situ karsinom olarak iki büyük gruba ayrılır. Bunlardan in situ karsinomlar malign epitelyal hücreler bazal membran ile çevrelenmiş duktus ve asinuslar içerisinde sınırlıyken, invaziv karsinom için ise malign hücreler, membranı geçerek stroma içine invaze olmuştur. İşte bu yüzden invaziv karsinomlar, vasküler veya lenfatik invazyon ile, komşu lenf nodlarına veya diğer uzak organlara metastaz yapabilmektedirler^{37, 71, 77}.

Meme kanserleri için en yaygın kullanılan sınıflandırma, invaziv tümör hücrelerinin büyüme paternine ve sitolojik özelliklerine dayanan Dünya Sağlık Örgütü'nün (dördüncü baskı) sınıflamasıdır⁷⁶.

Sınıflandırma sistemi invaziv “duktal” ve “lobüler” karsinomları tanımasına rağmen, bu histolojik tanımlamalar birincisinin duktuslardan ve ikincisinin memenin lobüllerinden kaynaklandığı anlamına gelmez. İnvaziv meme kanserlerinin çoğu, histolojik tipine bakılmaksızın terminal duktusun lobüler kısmında ortaya çıkar⁷⁶.

En yaygın histolojik meme kanseri tipi, vakaların %70 ile %80'ini oluşturan invaziv (infiltratif) duktal karsinomdur. İnvaziv duktal karsinom tanısı, esasında dışlama ile konulur (diğer alt tiplerin dışlanması ile)⁷⁶. Bu noktayı vurgulamak için, çoğu sınıflandırma sistemi infiltrate edici duktal karsinom terimini kullanır not otherwise specified (NOS) veya infiltrating carcinoma of no special type (NST) özel tipte olmayan infiltrate edici karsinom⁷⁶.

Uygulamada, invaziv duktal karsinom, infiltrate duktal karsinom ve infiltratif veya invaziv karsinom terimleri birbirinin yerine kullanılır.

Özel kanser türleri ise meme kanserlerinin yaklaşık %20 ile %30'unu oluşturur. Memede ortaya çıkan ancak tipik meme kanseri olarak kabul edilmeyen tümör alt tipleri arasında sistosarkom filloidler, anjiyosarkom ve primer lenfoma bulunur⁷⁶.

İnvaziv meme kanserleri, mikroskopik özelliklere dayanarak alt sınıflara ayrılabilir. En yaygın alt sınıflandırma, yalnızca nükleer özelliklere (nükleer derecelendirme) veya mimari ve nükleer karakteristiklerin (histolojik derecelendirme) bir kombinasyonuna dayanan derecelendirme olmuştur⁷⁶.

Nükleer derecelendirmede, tümör hücresi çekirdeklerinin görünümü, normal meme epitel hücrelerinin görünümü ile karşılaştırılır ve tümör çekirdekleri, iyi differansiye, orta differansiye veya zayıf differansiye olarak sınıflandırılır⁷⁶.

Mevcut uygulamada, histolojik derecelendirme en sık kullanılan derecelendirme yöntemidir.

Histolojik derecelendirmede, meme karsinomları, (1) tübül oluşumu, (2) nükleer pleomorfizm ve (3) mitotik aktivitenin değerlendirilmesine göre sınıflandırılır⁷⁶. Nottingham derecelendirme sistemi Amerikan Kanser Komitesi (The American Joint Committee on Cancer) (AJCC) evrelemesinin bir parçası olarak önerilmektedir. Bu üç parametre için puanların toplamı genel histolojik derecedir. Toplamı 3 ile 5 olan tümörler grade 1 (iyi differansiye) olarak tanımlanır, 6 ve 7 toplamı grade 2 (orta differansiye), 8 ve 9 toplamı grade 3 olarak adlandırılır (zayıf differansiye)⁷⁶. Histolojik derecelendirme, prognostik öneme sahiptir⁷⁸.

İnvaziv meme karsinomları birkaç histolojik alt tipten oluşur; alt tiplerle ilgili tahmini yüzdeler, 135.157 kadından oluşan günümüze ait bir nüfus temelli seriden alınmıştır⁷⁷.

- | | |
|--|------|
| 1. İnvaziv Duktal Karsinom (IDC) | %76 |
| 2. İnvaziv Lobüler karsinom (ILC) | %8 |
| 3. Miks Lobüler ve Duktal Karsinom | %7 |
| 4. Müsinöz karsinom | %2,4 |
| 5. Medüller karsinom | %1,2 |
| 6. Tübüler karsinom | %1,5 |
| 7. Papiller karsinom | %1 |
| 8. Diğer nadir tipler (Metaplastik karsinom, İnvaziv Mikropapiller karsinom) | |
| 9. Filloides tümör, memenin Paget hastalığı, inflamatuvar meme kanseri ve diğerleri. | |

Metaplastik ve invaziv mikropapiller meme kanseri dahil olmak üzere diğer alt tiplerin hepsi vakaların %5'inden azını oluşturmaktadır^{71, 77}

İnvaziv meme karsinomları birkaç histolojik alt tipten oluşur. İnfiltratif duktal karsinom invaziv meme kanserlerinin yüzde 70 ile 80'ini oluşturan en yaygın invaziv meme kanseri türüdür. Ayrıca özel tipte olmayan infiltre edici karsinom veya aksi belirtilmedikçe infiltre edici karsinom (NOS) olarak da adlandırılır^{71,76, 79}.

İnfiltratif lobüler karsinom, invaziv kanserlerin yüzde 5 ile 10'unu oluşturan ikinci en yaygın invaziv meme kanseridir. İnfiltratif duktal karsinomlarla karşılaştırıldığında, infiltre lobüler karsinomlar multisentirik ve/veya bilateral, daha differansiye, hormon reseptörü pozitifdir, yaşlı kadınlarda ortaya çıkar, daha sonraları alışılmadık yerlere; meninksler, periton veya gastrointestinal trakta metastaz yaparlar^{79, 80}.

Moleküler alt tipler, gen ekspresyon profillerine dayanarak, Tablo-1'deki moleküler alt tipler tanımlanmıştır. Meme kanseri genetik, epigenetik ve immünopatolojik farklılıklar sebebiyle değişik histolojik ve biyolojik faktörlere sahip, klinik süreçleri birbirinden ayrı, tedavilere verdikleri yanıtları farklı olan heterojen bir hastalıktır⁷⁶. Bu heterojenite hastalığın kişisellik göstermesinin ve hastalığın prognozundaki değişikliklerin ana sebebidir. Gen ekspresyon profili gibi moleküler yöntemlerin gelişmesiyle yeni bir sınıflama olan "Moleküler sınıflama" ya geçilmiş olup, hedefe yönelik tedavi ve bireyselleştirilmiş tedavinin önü açılmıştır^{81, 82}. Son dekatta başlayan moleküler sınıflama çalışmalarında yüzlerce fazla gen ekspresyonu tanımlanmıştır. Fakat bu sınıflandırmalarda yapılacak küçük değişikliklerin subgrupların hiyerarşik kümelenmesinde oldukça farklı sonuçlar doğurabileceği gözlenmiştir. Bu sebeple subgruplandırma yapılırken yalnızca ER (östrojen reseptörü) ve HER-2 (insan epidermal büyüme faktörü) yansımaları ile bağlantılı genlere göre temelde 3 alt tipin tanımlanmasının uygun olduğu gösterilmiştir⁸².

Basitçe tanımlanan subtipler bazal benzeri, HER2+, luminal A ve B'dir. Bu yaklaşım günümüz sınıflandırmasının temelini oluşturmaktadır^{76, 82}.

Moleküler subgruplandırma çalışmalarının büyük kısmı özel olmayan tip duktal karsinomlar temelinde yapılmıştır. Tanımlanan bu gruba birçok tümör tipinin dahil olması sebebiyle daha fazla alt grup belirteciye ihtiyaç duyulmuştur. Genel olarak östrojen-progesteron reseptörü, HER-2 ayrıca Ki-67 indeksi,

epidermal growth faktör reseptörü (EGFR) ve de bazal sitokeratinler (CK5/6 gibi) ile belirlenen immünohistokimyasal (İHK) belirteçler "luminal", triple negatif ve HER2 zengin tümörleri ayırmak için kullanılır. Luminal tümörlerin ayrımının yapılması büyük oranda proliferasyon yoğunluğuna göre olmaktadır. Ki-67 bir proliferasyon belirteci olmasına rağmen hasta takibi veya tedavi süreçlerinde kullanımı ise tartışmalı bir konu olarak durmaktadır. O yüzden Ki-67 sınır değerinin belirlenmesi gayesiyle immünohistokimyasal sonuçlarla birleştirilerek gen ekspresyonu profillemeye çalışmaları yapılmıştır⁷⁸. Fakat kesin bir sınır değer klinik pratikte kullanımının uygun olmadığı ve bu amaçla daha uygulanabilir prognostik belirteçler için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu düşünülmektedir. Bazal tümörleri ise tanımlayacak belirteçler net olmamasına karşın, EGFR ve CK 5/6 kullanımının subgrup tanımlamada ve prognozu öngörmede önemli olacağı düşünülmektedir⁸³.

Luminal alt tipler luminal A ve luminal B olarak karakterize edilirler. Meme kanserinin en yaygın alt tipleridir ve östrojen (ER) pozitif meme kanserlerinin çoğunu oluştururlar^{76, 78}. "Luminal" adı, bu tümörler ve memenin luminal epitelyumu arasındaki gen ekspresyonundaki benzerlikten türetilir. Tipik olarak sitokeratin 8 ve 18'i eksprese ederler.

HER2 ile zenginleştirilmiş alt tip, yani insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 ile zenginleştirilmiş alt tip, meme kanserlerinin yaklaşık yüzde 10 ile 15'ini oluşturur ve HER2 proliferasyon gen kümelerinin yüksek ekspresyonu, lümen ve bazal gen kümelerinin düşük ekspresyonu ile karakterizedir. Bu tümörler genellikle ER ve progesteron reseptörü (PR) için negatiftir. Klinik HER2 pozitif meme kanserlerinin sadece yarısı, HER2 moleküler profillemeye ile zenginleştirilmiştir; diğer yarısı herhangi bir moleküler alt tipi içerebilir, ancak çoğunlukla HER2-pozitif lüminal alt tiplerden oluşur.

Bazal benzeri alt tipler, bu tümörlerin çoğu, ER, PR ve HER2 negatif oldukları için triple negatif meme kanseri kategorisine girer. Kısaca moleküler sınıflama için oluşturduğumuz Tablo-1'i özetlemek gerekirse;

1. Luminal A (östrojen, progesteron reseptörü pozitif ve HER-2 negatif)
2. Luminal B (östrojen reseptörü +veya progesteron + ve HER-2- veya +)
3. HER-2 pozitif (östrojen ve progesteron reseptörü negatif, HER-2 pozitif)
4. Bazal benzeri (hormon reseptörleri- ve HER-2-, CK ve/veya EGFR1 +)

5-Null veya sınıflandırılmayan tip (tüm belirteçler negatif) olarak gruplandırılır⁸⁴.

Tablo 1. Meme kanserinin moleküler sınıflaması.

Luminal A	Luminal B	HER2 +	Bazal benzeri
%55 hasta grubu	%20 hasta grubu	%15 hasta grubu	%10 hasta
Endokrin tedaviye iyi, kemoterapiye değişken cevap	Endokrin tedaviye iyi cevap, Luminal A kadar iyi olmayabilir. KT değişken cevap, Luminal A'dan daha iyi	HER2 hedefli tedavilere ve KT tedavisine duyarlı	KT tedavisine duyarlı
Yüksek ER (+) PR≥%20(+)	Orta ER (+) PR<20(+) veya (-)	ER, PR negatif	ER ve PR negatif
Ki-67<%14	Ki-67> %14		
HER2 negatif	HER2- veya +	HER2 +	HER2 negatif
En iyi prognoz	Prognoz; Luminal A kadar iyi değil	5 yıllık sağ kalım yaklaşık %30	En kötü prognoz

KT: Kemoterapi

Yapılan çalışmalar bu grupların prognozunun farklı olduğunu göstermiştir. Luminal özellik taşıyan tümörler daha iyi gidişat gösterirken, bazal benzeri ve HER-2 + grup hastalıksız ve genel sağkalım süresi en kısa süreye sahiptir^{76, 78}.

1.5. Evreleme

Meme kanseri evrelemesinde TNM evreleme sistemi uluslararası kabul görmüş bir sistemdir ve sıklıkla tercih edilmektedir. TNM sisteminde tümörleri sınıflandırmak amacıyla; tümörün boyutu (T), lenf nodu metastazı durumu (N) ve uzak metastaz varlığı (M) sorularına verilen cevaplarla hastalara evreleme yapılır. Hastalığın evrenmesi ile klinik ve patolojik veriler, tümörün yaygınlığı konusunda ve daha da önemlisi prognoz hakkında kanserli hastalarda tedaviye yön veren önemli bir parametredir. Aynı zamanda, iş birliği hedefleyenler ve profesyoneller arasında, hastaların tedavi ve prognozları hakkındaki tartışmaları kolaylaştırmak için de kullanılır. Ayrıca bu evreleme hastalığın tüm aşamalarını temsil eden çeşitli hasta örneklerinde sağkalımın geriye dönük bir analizine dayanmaktadır^{71, 76, 85}.

AJCC belli aralıklarla evreleme sistemini güncellemektedir. 2017 yılında 8. baskı olarak yeni TNM evreleme sistemini oluşturmuş ve yayınlanmıştır. 1 Ocak 2018 tarihinden itibaren geçerli olan TNM evreleme sisteminin sekizinci baskısı, anatomik evreleme gruplarını ve ayrıca, bir patolojik, bir klinik olmak üzere iki prognostik evreleme grubunu içerir⁸⁵.

Genellikle klinik evre, cerrahi ve neoadjuvan kemoterapi öncesi uygulanmış olan tanı amaçlı çalışmalara dayanarak, fizik muayene ve radyoloji sonuçları (mamografi, ultrason, bilgisayarlı tomografi, magnetik rezonans), bölgesel lenf nodlarının durumu, tümörün biyopsisi ve rezeksiyon olmadan yapılan cerrahi tanısal verileri içerir. Primer tedavinin seçiminde belirleyicidir. Patolojik evre ise klinik evrelemede kullanılan tüm verilerle beraber cerrahi rezeksiyon, lenfatik tutulum ve metastatazların makroskopik, mikroskopik incelemesini kapsar. Prognoz tayini ve tedavi seçiminde önemlidir.

Primer tümörün (T) sınıflandırılması: Klinik ve patolojik sınıflama yapılırken tümör için tercih edilen tanımlar klinik veya patolojik olarak değerlendirildiğinde aynıdır. Evrelemenin klinik veya patolojik kriterlere bağlı olup olmadığını belirtmek için cT veya pT tanımı kullanılır. Elimizde bilgi mevcut ise patolojik sınıflandırma tercih edilir. Tümör boyutunun belirlenmesi hastaya yapılan muayene ile kararlaştırıldıysa, sınıflama için temel gruplar (T1, T2 ve T3),

patolojik ya da görüntüleme ile belirlendiyse T1'in subgrupları tercih edilebilir. Tablo-2 de TNM evrelemesinin T faktörü özetlenmiştir⁸⁵.

Tablo 2. TNM sınıflamasının T faktörü.

Tx	Primer tümör saptanamamıştır
T0	Primer tümör yoktur
Tis	İn situ karsinom
Tis (DCIS)	Duktal karsinoma in situ
Tis (Paget)	Meme başının kitlesiz Paget hastalığı (Pagete bağlı meme parankimindeki karsinomlar, parankimal hastalık boyutu ve özelliklerine göre kategorizasyon yapılır)
T1	En büyük tümör 20 mm veya daha kısa
T1mic	En büyük tümör 1 mm veya daha kısa olacak şekilde mikroinvazyon
T1a	En büyüğü 1 mm'den büyük olan fakat 5 mm'yi geçmeyen tümör
T1b	En büyük boyu 5 mm'den büyük olan ancak 10 mm'yi geçmeyen tümör
T1c	En büyük boyu 10 mm'den büyük olan ancak 20 mm'yi geçmeyen tümör
T2	En büyüğü 20 mm'den büyük olan ancak 50 mm'yi geçmeyen tümör
T3	En büyük boyutu 50 mm'den büyük olan tümör
T4	Boyuttan bağımsız (a) göğüs duvarına ve/veya (b) cilde direkt yayılım
T4a	Göğüs duvarı invazyonu. Sadece pektoral kasa invazyon sayılmaz
T4b	Meme cildinde ülserasyon, ödem (peau d'orange da dahil) veya aynı memede satelit nodüller (inflamatuvar karsinom olmayacak)
T4c	T4a + T4b birlikteliği
T4d	İnflamatuvar meme karsinomu

Lenf nodları (N): Lenf nodu sınıflandırma kriterleri, nodların klinik olarak mı yoksa patolojik olarak mı değerlendirildiğine bağlı olarak değişir. Ayrımı yapmak için cN veya pN tanımı kullanılır. Mevcut ise eğer patolojik sınıflandırma tercih edilir. Bölgesel lenf nodları arasında aksiller, ipsilateral intramammaryal lenf nodları, internal mammaryal ve supraklaviküler lenf nodları bulunur.

İntramammaryal olarak adlandırılan lenf nodu meme dokusunun içinde bulunur ve evrelemede aksiller lenf nodu olarak tanımlanır. Supraklaviküler lenf nodları ise evreleme esnasında rejyonel (bölgesel) lenf düğümleri olarak sınıflandırılır. Servikal lenf nodları veya kontralateral aksiller lenf nodları dahil olmak üzere herhangi bir diğer lenf noduna metastaz uzak (M1) olarak sınıflandırılır. Bölgesel lenf nodu evrelemesi klinik ve patolojik evreleme olarak 2'ye ayrılmaktadır. Tablo-3 ve Tablo-4'de TNM evrelemesinin N faktörü klinik ve patolojik sınıflama olarak özetlenmiştir.

Tablo 3. TNM sınıflamasında N faktörünün klinik sınıflandırması.

cNx	Lenf nodu değerlendirilemiyor (örn. daha önce çıkartılmış)
cN0	Bölgesel lenf nodunda metastaz yok
cN1	İpsilateral mobil level I, II aksiller lenf nodlarında metastaz (fikse değil)
cN1mi	Mikrometastaz (yaklaşık 200 hücre, 0.2-2.0 mm arası)
cN2	
cN2a	Birbirine yada çevreye fikse ipsilateral level I, II aksiller LN metastazı
cN2b	İpsilateral internal mammaryal lenf nodlarında metastaz (klinik açıdan aksiller level I, II LN metastazı olmadan)
cN3	Aksiller lenf nodu tutulumundan bağımsız, ipsilateral infraklavikular lenf nodu (level III) tutulumu veya klinik kanıtlı ipsilateral internal mammaryal lenf nod(ları) metastazı ile birlikte klinik kanıtlı aksiller lenf nodu metastazı ya da aksiller veya internal mammaryal lenf nodu metastazından bağımsız ipsilateral supraklavikular lenf nodları tutulumu
cN3a	İpsilateral infraklavikular lenf nodlarında tutulum
cN3b	İnternal mammaryal lenf nodu + level I, II askiller lenf nodunda metastaz
cN3c	Supraklaviküler lenf nodu tutulumu

Tablo 4. TNM sınıflamasında N faktörü patolojik sınıflama.

pNx	Lenf nodu saptanamıyor (örn. Önceden patolojik inceleme amaçlı çıkartılmış ya da çıkartılmamış)
pN0	Histolojik açıdan lenf nodu tutulumu yok veya sadece izole tümör hücreleri (ITH)
pN0(i+)	Histolojik lenf nodu tutulumu yok, pozitif IHK, 0.2 mm'den büyük olmayan IHK kümesi
pN0(mol+)	Histolojik açıdan veya IHK ile LN tutulumu yok, moleküler pozitif RT-PCR**
pN1	Mikrometastaz, 1-3 aksiller lenf nodu ve/veya internal mamaryal lenf nodunda sentinel lenf nodu biyopsisi ile saptanmış mikro-makro metastaz ama klinik olarak negatif***
pN1mi pN1a pN1b pN1c	Mikrometastazlar (yaklaşık 200 hücre, 0.2-2.0 mm arası) En az biri 2.0 mm'den geniş 1-3 adet aksiller lenf nodu tutulumu İpsilateral internal mamaryal sentinel LN metastazı, ITH hariç PN1a ve pN1b birlikte
pN2	4-9 aksiller LN tutulumu veya aksiller LN tutulumu olmadan internal mammaryal lenf nodlarında klinik **** tutulum
pN2a pN2b	En az bir tümör odağı 2.0 mm'den büyük olacak, 4-9 aksiller LN tutulumu Aksiller LN tutulumu yokken, internal mammaryal lenf nodunda klinik **** tutulum
pN3	10 ve üstü aksiller LN, veya infraklaviküler (level III aksiller) LN, veya 1-3 aksiller (level I, II) LN pozitif olduğunda klinik olarak **** ipsilateral internal mammaryal LN tutulum; veya klinik olarak negatif internal mammaryal LN sentinel lenf nodu biyopsisi ile saptanan mikro veya makrometastazla beraber üçten çok aksiller LN metastazı; veya ipsilateral supraklaviküler LN metastazı
pN3a pN3b pN3c	10 ve üstü aksiller LN tutulum (en az bir tümör boyutu 2.0 mm'den büyük), veya infraklaviküler LN tutulumu cN2b ile birlikte pN1a veya pN2a (internal mamaryal lenf nodu pozitifliği); veya pN1b ile birlikte pN2a İpsilateral supraklaviküler lenf nodlarında metastaz

Not: 0.2 mm ölçüsünden büyük olmayacak şekilde tek tümör hücreleri ya da 200'den daha az hücre içeren küçük hücre toplulukları 'izole tümör hücreleri (ITH)' ismiyle adlandırılır.

** Reverse transkriptaz / polimeraz zincir reaksiyonu *** Görüntüleme yöntemleri ya da muayene sonucu saptanamayan metastazlar için 'klinik olarak belirgin olmayan' tanımlaması tercih edilir.

****Görüntüleme yöntemleri ya da muayene sonucu saptanan metastazlar için 'klinik olarak belirgin' tanımlaması tercih edilir.

Metastaz Durumu (M): Metastaz sınıflandırmasındaki değişiklikler, sekizinci baskıda, pM0'ın kullanılmaması gerektiğine dair açıklama eklendi. Vakalar cM0 veya cM1'dir ve cM1 hastalığı biyopsi ile doğrulanırsa, pM1 kullanılmalıdır.

Tablo 5. TNM sınıflamasının M faktörü.

M0	Uzak metastaza dair herhangi bir kanıt yok
cM0(i+)	Metastaz bulguları olmayan bir hastada kanda, ilikte veya bölgesel olmayacak nodal dokularda 0,2 mm'yi geçmeyecek molekül veya mikroskopik şekilde algılanan tümör hücrelerinin birikmesi
M1	Histolojik açıdan 0,2 mm'den büyük olacak şekilde ya da radyografik ve kliniksel yöntemlerle belirlenmiş uzak metastazlar

Meme kanserinde TNM evrelemesi: TNM sınıflamasına göre meme kanserinde anatomik evrelerin gruplandırılması tablo-6'da gösterilmiştir.

Tablo 6. TNM sınıflamasına göre meme kanserinde evreleme

Anatomik Evreleme/ PROGNOSTİK GRUP			
EVRE 0	Tis	N0	M0
EVRE IA	T1*	N0	M0
EVRE IB	T0	N1mi	M0
	T1	N1mi	M0
EVRE IIA	T0	N1**	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
EVRE IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
EVRE IIIA	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T3	N2	M0
EVRE IIIB	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
	T4	N2	M0
EVRE IIIC	Herhangi T	N3	M0
EVRE IV	Herhangi T	Herhangi N	M1

*T1, T1mic'i de kapsar. **Nodal mikrometastaza sahip T0, T1 tümörler EVRE IIA'nın dışında tutulur ve EVRE IB'ye dahil edilir.

Metastatik olmayan meme kanseri yaygın olarak iki kategoride değerlendirilir. Erken evre, Evre I, IIA ve IIB'nin T2N1M0 alt sınıfını içerir. Lokal ileri evre, Evre IIB'nin T3N0M0 alt sınıfını ve evre III hastaları içerir.

2. Meme Kanseri Tedavisinde Antrasiklinler

Erken tanı ve hedefe yönelik yeni tedavi seçeneklerinin geliştirilmesiyle birlikte kanser hastalığında giderek daha tatmin edici sonuçlar alınmaktadır ve modern kanser tedavilerinde antrasiklinler çok büyük bir role sahiptir. Günümüzde, kanser yaşam boyunca her 3 kişiden birini etkilemektedir ve gelişmiş ülkelerde kardiyovasküler hastalıkla birlikte önde gelen iki ölüm nedeninden birini oluşturmaktadır. En yaygın 20 maligniteye bakıldığında 10 yıllık genel sağkalım oranı %50 iken, meme, lenfoma melanom ve uterin kanserlerde ise hastalığı bu oran %80 ve üzerindedir. Bu oranlar, gelişmiş ekonomilerde sağkalım oranlarında ciddi bir iyileşme kaydedildiğini göstermektedir. Birleşik Krallıkta, sağkalım oranları erişkinlerde son 40 yıl içerisinde 2 katına çıkmıştır ve çocuklarda ise 1960'lı yıllardan bu yana yaklaşık 3 katına çıkmıştır. Bunlarla birlikte, kanser hastalığında uzun süreli sağkalım yönünden elde edilen bu iyileşmeler kanser tedavisinin kendisinin sahip olduğu advers kardiyak etkilere ilişkin farkındalığın da artmasına yol açmıştır⁸⁶.

Keşiflerinin üzerinden geçen 50 yıla rağmen, antrasiklinlerin anti- tümör ve kardiyotoksik etki mekanizmaları giderek daha fazla ilgi uyandırmaktadır. Antitümör antibiyotikler başlığında yer alan antrasiklinler, hem tedavi protokollerinde çok sık kullanılması, hem de kardiyak yan etkiler açısından kardiyonkoloji çalışmaları için tipik bir ilaçtır.

Antrasiklin grubu ilaçlar 1950'lerde, *Streptomyces peucetius*'tan daunorubisinin tanımlanması ile ortaya çıkmıştır⁷. Antrasiklinler; polisiklik, aromatik ve kırmızı pigmentli antibiyotik grubu antineoplastik ilaçlardır. Antrasiklinler solid tümörlerin ve hematolojik malignitelerin tedavisinde etkinlikleri çok iyi olması nedeni ile kliniklerde fazlasıyla kullanılmaktadır. Örneğin, meme kanseri hastalarının %32'sinde, ileri yaştaki lenfoma hastalarının 57 ile %70'inde ve çocukluk çağı kanserlerinin %50 ile %60'ında tedavide antrasiklin rejimi kullanılmaktadır⁸⁶.

Mevcut durumda antrasiklin bazlı rejimler, adjuvan olsun ya da neoadjuvan olsun birçok tedavi rejiminde, metastatik hastalar için de çok sık tercih edilmektedir. Diğer tarafta ise, antrasiklinler geri dönüşümsüz bir şekilde kardiyak hasar yapabilir, bu da kardiyak nedenlerle prognozu etkiler⁸. Bu tip

etkili ilaçların kardiyak yan etkilere bağı endişelerden ötürü kullanımlarından kaçınılması ise hastaların kanser tedavisini kötü etkileyebilir^{9, 10}.

Önceki yıllarda yapılan araştırmalar bize şunu göstermiştir, antrasiklinli protokoller, antrasiklin barındırmayan rejimlere göre daha üstündür. Antrasiklinli kemoterapi protokolleri, nüks etme ihtimalini ayrıca mortalite oranlarını ciddi derecede düşürdüğünü ispatlayan bu yayınların ardından antrasiklinler, kemoterapi tedavi rejimlerinde meme kanserinin temel taşı olmaya başlamıştır^{71,87,88}.

İleri evre meme kanserinin tedavi planları içerisinde neoadjuvan kemoterapi (NAKT) uygulamaları, çok uzun zamandır tercih edilmektedir. Daha önceleri doksorubisinin yanına vinkristin eklenerek uygulanan neoadjuvan protokoller ile tedavi denenmiş meme kanseri hastalarının dahil edildiği bir araştırmaya göre, grubun %16'sı tam yanıt, %55'i kısmi yanıt ile kemoterapiye cevap vermiştir. Yapılan araştırmanın umut veren sonuçları, neoadjuvan protokolleri açısından birçok yeni araştırmaya ön ayak olmuştur⁸⁹. Genelde, antrasiklin ve/veya taksan bazlı protokollerle oluşturulan neoadjuvan tedavi, birçok araştırmada, meme koruyucu cerrahi şansını yakalayan hasta oranının artmasını sağlamıştır^{71, 76}. Bir diğer elde edilen veri, neoadjuvan uygulamanın, hele ki taksanlarla beraber, verilmesinin klinik cevabın yanında patolojik tam yanıt (pCR) da sağladığını ortaya koymuştur^{88, 90}.

Neoadjuvan olarak dört kür AC (Adriamisin-siklofosfamid) kemoterapisi ardından dosetaksel eklenerek rejimin sürdürüldüğü grup patolojik tam yanıt (pCR) oranını %26,1 ile sonuçlandırırken, tek başına 4AC alan grup için bu oran %13,7 olarak görülmüş ve meme koruyucu cerrahi sayısında artmaya sebebiyet verdiği gösterilmiştir⁹¹. Metastatik meme kanseri hastalarında, tek başına doksorubisin ile %25-%60 aralığında farklı tedavi yanıt rakamları çalışmalardan tespit edilmiştir⁹². Doksorubisin bazlı KT rejimleri, önceden doksorubisinsiz kemoterapi alan metastatik meme kanserleri için başlangıç aşamasında birinci seçenek olarak tercih haline gelmiştir. Doksorubisinin dahil olduğu rejimler ile tedavi cevapları yüzde 50 ile yüzde 80, tedavi yanıt süresi ise 8-15 ay bandında değişebilmektedir. Doksorubisin içeren protokollü kemoterapi rejimleri, ileri evre hastalarda doksorubisinsiz kombinasyonlardan daha etkilidir^{71, 76, 88}.

En sık kullanılan antrasiklinler; Adriamisin (doksorubisin), daunorubisin, idarubisin, epirubisin ve mitoksantrondur^{14, 86}. Epirubisin ve idarubisin sentetik analoglarıdır, doğal olan antrasiklin ilaçlar ise doksorubisinle beraber daunorubisindir. Kimyasal açıdan minimal farklılıklar barındırmalarına rağmen klinik aktivitede bu farklılık daha fazladır. Klinik uygulamalarda ilk olarak doksorubisin ve daunorubisin kullanılmıştır. Daunorubisin ve idarubisin daha çok lösemilerde tercih sebebiyken, doksorubisin ile epirubisin solid kanserler için daha yüksek etkinlik göstermektedir. Doksorubisinin bir stereoizomeri olan epirubisin, doksorubisine kıyasla daha geniş dağılım hacmine ve daha uzun bir yarılanma ömrüne sahiptir. Daunorubisinin bir türevi olan idarubisin ise daha lipofilik bir ajandır ve hücrel uptake daunorubisine kıyasla daha yüksektir^{86, 93}. Elimizdeki bu kemoterapi ilaçları, DNA ve RNA ya da her ikisini bloke eder ve DNA iplikçiklerinin parçalanması yoluyla hücre replikasyonunu engeller. Bunun dışındaki mekanizmalarıysa; serbest oksijen radikalleriyle topoizomerez-II (TOP2)'yı inhibe edip ayrıca hücre membranına bağlanarak akışkanlık ve iyon transportu değişimi sağlamaktır⁹³.

Meme kanseri hastalarında yaygın olarak kullanılan ve tedavinin en önemli ayağını oluşturan Adriamisin (doksorubisin) bazlı kemoterapi rejimleri onkoloji kliniklerinin çok aşına olduğu protokolleri oluşturur, lakin en önemli yan etkisi yukarıda detaylıca bahsettiğimiz gibi kardiyak yan etkilere sahiptir. Tüm bu gerekçelerle, oluşabilecek ventriküler yan etkilere mani olabilmek amacıyla, doksorubisinle ilişkili kardiyak toksisitenin erken tespiti kardiyoloji ve onkoloji disiplinleri için büyük önem arz etmektedir¹⁵.

2.1. Doksorubisin ile İndüklenen Kardiyotoksosite

Primer ve sekonder malignitelerin nüksünden sonra, kanser hastaları arasında kardiyovasküler hastalıklar en sık morbidite ve mortalite nedenidir. Antrasiklin ile ilişkili kardiyotoksosite için bildirilmiş oranlar %57'ye varabilmektedir ve bu kardiyak problemler nedeniyle gelişen mortalite normal kişilere kıyasla 8,2 kat daha yüksektir⁹⁴. Kanserden kurtulan çocuklarda kalp yetmezliği ve koroner arter hastalığı için göreceli risk, sağlıklı kardeşlerine göre sırasıyla 15 ve 10 kat daha yüksektir⁹⁵. Benzer şekilde, kanserden kurtulan çocuklarda perikardiyal hastalıkların görülme riski 3-10 kat yüksektir⁹⁵. Kapak

hastalıklarının görülme oranı ise sağlıklı kardeşlere kıyasla 5 kat daha yüksektir⁹⁵. Kemoterapötik ajanlar neoplastik hücre bölünmesi üzerinde etki göstermektedirler. Bahse konu bu ilaçlar kardiyovasküler sistem üzerinde öngörülemeyen birtakım etkilere sahiptir ve kardiyovasküler sistemin rejeneratif kapasitesini sınırlandırmaktadır⁹⁶.

Literatürde kardiyotoksisite mekanizmaları ile ilgili, birçok araştırma bulunmaktadır, antrasiklinler hücre içerisine pasif difüzyon yoluyla girmektedir. Kardiyomiyositlerde kardiyolipin konsantrasyonlarının yüksek oluşu ve kardiyolipinin antrasiklinlere karşı yüksek afinitesi sebebiyle kardiyomiyositlerin sitoplazmik kompartmanında antrasiklin konsantrasyonları çok daha yüksek olabilmektedir. Antrasiklinler intrasellüler demir ile kompleksler oluşturmakta ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimine neden olmaktadır. Bu kompleksler ayrıca elektron taşıma zincirini bozarak yüksek düzeyde ROS üretimine ve ATP (Adenozin Trifosfat) sentezinin bozulmasına yol açmaktadırlar. Oksidatif stres sebebiyle indüklenen nitrik oksit sentaz enzimi ile nitrik oksit ve peroksinitrit üretimi meydana gelmektedir ve bu enzim miyofibriler kreatin kinazı ve diğer önemli kardiyak enzimleri inaktive etmektedir. Bir kardiyak antioksidan olan glutatyon peroksidaz antrasiklin varlığında deplesyona uğramaktadır. Sonuç olarak, hali hazırda hasarlı durumda bulunan mitokondri artmış olan oksidatif stresi düzenleyememekte, buna bağlı olarak daha fazla hasar oluşmakta ve nihayetinde de hücre ölümü meydana gelmektedir⁹⁶⁻⁹⁸.

Antrasiklin ile ilişkili kardiyotoksisiteye dair hipotez olarak ileri sürülmüş çeşitli diğer mekanizmalar mevcuttur bunlar arasında apoptoz indüksiyonu, vazoaaktif aminlerin üretimi, toksik metabolitlerin formasyonu, nitrik oksit sentaz upregülasyonu ve transkripsiyon ve translasyon inhibisyonu yer almaktadır⁹⁶⁻⁹⁸.

Antrasiklinlere maruz kalan kardiyomiyositlerde oksidatif yolağa bağlı olan ya da olmayan çeşitli diğer değişiklikler de gözlenmektedir. Bahse konu bu değişimlerin arasında kardiyak kök hücrelerin deplesyonu, DNA sentezinde bozulma, hücre ölümünü tetikleyen yollarında bozulma, sinyal gen ekspresyonunda değişim, sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum salınımının inhibisyonu, sarkomerlerdeki titin proteininin formasyonunda bozulma ve mitokondriyal kreatin kinaz aktivitesi ve fonksiyonlarında bozulma yer almaktadır. Bahsi geçen subsellüler süreçler genellikle antrasiklin maruziyetinin

ardından haftalar boyunca devam etmektedir ve bu durum kronik kardiyomiyopatinin mekanizmasını açıklamaktadır⁹⁶⁻⁹⁸.

Topoizomeraz 2 β ; Son dönemde, topoizomeraz-II β (Top2 β) alterasyonları, özellikle de DNA çift iplik kırılmalarını indükleyen Top2 β - doksorubisin-DNA üçlü bölünme kompleksindeki alterasyonlar doksorubisin aracılı kardiyotoksisitenin diğer bir mekanizması olarak öne sürülmektedir. Farelerde gerçekleştirilen bir çalışmada, Top2 β 'nin kardiyomiyosit spesifik delesyonunun kardiyoprotektif olduğu saptanmıştır^{96, 99}.

Antrasiklinler, transkripsiyon ve replikasyonu doğrudan etkileyerek DNA ile interkalasyon yapabilirler. Daha da önemlisi topoizomeraz ile heterotrimerik bir kompleks oluştururlar. Oluşan bu kompleksler; enzimatik etkiyi bozarlar, bu enzimatik fonksiyon DNA replikasyonu ve onarımı için gereklidir, o yüzden apoptozise sebebiyet verir. Topoizomeraz farklı tiplerden oluşur. Hızlı bölünebilen kanser hücreleri, yüksek miktarda topoizomeraz II alfa (TOP2 α) düzeyi eksprese ederler, Topoizomeraz 2 beta (TOP2 β) ise her hücrede eksprese edilir; kardiyak hücrelerde ise yalnızca TOP2 β bulunur, TOP2 α ise bulunmaz. Antrasiklin grubu ilaçlar ise TOP2 α ve TOP2 β 'yı hedeflerler. Yapılan bir araştırma sonucunda topoizomeraz 2 beta geni olmayan farelerde antrasiklin verildikten sonra ne akut dönem ne de kronik dönemde kardiyotoksisite gözlenmemiştir. Çalışmadaki mutant fareler için, doksorubisin kardiyak hasarının en önemli ölçüm parametresi olan EF değerinde bir düşüş gözlenmemiştir^{99, 100}.

Top2 β 'nin antrasiklin aracılı kardiyotoksisiteye karşı duyarlılığın belirlenmesinde bir belirteç olarak kullanılabilme potansiyeli taşıdığını göstermektedir⁹⁶⁻⁹⁸.

Doksorubisine bağlı gelişen kardiyak toksisite doz bağımlı ve kümülatiftir. Bazı çalışmalara göre hayat boyu doksorubisin 400 mg/m²'lik doza ulaşıldığı anda yüzde 5 kalp yetmezliğine sebep olur ve dozun daha fazla alınması halinde bu oluşan risk de katlanarak yükselişe sebebiyet verir, 700 mg/m² dozda ise yaklaşık %48 gibi risk artışı ile ilişkilidir. Burada asıl dikkat edilmesi gereken nokta, doksorubisine hassasiyet açısından hastaların risk faktörlerinin kişiden kişiye göre değiştiğidir. Hastalar çoğunlukla normal doz doksorubisini uzun süre komplikasyon yaşamadan atlatırken, bazı hastalarda ise tedavinin henüz ilk dozundan itibaren kardiyak toksisite karşımıza çıkabilmektedir⁶.

Kardiyotoksisite riski yıllar içinde artış gösterir. Bu nedenle kardiyotoksisite için risk grubundaki hastaların semptomatik olmadan önce belirlenmesi önem taşır. Klinik olarak belirgin kalp yetmezliği yaşayanlara ek olarak asemptomatik şekilde kardiyak fonksiyonlarını yitirenlerin %18 gibi ciddi bir oranda olması kardiyotoksisitenin başlangıç aşamasında tespitini kıymetli kılar¹⁶. Lakin rutinde henüz elimizde kardiyotoksisiteyi erkenden saptayabilecek istenen özelliklerde bir biyobelirteç mevcut değildir.

Eğer antrasikline bağlı gelişen kardiyak disfonksiyon mümkün oldukça erken tespit edilebilir ve kalp yetmezliği ilaçları ile tedavi edilirse, hastalar çoğunlukla belirgin fonksiyonel iyileşme gösterebilirler. Fakat, hastalar kardiyak fonksiyon kaybının başlangıcında değil, geç döneminde saptanırsa, kalp yetmezliği tedavisi daha da güç bir hal alır¹¹. Yapılan çalışmalar, antrasiklin tedavisi ardından %9 genel kardiyotoksisite insidansı olduğunu ve vakaların %98' inin birinci yılda ortaya çıktıklarını ve asemptomatik olduklarını gösterdi. Antrasiklinlere bağlı kardiyotoksisite, yüksek olasılıkla sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunda progresif ve kalıcı bir düşüş ile kendini gösteren bir antitedir. Etkilenenlerin birçoğu önceleri semptom göstermezler ve klinik semptom ve bulgular uzun yıllardan sonra, genelde diğer kardiyak risk faktörlerinin de eklenmesiyle klinikte karşımıza çıkmaktadır. İşte bu bilgilerden öğrendiklerimize göre doksorubisin ve türevlerinin, hastalarda kompanzasyon mekanizmalarını bozduğunu gösterir^{12, 13}.

2.2. Kardiyotoksisite Gelişiminin Risk Faktörleri

Antrasiklinlerin kardiyotoksisitesi doz bağımlı olduğu için yüksek kümülatif doz ile risk artmaktadır. Dozdan bağımsız olarak tedaviye başlandığında 65 yaş üstünde veya çocuk yaşta olmak, kadın cinsiyet, böbrek yetmezliği, toraks bölgesine radyoterapi öyküsü, diğer kemoterapiler, önceden var olan komorbiditeler (kardiyak yüke sebep olan kalp hastalıkları, hipertansiyon ve genetik riskler) riski arttırmaktadır⁶.

Kümülatif antrasiklin dozu: Kümülatif antrasiklin dozu geç kardiyotoksisiteye dair en güçlü prediktördür. Birçok çalışma bulgusuna göre kümülatif dozdaki artış kardiyotoksisite riskini arttırmaktadır. Güvenli antrasiklin dozu mevcut değildir. Risk kümülatif doz ve takip süresindeki artışla birlikte yükselir^{96, 101}.

Doksorubisin aracılı indüklenen kardiyotoksisite, doz artımı ve doksorubisin kümülatif dozuyla ciddi miktarda artar. Kişi için 400 mg/m² toplam doksorubisin dozu için tahmini olarak %5 civarı, 500 mg/m² toplam doz ile bu risk kabaca %10'u geçmektedir. Eğer uygulanan kümülatif doz 550 mg/m²'den fazla ise bu durumda vakaların %25'inde semptom gösteren KKY oluşması beklenebilmektedir^{101, 102}.

Genetik faktörler: hayatta kalan kanser hastaları arasında kardiyotoksisitenin derecesi bakımından mevcut olan farklılıklar herediter faktörler ve genetik değişkenlik ile açıklanabilir. Bilindiği üzere, antrasiklinler demir ile kompleksler oluşturarak ROS üretimine yol açmaktadır ve bunun neticesinde de lipid peroksidasyonu ve DNA hasarı meydana gelmektedir. Dokularda demir birikimiyle karakterize bir demir metabolizması bozukluğu olan herediter hemokromatozis hastalığında, doksorubisin almış olan C282Y mutasyonu heterozigot taşıyıcılarındaki kardiyak troponin-T (Tn-T) konsantrasyonları, doksorubisin almış olan ve bu mutasyonu taşımayan kişilere kıyasla daha yüksektir. Trizomi-21 mevcut olan hastalarda hücre içi ROS oluşumunda da 3 ile 4 kat artış söz konusudur. NAD(P)H oksidaz subunit NCF4 genindeki bir polimorfizmin antrasiklin kaynaklı toksisite ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Benzer şekilde tanımlanmış birçok mutasyon ve polimorfizmin antrasiklin kaynaklı kardiyotoksisitede rol oynayabileceği düşünülmektedir^{96, 103}.

Endokrin bozukluklar: Çocukluk çağında büyüme hormon eksikliğinin tabloya eklenmesi, dislipidemi ve metabolik sendrom gibi endokrin bozukluklar SoV yetersizliğiyle sonuçlanabilmektedir⁹⁶.

Cinsiyet: Eşdeğer dozlar verildiğinde kadınlardaki SoV disfonksiyonu riski erkeklerden daha yüksektir. Lakin sebebi net değildir¹⁰⁴.

Yaş: 4 yaşından önce tanı konmuş kişilerde, SoV kütlesi daha az olduğundan ve doksorubisin miyokardiyal gelişimi inhibe ettiğinden geç mortalite riski daha yüksektir^{96, 105}.

Yaşam şekli: Sigara, alkol ve yasa dışı ilaç kullanımı geç toksisite riskini arttırabilmektedir^{96, 104}.

Komorbiditeler: Obezite, insülin direnci, metabolik sendrom, dislipidemi, hipertansiyon, renal ve pulmoner hastalıklar gibi konvansiyonel risk faktörleri geç kardiyotoksisite riskinde artışa sebep olur¹⁰⁶.

2.2.1. Antrasiklin Tedavisi Alan Hastalarda Kardiyovasküler Yönetim

Antrasiklinle tedavi edilen kişilerin başlangıç kardiyak fonksiyonları tedavi öncesi mutlaka belirlenmelidir. Bu muayene esnasında hastalarda sistolik fonksiyonlarda bozukluk yada önemli kalp hastalıkları görülür ise hasta onkolog ile değerlendirilmeli ve mümkünse antrasiklinsiz rejimler ve de kardiyovasküler koruyucu önlemler değerlendirilmelidir⁶. Antrasiklin verilmesi halinde ise, eğer vakanın kardiyotoksisite için yüksek risk grubuna girdiği belirlenir ise ya da tedavi protokolünde kardiyotoksik etki yaratabilecek başka tedaviler planlanacaksa tedavi bitiminde kardiyoloji muayenesi tekrarlanmalı ve kalp fonksiyonları detaylıca incelenmelidir. Çok yüksek miktarda antrasiklin grubu barındıran rejimlerde ve başlangıç aşamasında kardiyak riski fazla olan vakalarda ise 240 mg/m² toplam doksorubisin dozu biter bitmez erken aşamada kardiyak muayene ile kalp fonksiyonları incelenmelidir. Başlangıç aşamasında bir veya daha fazla kardiyak biyokimyasal parametre ölçümü, kardiyak spesifik troponin ya da BNP akla gelmelidir. Ayrıca antrasiklinli kemoterapinin her tekrarında troponin-I çalışılması önerilir. Belirli periyotlar ile kardiyotoksisite tespitine yönelik ölçümler yapılması gerekmektedir. Bu hastaların taramalarının ekokardiyografi, nükleer görüntüleme, KMR görüntüleme ile de yapılabileceği ifade edilmektedir. Böyle bir yöntem ile kardiyak toksisiteyi uzun dönem engellemek veya iyileşmeyi sağlamak konusunda elimizde yeterli kanıt olmasa dahi biyokimyasal parametrelerin artışı toksisite için yüksek riskli hastaları ön görmemizi sağlar. İşte bu tip hastaların kardiyotoksisitesinin engellenmesi için kardiyak belirteç ölçümleri fayda sağlayabilir⁶.

2.3. Kardiyotoksisitenin Sınıflandırılması

Antrasiklinin indüklediği kardiyak toksisite genelde erken ya da geç dönem komplikasyonlar olarak kliniğe yansır. Erken kardiyotoksisite çoğunlukla en son dozdan sonraki 3 aylık süreçte gözlenmektedir¹⁰⁷.

Akut olarak kardiyotoksisitede; aritmiler, diğer EKG anormallikleri ya da akut perikard sorunları ve EF düşüşü ile prezente olabilir. Geç dönem kardiyotoksisite durumunda, tedavi bittikten sonraki yıllar içinde prezente olur.

Klasik KY kliniğiyle veya myokard fonksiyonlarında asemptomatik bir azalma ile de gerçekleşebilir^{6,107}. Daha detaylı bahsetmek gerekirse, antrasiklin kardiyotoksitesi kabaca akut dönem, erken ya da geç dönem içinde belirginleşebilir (Tablo 7). Akut dönem de özellikle supraventriküler taşikardi, geçici sol ventrikül fonksiyon kaybı ve EKG anormallikleri vakaların çok az bir kısmında ilaç verilmesinin hemen arkasında meydana gelir ve reversibildir. Lakin bu ilk dönemdeki akut fonksiyon bozukluğu gelecek yıllardaki kardiyotoksiteyi belirleyecek olan kalp kası hücrelerinin hasarının bir öncülü de olabilir. Kardiyak hasarın reversible ya da progresif mi seyredeceğini belirleyecek kanıta dayalı bir stratejimiz henüz yok; fakat, klasik kardiyak biyokimyasal belirteçlerin yükselmesi uzun vadede kardiyotoksite gelişmesi açısından riskli hastaların tanınmasında bizlere yol gösterebilir. Kardiyak erken yan etkiler ilaç uygulamasından sonraki 1 yıl içinde, geç etkiler ise genelde 1 yıl sonra klinik olarak ortaya çıkarlar^{108, 109}. Genelde en sık tercih edilen dozlarda antrasiklin alan ve 65 yaşından küçük hastalarda antrasiklin nedeni kalp yetmezliği yüksek (%10) düzeylerde olabilir^{6,110}.

EF'de erken dönem ya da geç dönem için yapılan azalış tanımlamaları; geçmişe dönük yapılan araştırmalarda kalp yetmezliğinin ortaya çıkışıyla ya da çocuk hastalardan random yapılan analizlere göre belirlenmiştir. 5,2 yıl boyunca hastaların takip edildiği günümüze ait bir çalışma, antrasiklinlerin tedavisinden sonra yaklaşık %9 genel kardiyak toksite insidansını ortaya koymuştur. Araştırmadaki hastaların ezici çoğunluğu ilk 1 yıl içinde yakalanmıştır ve vakalar asemptomatiktir¹².

Antrasiklinlere bağlı kardiyotoksite, yüksek olasılıkla sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunda progresif ve kalıcı bir düşüş ile kendini gösteren bir antitedir. Etkilenenlerin birçoğu önceleri semptom göstermezler ve klinik semptom ve bulgular uzun yıllardan sonra, genelde diğer kardiyak risk faktörlerinin de eklenmesiyle klinikte karşımıza çıkmaktadır. İşte bu bilgilerden öğrendiklerimize göre doksorubisin ve türevlerinin, hastalarda kompanzasyon mekanizmalarını bozduğunu gösterir^{6, 13}. Bir başka detay ise, bizler bu hastaların kardiyak fonksiyon kaybını daha erken tespit edebilirsek ve kalp yetmezliği için gerekli ilaçlar ile hastaları tedavi edersek, hastaların çoğunluğu fonksiyonel olarak iyi bir seyir gösterir ve iyileşebilirler ama hastalar

kardiyotoksisitenin geç döneminde saptanırsa yetmezlik tedavisi erken tespite göre daha güçtür¹¹.

Antrasiklinin indüklediği kardiyak hasar için bazı risk faktörleri daha önce tanımlanmıştır. İleri yaş, kümülatif ilaç dozu, bilinen kalp hastalığı eşlik eden diğer KT ajanlarının verilmesi, radyoterapi öyküsü gibi etkenleri saymak mümkündür^{6,111}.

Tablo 7. Antrasiklinlerin kardiyotoksisitesinin farklı tiplerinin özellikleri

Özellik	Akut Kardiyotoksisite	Erken Başlangıçlı Progresif Kardiyotoksisite	Geç Başlangıçlı Progresif Kardiyotoksisite
Başlangıç	İlk hafta içerisinde	Tedavinin tamamlanmasından sonra 1 yıl içerisinde	Tedavinin tamamlanmasından en az 1 yıl sonra
Risk faktörleri ile ilişkisi	Bilinmiyor	Var	Var
Erişkinlerdeki klinik özellikler	Miyokard kontraktilesinde geçici depresyon	Dilate kardiyomiyopati	Dilate kardiyomiyopati
Çocuklardaki klinik özellikler	Miyokard kontraktilesinde geçici depresyon	Restriktif kardiyomiyopati ve/veya dilate kardiyomiyopati	Restriktif kardiyomiyopati ve/veya dilate kardiyomiyopati
Seyir	Tedavinin kesilmesiyle birlikte genellikle geri dönüşlü	Progresif seyredebilir	Progresif seyredebilir

2.4. Kardiyotoksisitenin Saptanmasında Kullanılan Yöntemler

Avrupa Kardiyoloji Derneği'nin (ESC) 2016 yılı klavuzunda kardiyak görüntüleme araçlarından ve biyokimyasal belirteçlerden bahsedilmiştir. Klavuz ayrıca yöntemlerin belirlenmesinde yerel dinamikleri ve imkanları dikkate alırken bazı temel ilkeleri de önemsememizi istiyor:

-Tedavi süresince tekrarlanması kolay görüntüleme araçları ya da tetkikleri tercih ederek, tedavinin sürdüğü dönem boyunca aynı yöntemi veya belirteci kullanmamız en ideal olanıdır.

- Hastanın kardiyak durumunu belirlemek için bizlere sağ ventrikül fonksiyonları, pulmoner basınç değerleri, kapak fonksiyonları gibi ekstra bilgi veren görüntüleme araçlarını tercih etmeliyiz

- Mümkün ise radyasyon barındırmayan kaliteli görüntüleme araçları ilk planda düşünülmelidir⁶.

ESMO (Avrupa Medikal Onkoloji Derneği) kardiyak takip için oluşturduğu rehberlere göre antrasiklin başlanacak hastalar tedavi öncesinde EKO ile değerlendirilmeli, her antrasiklin dozu bitiminde troponin ölçümleri ile takip edilmelidir. Bu süre içinde troponin bakılamaması durumunda ise tedavi bitiminde ekokardiyografi ile tekrar kardiyak değerlendirme yapılmalıdır. Kemoterapi sürdüğü dönemde ise troponin düzeylerinde artış yaşanan hastalar 1.yıl içinde üç ayda bir, sonraki beş yıl içinde ise yılda 2 defa EKO ile takip edilmelidir. Troponin düzeyleri değişmeyenler ise yılda 1 kez EKO takibi ile değerlendirilmelidir¹¹².

2.4.1. Elektrokardiyografi

Elektrokardiyografi basit, ucuz ve ulaşılabilir olması ve birçok bulguyu göstermesi nedeniyle tüm hastalara tedavi başlanmadan ve tedavi süresince önerilir. Hastaların yaşayacağı taşikardi, QT süresinin uzaması, ST-T değişiklikleri, ileti defektleri veya diğer aritmiler için EKG bulguları ile kardiyotoksisitenin saptanmasında faydalıdır. Fakat bu bulguların hiçbirisi duruma spesifik değildir ve diğer faktörlerden de etkilenmiş olabilir. Bir diğer konu ise tespit edilen EKG değişimleri geçici olabilir ve kronik dönemde oluşacak kardiyak yetmezlik gelişimi ile alakalı değildir⁶.

2.4.2. Ekokardiyografi

Ekokardiyografi kanser hastaları için tedavinin her aşamasında kardiyak fonksiyonları saptama için ilk tercih edilecek yöntemdir¹¹³.

Ekokardiyografik görüntülemelerde kardiyak sistemin anatomisi, fonksiyonu ve hemodinamik parametrelerini ölçmek için yüksek frekans ses dalgası kullanılır. Ekokardiyografiyi bu kadar cezbedici kılan şey, tekrarlanması kolay, radyasyon içermeyen, ulaşılabilir olması gibi yönleridir. Dezavantajı ise değerlendirmeyi yapacak kişiler arasında farklı sonuçların çıkması ve görüntünün netliğindeki farklılıklar nedeni ile hatalı sonuçlar çıkabilmektedir⁶.

ESC'nin 2016 yılında yayınlanan en sonuncu "Kanser tedavileri ve tedavi sırasında gelişen kardiyotoksisite" kılavuzuna göre EKO ile yapılacak ölçümlerde temelde üç boyutlu EKO ile EF ölçülmesi, iki boyutlu EKO ile simpson yöntemi temelinde EF ölçümü ve strain ölçülmesi önerilmektedir⁶.

Temel transtorasik ekokardiyografik değerlendirme yöntemleri; M-mode EKO, iki boyutlu EKO, Doppler ekokardiyografi ve kontrast ekokardiyografidir. İki boyutlu ekokardiyografik inceleme de 1970'lerin ortalarında kullanıma girmiştir¹¹⁴.

Endokardiyal sınırlar belirgin ise EF'nin ölçülmesi konusunda en ideal EKO yöntemi olan üç boyutlu EKO tercih edilemiyorsa, hastalar için kalp odacıklarının hacimleri ve EF'nin ölçülmesinde iki boyutlu biplan Simpson metodu tavsiye edilir. Kemoterapinin sebep olduğu kardiyak bozukluk, EF'de normalin alt sınırından %10'dan fazla azalması, ya da bir sınır değere yüzde onluk bir düşme olarak tanımlanır^{113, 115}. Bu düşme SoV bozulmasının ilk tespitinden itibaren sonraki 2 hafta içinde terkar doğrulanmalıdır⁶.

EF'deki düşüşler semptom olup olmamasına ya da reversible olma durumuna göre çok ileri şeklide de sınıflanabilir¹¹³. Henüz elimizde net bir şekilde belirlenmiş tekrar sıklığı olmasa bile hastalardaki gidişatı ve sol ventrikül fonksiyon bozukluklarını belirlemek için EKO incelemesi takip edilen zaman diliminde tekrarlanmalıdır⁶.

Ekokardiyografi esasında pulmoner hipertansiyon, perikardiyal sorunlar ve kalp kapak sorunları dahil kemoterapinin ve kanser tedavilerinin diğer komplikasyonlarını da saptayabilir^{116, 117}. İki boyutlu ekokardiyografide asıl kısıtlayıcı durumun bu yöntemin görece olarak kısmi düzeyde tekrarlanabilir olmasıdır. Bu handikap üç boyutlu EKO ile düzeltilebilir. Üç boyutlu EKO tekrarlanma konusunda iyi sonuçlar veriyor olsa da kaliteli görüntü elde etme ve kullanım yaygınlığı ise uygulayıcı bağımlıdır¹¹⁸. Kemoterapi alan hastaların

tekrarlayan EF ölçümlerindeki değişkenliği minimize etmek için en ideal olanı aynı operatör ve cihazın ölçümlerde yer almasıdır¹¹³.

Kontrast EKO ve diğer faydalı EKO teknikleri, klasik EKO ile yeterli şekilde değerlendiremediğimiz hastalar için SoV endokardiyal sınırları daha kaliteli görüntülememiz için elzemdir. Stres EKO ise KAH için değerlendirme konusunda üstünlükleri olsa da bu yöntemin kanser hastalarındaki KY açısından önlemedeki prognostik kıymetine ilişkin elimizde net bilgi bulunmamaktadır⁶.

Dopler görüntüleme ve strain ise gelecekte umut vadeden yöntemlerdir, imkanlar dahilinde kullanımı tavsiye edilmektedir. Hastaların henüz tedavinin başında ya da tedavi esnasında özellikle diyastolik işlev kaybı yaşamaları daha ihtimaldir. Lakin elimizdeki verilerle bu bulgular eşliğinde tedaviye ara verilmesi gerektiği konusunda yeteri kadar kanıt şuan için yoktur⁶.

2.4.3. Kardiyak Biyobelirteçler

Kardiyak biyomarkerlar, hastalarda kardiyak hasara sebep olabilecek ilaçlar kullanılması durumunda bu durumu erken saptamak amaçlı düşünülebilir. Elimizdeki mevcut literatüre göre anormal bir laboratuvar tetkiki ile karşılaşmamız durumunda uygulamamız gereken algoritmanın yanında, KT ilişkili toksisite için uygun zamanlama, testlerinin sınır değerleri ve başka tetkiklerin kullanılması konusu da tartışmalıdır¹¹⁹. Son zamanlarda sayıları gittikçe artan daha hassas tetkiklerin kullanımına rağmen sonuçların normal dışı çıkması halinde güncel bilgiler ışığında tedavi rejimlerinin kesilmesi ya da ara verilmesine yönelik henüz net, kanıtlı bir bilgiye sahip değiliz. Lakin bir biyobelirtecin normalin dışında çıkması kardiyak hasar için artmış bir risk göstergesi olarak düşünülmelidir. Hastalara yüksek dozda kombine KT verilen tek merkezli çalışmalara göre normal sınırlardan, aniden yükselmiş troponin değerine ulaşılmasının, hele ki kalıcı bir yükseklik ile seyretmesi durumunun, kötü prognoza sahip kardiyak disfonksiyon yaşayanları ve kardiyoprotektif ilaçlardan fayda görecekları tanıma konusunda başarı gösterdiğini anlamaktayız^{120, 121}. Daha evvel antrasiklinlere maruz kalmış ve trastuzumab alan vakalarda troponin yükselişi, kardiyotoksisite gelişecek ve KY için tedavi denemelerine rağmen iyileşme sağlamayacak vakaları tespit edebilir.

Antrasiklinler ya da hedefe yönelik ajanlar ile tedavi olan hastaların, troponin ölçümünde görülen yeni yükselişleri gelecekteki sol ventrikül fonksiyon kaybının bir habercisidir¹²².

Kanser hastalarıyla yapılan ufak bir araştırmada, kardiyak spesifik troponin ile GLS (Global longitudinal strain)'in beraber kullanımı gelişecek kardiyotoksisiteyi öngörme konusunda bizlere çok yüksek hassasiyet (%93) imkanı sağlayacağını gösterdi¹²³.

Trastuzumab ve diğer hedefe yönelik tedavi seçeneklerinden dolayı meydana gelen kardiyak hasarı belirlemek için biyomarkerların burdaki rolleri henüz belirlenememiştir. Ayrıca immün veya hedefe yönelik ajanların kullanılması ile oluşabilecek SoV işlev kaybını öngörme konusunda troponin ile ilgili kanıta dayalı verilerimiz sınırlı miktardadır. KY tablosunu saptama konusunda ise BNP kullanımı daha yaygın yer edinmiştir ve risk açısından yüksek kategorideki vakaları belirleyip tedavi açısından yönlendirir^{6, 121}.

Kemoreterapi açısından BNP veya NT-proBNP (N-terminal BNP) fayda sağlayabilir ama rutinde riski yüksek vakaları tanımlamadaki özellikleri henüz belirlenmemiştir¹²⁴. Önümüzdeki çalışmalar farklı KT protokolleri için biyomarkerların ne zaman yapılacağı ve bu belirteçlerin sınırlarının belirlenmesini gerektirir⁶.

3. MikroRNA (miRNA)

Ribo Nükleik asit molekülleri, DNA'nın nükleotit dizisinde barınan genetik bilginin proteinlere dönüştürülerek aktarılmasını sağlayan aracı biyolojik moleküllerdir. RNA molekülünün DNA'dan farklı olan yanı, tek zincirlidir ve deoksiriboz şekeri yerine riboz şekeri barındırır. Nükleotit trifosfatların oluşturduğu bu temel yapının bileşenleri, bir trifosfat grubu, bir riboz şekeri ve yapıya Adenin, Guanin, Sitozin ya da Urasil bazlarından birinin dahil olmasıyla oluşur ve uzun tek zincirli RNA molekülleri oluşur¹²⁵.

RNA molekülü proteine çevrilebilen haberci RNA (messenger RNA, mRNA) ile proteine çevrilemeyen yapılamayan yani kodlanamayan RNA (non-coding RNA, ncRNA) olarak ifade edilen gen bölgelerinden meydana gelir. İnsan genomunun sadece %1-2'lik kısmı protein kodlayan genleri bulundurur.

Genomumuz üzerine yapılan araştırmaların çoğunluğu protein kodlayan genler üzerine odaklanmış ve genetik bilginin büyük oranda proteinler tarafından işlendiği belirlenmiştir^{125, 126}.

Yeni yapılan araştırmalarda ise protein kodlamayan bölgelerin moleküler mekanizmaların birçoğunda önemli bir fonksiyonu temsil ettiği gösterilmiştir. Protein kodlamayan RNA'lar (ncRNA'lar) genel olarak uzunluklarına göre 200 nükleotidden uzun olanlar, uzun kodlamayan RNA (long non-coding RNA, lncRNA), 200 nükleotidden kısa olanlar ise kısa kodlamayan RNA (short noncoding RNA) olarak gruplandırılır. Bu küçük kodlamayan RNA'lardan canlıların tüm dokularında var olan ve çeşitli görevleri olan housekeeping RNA'lar vardır. Ribozomal RNA (rRNA) ve taşıyıcı RNA (tRNA)'lar translasyondan, küçük nükleer (snRNA)'lar intronların uzaklaştırılmasından; küçük nükleolar RNA (snoRNA)'lar ise rRNA'nın modifikasyonundan sorumlu olan RNA'lardır. MikroRNA'lar (miRNA), sitoplazmada bulunan PIWI proteinini ile etkileşimi olan RNA'lar (piwi-interacting RNA, piRNA) ve küçük interferans RNA'lar (short interfering RNA, siRNA) ise genlerin susturulmasında rol oynayan, modifiye edici vazifeleri barındıran küçük kodlamayan RNA'lardır^{126, 127}.

MikroRNA'lar, mRNA'ları hedef alarak transkripsiyon sonrası gen ekspresyonunu belirleyen tek iplikli RNA molekülleridir. MikroRNA'ların diğer epigenetik mekanizmalardan, DNA metilasyonu veya histon asetilasyonunu etkileyebildiği veya transkripsiyon faktörlerini hedefleyerek gen ekspresyonuna etki edecek özelliklere sahip olduğu belirtilmiştir. MikroRNA'ların hedef mRNA'ların 3' UTR (translasyon olmayan bölge) ya da 5' UTR bölgelerine spesifik şekilde bağlanıp, gen ekspresyonunu regüle ettiği belirlenmiştir. Sadece bir miRNA'nın yüzlerce geni hedefleyebildiği ve farklı genlerin birden fazla miRNA tarafından hedeflenebildiği tespit edilmiřtir¹²⁸.

3.1. mikroRNA'ların Yapısı ve Biyolojik Roller

MiRNA'lar tarihte ilk olarak 1993 yılında, Victor Ambros laboratuvarında nematod (yuvarlak soluncan) türünde bir solucan türü olan *Caenorhabditis elegans*'ların gelişim süreci üzerine yapılan araştırmalar esnasında tanımlanmıřtır¹²⁹. İlk miRNA lin-4 olarak adlandırılmış ve gelişim zamanlamasını

düzenleyen genlerin susturulmasında rol oynadıkları keşfedilmiştir¹³⁰. O dönem lin-4 olarak isimlendirilen genin herhangi bir protein kodlamamasına rağmen yapılan incelemede 22 nükleotid uzunluğunda ufak bir RNA transkribe ettiği farkedilmiştir. Sonrasında 2000 yılında ise başka bir araştırma ekibince yapılan araştırmalardan ikinci olarak bulunan miRNA yine *C. elegans*'ta büyümeyi düzenleyen 22 nükleotid uzunluğundaki let-7 olmuştur. Let-7 ismini verdikleri genin, canlının gelişim aşamalarını düzenleyen bir gen olduğu tespit edilmiştir¹³¹. Ardından gelen yıllarda yapılan çalışmalarla let-4, let-7 gibi fazlasıyla canlı küçük RNA molekülleri keşfedilerek miRNA olarak betimlenmiştir^{132, 133}.

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda birçok canlının genomlarında binlerce miRNA tanımlanmıştır. MikroRNA'ların sayısının artmasıyla 2006'da miRNA'ların, organize terminoloji ve sekanslarını içeren bir veri tabanı olarak kurulan miRBase'in (v22) en son sürümü, birçok organizmaya ait 38.589 öncül mikroRNA ve 48.860 olgun mikroRNA dizisini içermektedir. Ek olarak insan genomunda 1.917 öncül miRNA ve 2.654 olgun miRNA sekansı tanımlanmıştır¹³⁴.

MikroRNA'ların hücre gelişimi ve farklılaşması aşamalarında, hücre proliferasyonu ve apoptozis ile de ilişkisi olduğu belirlenmiştir¹³⁵. Günümüze kadar insanlarda tesbit edilmiş miRNA'ların genomun yaklaşık %30'unu regüle ettiği tahmin ediliyor¹³⁶.

MikroRNA'lar bazı kaynaklara göre 18-24, bazılarına göre ise 22-26 nükleotidden oluşan fonksiyonel RNA molekülleridir. Genom üzerindeki protein kodlamayan bölgelerdeki RNA genlerinden ve protein kodlayan ekzon veya intron bölgelerinden transkripsiyonu sağlanan, ancak proteine translasyonu gerçekleşmeyen, fonksiyon olarak, çok fazla genin ekspresyonunun kontrolünde ve fonksiyonunda görev aldığı için son 20 yıldan beri literatürün popüler konularından biri olmuştur^{19, 20}.

Birçok organ tarafından sentezlenen miRNA'ların ya eksozomlara paketlenip ya da biyolojik etkilerini gösterebilecekleri kan ve diğer vücut sıvılarına serbestçe salgılanabildiği saptanmıştır. Yapılan birçok çalışmada, miRNA'ların serum ve plazma örnekleri gibi hücre barındırmayan vücut sıvılarında tespit edilebilmesiyle bu görüş perçinlenmiştir. Plazmada tespit edilen miRNA'ların çoğunun gen susturmasından sorumlu RNA kaynaklı

susturma kompleksinin (RISC) bir parçası olan AGO2 proteini ile bir kompleks oluşturduğu anlaşılmış ve bu sayede miRNA'ların parçalanmaya karşı korunduğu anlaşılmıştır. Dolaşımdaki miRNA'ların hastalıklara spesifik değişkenliği ve mRNA'lara göre stabil olmalarından ötürü ideal kan biyobelirteçleri olarak kullanılabileceği düşüncesi kıymet kazanmıştır. Zamanımızda miRNA'lar, inflamatuvar ve malign hastalıkların biyobelirteçleri olarak ortaya çıkmıştır¹²⁸.

Güncel bazı araştırmalara göre ilaç güvenliği değerlendirmesinde, miRNA'lar, kardiyotoksisite, hepatotoksisite ve nefrotoksisite ile de ilişkili bulunmuştur^{20, 22}. miRNA'ların başta kanser olmak üzere kalp hastalıkları, otoimmün süreçler, enfeksiyon hastalıkları, gelişim bozuklukları, kas hastalıkları, nörolojik hastalıklar olmak üzere çeşitli hastalıklarla ilişkisi olduğu gösterilmiştir^{18, 19, 21}. Yeni birçok çalışmada da kardiyak hasarı belirlemek amacıyla da miRNA'lar bir biyobelirteç olarak araştırılmaktadır²¹.

3.2. mikroRNA'ların Doksorubisin Kardiyotoksisitesindeki Yeri

Kanser yükü dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunudur. Neyse ki, kanser ölüm oranı da dahil olmak üzere, erken tanı ve daha iyi tedavi seçenekleri ile sonuçlar daha da iyileştirilebilir¹³⁷. Daha fazla hasta tedavi edildiğinden, dikkatler artık yaşam kalitesine ve kanserden kurtulanların uzun vadeli sonuçlarına odaklanmaktadır. Kardiyovasküler hastalık, çocukluk ve adölesan kanseri yaşamış olanlar arasında geç mortalitenin önde gelen nedenidir. Kardiyovasküler ölüm riski, tam remisyonda olan birçok yetişkin kanser hastasında, gerçek kanser nüks riskinden daha yüksektir. Kanserden kurtulanlar, genel popülasyondan on kat daha yüksek mortaliteye sahiptir, konjestif kalp yetmezliği geliştirme riski on beş kat artar ve koroner arter hastalığı riski on kat artar^{138, 139}. Bu hastalarda ayrıca ateroskleroz, hipertansiyon, perikardiyal hastalık, kalp kapak hastalığı ve dislipidemi riski daha yüksektir^{140, 141}. Kanserden kurtulanlarda daha yüksek kardiyovasküler ölüm oranı, kanser tedavisiyle ilişkili risk etmenleri (radyoterapi, sitotoksik ve hedefe yönelik kemoterapiler), bilinen klasik risk faktörleri ve sağlıkla ilgili davranışlarımızın bir kombinasyonuna ikincildir¹⁹.

Sonuç olarak, kanserden kurtulanların, kanser tedavisinin uzun süreli yan etkilerini erken saptamak ve toksisite geri döndürülemez duruma gelmeden önce uygun tedaviye izin vermek için doğru sürveyansa ihtiyaç duyulmaktadır^{140, 141}. Bu bağlamda, kolay erişilebilir, dolaşımda tespit edilebilen biyobelirteçler, kanser tedavilerine bağlı kardiyotoksisitenin erken tespiti için oldukça değerli teşhis araçları olarak görülebilir¹⁹.

Troponin I ve T kardiyak spesifik izoenzimler, kardiyomiyositler hasar gördüğünde kana salınır. Troponin düzeyleri kemoterapiden sonra hızla artar ve geç kardiyak olayları tahmin edebilir¹⁴². Ancak, troponin salınımı, miyokardiyal hücrelerin lizisiyle ilgilidir, fakat tip II kalp hasarında başlangıçta olmayabilir. Ek olarak, yarı ömürleri nispeten kısadır (2 saat)¹⁴³, tedavi sırasında birden fazla kan örneği toplanmasını gerektirir ve bu da ayaktan tedavi sırasında neredeyse mümkün değildir¹⁹.

N-terminal beyin natriüretik peptitleri (NT-proBNP) duvar stresine yanıt olarak sol ventrikül kardiyomiyositleri tarafından salınır. Bu biyobelirteç konjestif kalp yetmezliğide iyi bilinen klinik faydaya sahiptir. Meme kanseri hastalarında kemoterapi sırasında NT-proBNP yükselmesi, sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunda (soVEF) asemptomatik düşüş ile ilişkilendirilmiştir^{122, 144}. Bununla birlikte, kemoterapiye bağlı kardiyak disfonksiyonun saptanmasında NT-proBNP'nin prediktif rolünü değerlendiren çalışmalar çelişkili sonuçlar vermiştir ve pozitif testlerin sınırı henüz belirlenmemiştir^{145, 146}.

MicroRNA'lar, hedef haberci RNA'lara bağlanarak gen ekspresyonunu düzenleyen RNA'lardır. Hücre çoğalması, farklılaşması ve apoptozu içeren çoklu biyolojik süreçlerde yer alırlar. Tüm hücre tipleri hem normal hem de patolojik koşullar altında periferik kandaki miRNA'ları salgırlar. Bu nedenle, dolaşımdaki miRNA'lar, kanserin erken ve minimal invaziv tanısı ve tedaviyle ilişkili hücrel toksisitesi için umut veren biyobelirteçlerdir^{19, 147-150}.

Literatürde birçok aday miRNA ile ilgili doksorubisin kardiyotoksitesindeki yeri araştırma konusu olmuştur¹⁹.

Antrasiklin bazlı kemoterapi rejimi alan 45 meme kanserli hastanın dahil olduğu, hastaların belli aralıklarla takip edildiği Belçika merkezli bir çalışmada, hastalarda kardiyotoksisitenin tespiti için troponin, BNP ve seçilmiş 10 adet miRNA'nın plazma düzeyi ölçülmüştür. Sonuç olarak antrasiklin bazlı kardiyomiyopatinin olası erken ve hassas bir şekilde tespiti için yeni birer

biyobelirteç adayı olarak, miR-199a-3p, miR-423-5p ,miR-126-3p, ve miR-34a-5p'yi anlamlı birer biyobelirteç adayı olarak tespit etmişlerdir¹⁹. Yine ABD'de 33 çocuğun dahil olduğu prospektif kohort bir çalışmaya göre 24 hastaya Antrasiklin bazlı rejim, 9 hastaya ise kardiyotoksik olmayan kemoterapi rejimi verilmiştir. 24 aday miRNA'nın seçildiği çalışmada, her tedavi grubu içinde kemoterapi döngüleri başlamadan önce ve sonrasındaki 6., 12., ve 24.saatte alınan plazma örneklerinden çalışılan miRNA'ların arasındaki nispi değişim belirlenip gruplar arasında karşılaştırma yapılmıştır. Bu pilot çalışmada sonuç olarak, antrasiklin maruziyetini takiben akut olarak plazma miRNA-29b ve miRNA-499, miRNA-1 yükselmelerinin meydana geldiğini ve kardiyomiyosit hasarının saptanmasında yararlı olabileceğini bildirmişlerdir¹⁸

2016 yılında yayınlanan bir diğer çalışmaya göre, toplamda 56 meme kanseri kadın hasta ile yapılan çalışmanın sonuçları bizlere yol göstermektedir. Toplamda 4 kür doksorubisin tedavisi verilen hastaların periyodik olarak takibinde yine troponin ve seçili miRNA'lar periyodik olarak ölçülmüş ve plazmadan tespit edilen, miRNA-1, miRNA-133-b, miRNA-423-5p'nin tedavi süresince arttığı gözlenmiştir. miRNA-1'in potansiyel bir biyobelirteç adayı olduğu tespitine varılmıştır²¹.

Güncel olarak birçok konuda biyobelirteç adayı olan miRNA'lar, ratlarda yapılan prelinik ve kanser hastalarındaki klinik araştırmalarda doksorubisin ilişkili kardiyotoksisitede ana araştırma konusu olmuştur. Literatürdeki birçok veri ile çok fazla miRNA adayının bu konuda denendiğini görmekteyiz. Elimizdeki bilgiler miRNA-1, miRNA-29b-1-5p'nin bu konuda potansiyel aday olarak bizlere gelecek vaat ettiğini göstermektedir²³. Kardiyotoksisite, ilaç geliştirme sürecindeki başlıca engellerden biridir ve reçeteli ilaçların çekilmesinin yaklaşık %9'unu oluşturmaktadır. İlaça bağlı kardiyotoksisiteyi tanımlamak için etkili güvenlik taraması, ilaç geliştirmede ciddi bir konudur. Geçtiğimiz birkaç yıl içinde, ilaca bağlı kardiyotoksisitenin erken biyobelirteçleri olarak miRNA'ların da araştırılması, gelişen bir araştırma konusu haline gelmiştir. miRNA-206, miRNA-499, miRNA-1, miRNA-133b, miRNA-208a ve miRNA-133a dahil olmak üzere kardiyak spesifik miRNA'ların bir alt kümesi belirlenmiştir^{22, 149}. Bu miRNA'lar, kemirgenler kullanılarak yapılan deneysel akut kardiyotoksisite ve insan miyokard hasar çalışmalarında kanda tespit edilmiştir. Bu miRNA'ların kardiyotoksisitenin nispeten invaziv olmayan dolaşım

belirleyicileri olarak kullanılması, özellikle prelinik modellerde ilaç güvenliği değerlendirmesi üzerinde büyük bir potansiyele sahip olabilir. Nishimura ve ark. yaptđđı bir çalışmaya göre doksorubisin ile kısa süreli tedavinin yüksek seviyelerde plazma miR-206 (dozlamadan 8 ve 24 saat sonra) ve miRNA-1, miRNA-133a ve miRNA-133b (sadece dozlamadan 24 saat sonra) ile ilişkili olduğunu bildirmiştir^{22, 149}.

Biyoinformatik analizlere dayanan güncel bir çalışmaya göre iki önemli miRNA, miR-4638-3p ve miR-1273g-3p antrasiklinlerin neden olduğu kardiyotoksisite ile yakından ilişkili olarak tanımlanmıştır. Antrasiklinlerin neden olduğu kardiyaktoksisitenin saptanmasına miR-4638-3p ve miR-1273g-3p'nin ekspresyonundaki değişiklikler katkıda bulunabilir¹⁵¹



GEREÇ VE YÖNTEM

1. Çalışmanın Tasarımı

Çalışmamız için Mersin Üniversitesi Rektörlüğü Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 18.09.2019 tarihinde, 2019/386 sayılı araştırma onayı alındı. Çalışmamıza Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı'nda tedavi alan, 10.10.2019-15.01.2020 tarihleri arasında dahil edilme ve dışlanma kriterlerine uyan 50 meme kanserli hasta dahil edilmiştir. Verilerin toplanma süresinde 1 hastanın sepsis nedeni erken ölümü, 2 hastanın merkezimizden takipten çıkması, 2 hastanın ise 2.kür sonrası eksik labaratuvar ve görüntüleme sonuçları nedeniyle, bazı kardiyak biyobelirteçler ve EKO görüntülerinde eksiklikler yaşanmıştır. Çalışmamız hasta onamları alınarak " kan, idrar ve/veya doku gibi biyokimya, mikrobiyoloji ve/veya patoloji koleksiyon materyalleri ile yapılacak araştırma " formatında tasarlanmıştır.

Tıbbi Onkoloji bölümünde düzenli rutin izlemleri yapılan hastaların, fizik muayeneleri rutin olarak yapıp; biyokimyasal, görüntüleme ve serolojik tetkik sonuçları hasta dosyasına birlikte kaydedilmektedir. Bu bilgiler onkoloji dosyalarına polikliniğimizde düzenli olarak her poliklinik muayenesinde işlenmektedir. Daha önce hastalardan onamları doğrultusunda periyodik şekilde ayrılmış olan serum koleksiyonları mevcut olup, kemoterapisi tamamlanmış ve protokollerinde doksorubisin bazlı AC temelli kemoterapi rejimi aldığı bilinen, daha önce başka bir nedenle kardiyotoksik ajan almadığı saptanan, meme kanserli hastalar içerisinde başvuru sırasıyla, randomize olarak belirlenmiştir. Hastalar çalışmaya alınma ve dışlanma kriterleri dikkate alınarak, tedavi süreçlerine müdahale edilmeden başlangıç sırasına göre seçilmiştir. Arşivimizde yer alan serum örneklerinden rutin tetkiklerimize ek olarak miRNA ekspresyonları çalışılmıştır. Hastalardan alınan örnekler zamansal olarak kemoterapi öncesi, 2 kür ve 4 kür kemoterapi uygulandıktan 14'er gün sonra alınmıştır. Periferik venöz damardan alınan kan örneklerinden elde edilen serum numunelerinden, Real - Time PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) yöntemi kullanılarak belirlenen miRNA tipleri çalışılmıştır. Hastaların miRNA ekspresyonlarına ait parametreler, çalışmadaki bireylerin farklı kümülatif ilaç dozlarındaki ve kardiyotoksisitenin kronikleşmesiyle ilişkisi ve tespiti açısından karşılaştırılacaktır. Rutin kardiyak

parametreler ile miRNA ekspresyonları arasındaki korelasyon belirlenmeye çalışılacaktır. EKG, EKO analizleri, serum CK-MB (Kreatin kinaz), Myoglobin, troponin-I, NT-proBNP ile sistolik ve diyastolik fonksiyonlar arasındaki ilişki araştırılacaktır. Bunun yanında serum belirtiçeleri ile miRNA ekspresyonları arasındaki korelasyon belirlenmeye çalışılacaktır.

Çalışmamızda, doksorubisin ile tedavi edilen hastalarda; miRNA ekspresyonlarının (miRNA-1, miRNA-126-3p, miRNA 423-5p, miRNA-4638-3p, miRNA-34a-5p, miRNA-133-b, miRNA-199a-3p miRNA-29b-1-5p) kardiyotoksisiteyi tespit etmedeki yerinin belirlenmesi, kardiyotoksisite gelişiminin erken tanınması için görüntüleme tekniklerinin etkinliğinin belirlenmesi, ekokardiyografik parametreler, klasik kardiyak belirtiçer ile miRNA ekspresyonları arasındaki ilişkinin belirlenmesi planlanmıştır.

2. Hasta Dahil Etme ve Dışlama Kriterleri

Hastalar aşağıda belirtilen kriterlere göre çalışmaya dahil edilmiş veya çalışma dışı bırakılmıştır.

Hastaların çalışmaya alınma kriterleri aşağıda belirtilmiştir:

1. Meme kanseri nedeniyle kemoterapi protokollerinde doksorubisin olanlar
2. Hasta yaşının 18 -70 yaş arasında olan kişiler
3. Ekokardiyografiye uyum sağlamış olan hastalar
4. Tedavi sonrası nüks göstermemiş olanlar
5. Daha önce yapılan tetkiklerinde kalp yetmezliği olmayan hastalar
6. Onam formlarını imzalamış olanlar
7. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesi, Tıbbi Onkoloji kliniğinde takip edilen hastalar
8. Gebe ve emziren olmamak
9. Daha önce alınan serum örnekleri, Tıbbi Onkoloji arşiv koleksiyonunda yer alıyor olmak.
10. Dosya verilerine tam ulaşıyor olmak
11. Geriye dönük dosya verilerinde ekokardiyografi görüntülerine, kardiyak parametrelere ve aldığı kemoterapi protokolü ve dozuna tam ulaşıyor olmak.

Hastaların çalışmadan dışlanma kriterleri aşağıda belirtilmiştir.

1. Onam formunu imzalamamış olmak
2. Daha önce başka bir kardiyotoksik ajanla tedavi edilmiş olmak
3. Daha önceden mediasten bölgesine radyoterapi almış olmak
4. Başka bir malignitesi olmak
5. Doksorubisin tedavisi almamış olmak
6. Ekokardiyografiye uyum sağlayamamak
7. Ekokardiyografi çekiminde ekojenitesi yetersiz olmak
8. Bilinen son dönem böbrek yetersizliği, kronik karaciğer ve akciğer hastalığı, kalp yetmezliği ya da pulmoner hipertansiyona neden olabilecek herhangi bir hastalığı olanlar
9. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Tıbbi Onkoloji kliniğinde takip edilmemiş hastalar
10. Dosya verilerine tam olarak ulaşamıyor olmak
11. Daha önce alınan serum örnekleri, arşiv koleksiyonunda yer almayanlar
12. Kötü genel durumu olan hastalar (genel durumu bozuk olanlar)
13. Gebeler veya çalışma grubunda gebe kalmayı planlayanlar
14. Emziren olmak
15. Bilgilendirme materyallerini anlamayan hastalar
16. 18 yaşın altında veya 70 yaşın üzerinde olanlar.

3. Hasta Verilerinin Toplanması

Çalışmamız için dahil edilme kriterlerine uygun hastalar seçildikten sonra, aşağıda sıralı bilgiler hastalar ile görüşülerek ve arşiv bilgilerinden faydalanılarak kaydedildi.

- Demografik durumu gösteren veriler (hasta tanı yaşı, doğum tarihi, tanı tarihi)
- Komorbid hastalıkları; HT (Hipertansiyon), DM (Diyabetes mellitus), HPL (Hiperlipidemi), Kalp hastalığı gibi
- Alışkanlıkları (sigara, alkol, beslenme tipi gibi)
- Kullanılan ilaçlar
- Birinci derece yakınlarında erken yaşta kalp hastalığı
- Antropometrik ölçümler (Ağırlık, boy, VKİ, Vücut yüzey alanı)
- Menopoz ile ilgili veriler

- Biyopsi ve cerrahi patoloji sonuçları
- Tümör histolojisi
- Hormon reseptör durumu (ER, PR)
- HER2 durumu (+/-)
- Moleküler alt tip sınıflaması
- Tümör derecesi
- Ki67 indeksi
- Kardiyovasküler risk faktörleri
- Klinik ve Patolojik TNM sınıflaması, Evreleme
- Operasyon durumu
- Uygulanan kemoterapi protokolü (Adjuvan, Neoadjuvan)
- Kemoterapi tarihleri ve protokol süreleri
- Doksorubisin dozları
- Rutin hemogram ve biyokimyasal tetkiklerinin sonuçları
- Kardiyak görüntüleme (EKG ve EKO) sonuçları

Çalışmamıza dahil olan hastalarımız KT protokollerinde doksorubisin-siklofosamid (AC) rejimini barındıran hastalardı. KT protokolleri daha önceden hastaların kendi hekimleri tarafından belirlenmiş ve uygulanmıştır. Protokol seçimine veya hastanın hastalık yönetimine, çalışma ekibince müdahale edilmemiştir. Tüm hastaların, ilk KT'den önce (başlangıç), 2 kür AC KT'sinden sonra (2AC), 4 kür AC KT'sinden sonra (4AC) olmak üzere tüm verileri 3 farklı zamanda kaydedildi. Bu 3 farklı zamanda hastalara kardiyak fonksiyonlar açısından anamnez ve şikayet sorgulaması, EKG, ekokardiyografi ölçümleri, rutin biyokimyasal tetkikleri, hemogram sonuçları, CK-MB, Myoglobin, troponin-I, NT-proBNP gibi kardiyak belirteç düzeylerinin rutin yapılan tüm ölçümlerin sonuçları ile tüm veriler kaydedildi.

Çalışma ile ilgili, Mersin Üniversitesi BAP (Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi) ve Türk Tıbbi Onkoloji Derneği tarafından bilimsel çalışmamıza destek sağlanır sağlanmaz, gerekli malzemelerin alımı yapıldı. Ardından plazma örneklerinden hedeflenen miRNA ekspresyonları, Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı tarafından çalışıldı. Hastaların AC4 değerlendirmesi, hastaların tedavi planlarında olan radyasyon tedavisi ya da

daha sonraki değişik protokollerin uygulamasından evvel tedavi planlarını bozmayacak şekilde organize edildi.

4. Ekokardiyografik verilerin toplanması

Ekokardiyografik görüntülemede kardiyak sistemin anatomisi, fonksiyonu ve hemodinamik parametrelerini ölçmek için yüksek frekans ses dalgası kullanılır. Ekokardiyografiyi bu kadar cezbedici kılan şey, tekrarlanması kolay, radyasyon içermeyen, ulaşılabilir olması gibi yönleridir. Dezavantajı ise değerlendirmeyi yapacak kişiler arasında farklı sonuçların çıkması ve görüntünün netliğindeki farklılıklar nedeni ile hatalı sonuçlar çıkabilmektedir. Ekokardiyografik inceleme konvansiyonel ekokardiyografi (Vivid E9 xD Clear, GE medical systems, Vingmed Ultrasound AS, N-3191 Horten, Norway) ile yapılmıştır.

4.1. Sol Ventrikül Sistolik ve Diyastolik Fonksiyonlarının Ekokardiyografik Ölçümleri

Temel transtorasik ekokardiyografi değerlendirmesinde iki boyutlu EKO görüntüleri ve renkli Doppler EKO ölçümleri ile değerlendirme yapıldı.

Olguların ekokardiyografileri aynı kardiyolog tarafından yapıldı. Ekokardiyografide EF, sol ventrikül sistol, diyastol sonu boyutları, diyastol sonu septum ve arka duvar kalınlıkları, sol atriyum diyastol sonu boyutları, sol atriyum diyastol sonundaki hacmi, sol ventrikül sistol sonundaki hacmi ve diyastol sonu hacmi, sağ ventrikül diyastol sonu çapı, Triküspit anüler düzlemin sistolik hareketi (TAPSE), triküspit kapak S hızı, mitral akım üzerinden diyastolik erken doluş pik hızı (E) ve diyastolik geç doluş pik hızı (A), mitral kapak lateral ve septal yaprakçığı üzerinden doku doppler (e' lateral, e'septal), izovolümetrik relaksasyon zamanı (VRT), Deselerasyon zamanı (DT) ölçümleri yapıldı. Ölçümlerimiz, Amerika Ekokardiyografi Derneği tarafından tavsiye edilen kriterler doğrultusunda apikal iki oda, dört oda volümlerinden Simpson tekniği kullanılarak bulundu.

Tüm hastaların Ekokardiyografik incelemeleri kendi merkezimizde, aynı cihaz ile ve onkoloji hastalarının kardiyak takiplerini rutin olarak yapan tek bir

klinisyen tarafından yapılmış ve eksik verilere görüntü kayıtlarının yeniden aynı klinisyence değerlendirilmesi ile ulaşılmıştır.

5. Kardiyak Biyobelirteçlerin Ölçümü

Hastalardan biyokimya tüplerine ve EDTA'lı kan tüplerine alınan kanlar, merkezimiz Tıbbi Biyokimya laboratuvarına gönderildi. Biyokimya tüplerindeki kan örnekleri alındıktan sonra, tamamen pıhtılaşması için 15 dakika bekletildi ve 10 dakika 4000 rpm'de santrifüj edildi. Troponin-I, CK-MB ve Miyogloblin, elde edilen serum örneklerinde, kemilüminesans immunoassay yöntemiyle, DXI 800 (Beckman Coulter, Inc.) cihazında çalışılırken, Pro-BNP ölçümü, EDTA'lı tüplere alınan tam kan örneklerin UNICELL-S cihazında çalışıldı.

5.1. Troponin-I Test Prensipleri

Troponin-I, iki bölgeli immünoenzimatik bir test olup, eklenen örnek, katı fazda anti cTnI antikoruna bağlanır. Reaksiyon kabında bulunan alkaline fosfatase-monoklonal anti cTnI antikor konjugatı cTnI moleküllerinin farklı antijenik bölgeleriyle reaksiyona girer. İnkübasyon ve yıkama işlemlerinden hemen sonra, kemilüminesans substrat olan Lumi-Phos* 530 eklenir ve reaksiyon sonucunda oluşan ışık, luminometre ile ölçülür. Işık üretimi ile örnekteki cTnI konsantrasyonu arasında doğru orantı mevcuttur.

5.2. NT-proBNP Test Prensipleri

NT-proBNP testi, kan örneğindeki NT-proBNP düzeyi ile orantılı oluşan floresan sinyalinin ölçüldüğü sandviç modeli immünokromatografik analiz ile gerçekleşir. Striptest hattı, fare anti-NT-proBNP antikor ile kontrol hattı ise anti-avidin antikor ile kaplıdır. Anti-NT-proBNP ve avidin olarak işaretlenmiş floresan partikülleri, bağlayıcı ped üzerinde kaplıdır. Örnekteki NT-proBNP, anti-NT-proBNP antikor ile bağlanarak bir kompleks oluşturur ve test hattı üzerinde ilerleyerek başka bir anti-NT-proBNP antikor tarafından yakalanır. Aynı zamanda, bağlama pedi üzerinde avidin işaretli floresans parçacıkları, kontrol hattı üzerinde kaplanmış anti-avidin antikor ile kompleks oluşturur.

Unicell immünofloresan okuyucu, hem test çizgisinin hem de kontrol çizgisinin floresan sinyal yoğunluğunu belirler ve ana eğriye göre numunedeki NT-proBNP konsantrasyonunu belirler.

5.3. CK-MB Test Prensibi

CK-MB testi, iki bölgeli immünoenzimatik bir testtir. Sandviç yöntemlerin temel prensibi gereği, fare monoklonal anti-insan CK-MB antikoru alkalın fosfataz konjugatı ve fare monoklonal anti insan CK-BB kaplı paramanyetik partiküller içeren bir reaksiyon kabına eklenen hasta örneğindeki CK-MB, anti CK-MB konjugatına bağlanır. İmmobilize anti CK-BB'ye, serumdaki CK-MB, B epitopu aracılığıyla bağlanırken, fare anti CK-MB konjugatı serumdaki CK-MB ile reaksiyona girer. İnkübasyon ve yıkama işlemleri sonrası, kemilüminesans substrat Lumi-Phos* 530 sayesinde oluşan ışık luminometre kullanılarak ölçülür. Işık üretimi ile örnekteki CK-MB konsantrasyonu arasında doğru orantı mevcuttur.

5.4. Myoglobin Test Prensibi

İki bölgeli immünoenzimatik bir test olan Myoglobin testinin prensibi, tüm sandviç yöntemlerinde olduğu gibidir. Örnekteki myoglobin, fare monoklonal anti miyoglobin-alkalin fosfataz konjugatı, fare monoklonal anti-miyoglobin biyotin konjugatı ve keçi anti-biyotin kaplı paramanyetik partiküller içeren reaksiyon kabına eklendiğinde, anti-miyoglobin biyotin konjugatına bağlanır. Keçi anti biyotin antikoruyla kaplı katı fazda paramanyetik partiküller üzerinde immobilize edilir ve keçi anti miyoglobin-alkalin fosfataz konjugatı ile serum miyoglobin molekülü üzerindeki farklı bir antijen bölgesiyle reaksiyona girer. İnkübasyon ve yıkama işlemleri ve ardından kemilüminesans substrat Lumi-Phos* 530 kaba eklenir ve reaksiyon sonucu meydana gelen ışık, bir luminometre ile ölçülür. Işık üretimi ile örnekteki miyoglobin konsantrasyonu arasında doğru orantı mevcuttur.

5.5. Plazma Örneklerinden Q-PCR yapılması ve miRNA Analizi

5.5.1. Plazma Örneklerinin Toplanması

Kan örnekleri alınmadan önce hastalara onam formları imzalatıldı. Kan örnekleri ile genetik analizler yapılacağı bilgisi verildi. Kan numuneleri her hastadan, henüz hiç kemoterapi uygulanmadan önce bazal değerler için, 2 kür AC kemoterapisi uygulandıktan 14 gün sonra ve 4 kür AC kemoterapisi tamamlandıktan 14 gün sonra alındı. Hastalardan periferik venöz kandan alınan yaklaşık 4-5 ml kan örnekleri biyokimya tüpünde 15 dakika 4000 devirde santrifüj edilip, üstteki plazma örnekleri eppendorfa aktarıldı. Plazma örnekleri çalışılincaya kadar eppendorf tüplerine konularak -80°C'de saklandı.

5.5.2. Plazma Örneklerinden miRNA Eldesi

Plazmalar -80 °C'den çıkarılarak +4 °C'de çözünmesi beklenir. İzolasyonda Qiagen, miScriptRNeasy Mini Kiti (Hilden, Almanya) kullanıldı. Bu kit hücredeki miRNA'lar dâhil tüm RNA'ları izole etmektedir. 200 ul serum örneği alınarak 2 ml tüpe konur ve üzerine 5 volüm (1000 ul) Qiazol lysis reagent eklenerek vortekslenir (karıştırılır). Örnekler 5 dakika oda ısısında (15-25°C) bekletildi. Başlangıç materyali kadar (200 ul) kloroform eklenir. 15 saniye boyunca iyice vortekslenir (Çalkalama işleminin iyi yapılmış olması faz ayırımına avantaj sağlar). 2-3 dakika oda sıcaklığında hafif alt üst edilerek beklenir. Sonrasında 4 °C'de 12000 rpm'de 15 dk santrifüj edildi. Oluşan üç fazdan üstte olanından 600 ul alındı ve başka bir toplama tüpüne transfer edilir. Ara fazdan alınmaması gerekir. 900 ul %100 lük saf etanol eklenir. Alt üst edilerek iyice karışması sağlanır. Bu karışımdan 700 µl örnek alınarak RNaz Mini kolonun içerisine koyuldu. Arından kapak kapatıldı ve 15 sn oda ısısında 10000 rpm'de santrifüj yapıldı. Toplama tüpünde kalan kısım atıldı. Örnekten geriye kalan kısım tekrar RNaz Mini kolonun içine konup 15 sn oda ısısında 10000 rpm'de sentrifüj edildi. 700 µl RWT tampondan RNaz mini kolona eklendi ve 15 sn oda sıcaklığında 8000 rpm'de santrifüj edildi. Toplama tüpünde kalan kısım atıldı. 500 µl RPE tamponundan RNaz Mini kolonun üstüne eklendi ve 15 sn oda

sıcaklığında 8000 rpm'de santrifüj yapıldı. Toplama tüpünde kalan kısım atıldı. 500 µl RPE tamponundan RNaz Mini kolona eklendi ve 2 dk 8000 rpm'de santrifüj edildi. Yeni bir 2 ml koleksiyon tüpüne RNaz Mini kolon yerleştirildi. Membran kuruyana kadar 1 dk en yüksek hızda santrifüj edildi. RNaz Mini kolon, yeni bir 1.5 ml toplama tüpe transfer edildi. Kolon 1.5 ml lik yeni toplama tüpüne yerleştirilir. 14 ul Rnase içermeyen su spin kolonunun merkezine direkt olarak eklenir. 5 dakika oda ısısında beklenir. Maksimum hızda 1 dakika santrifüj edilir. Elde edilen RNA'lar -80 °C'de saklamak üzere kaldırıldı.

5.5.3. miRNA için cDNA Elde Edilmesi

cDNA (kalıp, complementary DNA)'lar, Qiagen miScript Reverse Transcription (RT) Kit II (Hilden, Almanya) kullanılarak sentezlenmiştir. Tablo 8'deki bileşenlere göre RT toplam karışımı buz üstünde hazırlandı. RNA'nın miktarı 20 µl hacim içerisinde 200ng/µl olacak şekilde ayarlandı. RNA, RT karışımı barındıran her bir tüpe koyuldu. Ardından kısa süre santrifüj edildi ve buz üzerine tekrar konuldu.

Tablo 8. RT-PCR için bileşenler ve miktarları.

Bileşenler	Tepkime Hacmi
5x miScriptHiSpec tamponu	4 µl
10x miScript Nükleik asit karışımı	2 µl
miScriptReverseTranscriptaseMix	2 µl
Kalıp RNA	12 µl
Toplam Hacim	20 µl

37°C'de 60 dk, 95°C'de 5 dk olan tepkime koşullarına göre RT-PCR yapıldı. Sonrasında cDNA miktarları 20 µl'de 50 ng/µl olacak şekilde ayarlandı. cDNA zenginleşmesi amacıyla 5 µl cDNA kullanıldı.

5.5.4. cDNA'nın Zenginleştirilmesi

cDNA (kalıp, complementary DNA)'lar, Qiagen miScript PreAMP PCR Kit) (Hilden, Almanya) kullanılmış ve zenginleştirme işlemleri yapılmıştır (Tablo 9 ve Tablo 10).

Tablo 9. cDNA'nın zenginleştirilme reaksiyonu bileşenleri.

Bileşenler	Tepkime Hacmi
5x miScript PreAMP Buffer	5 µl
HotStarTaq DNA Polymerase	2 µl
miScript PreAMP Primer Mix	5 µl
miScript PreAMP Universal Primer	1 µl
Rnase-free water	7 µl
Dilue edilmiş cDNA	5 µl
Toplam Hacim	25 µl

Tablo 10. cDNA'nın zenginleştirilme tepkime sıcaklıkları

Sıcaklık (°C)	Zaman(dk)	
95	15dk	
94	30sn	} 12 döngü
60	3dk	

5.5.5. Q-PCR (Real Time-PCR, Gerçek Zamanlı-PCR)

qRT-PCR için tepkime bileşenleri Qiagen miScript SYBR Green PCR kiti kullanılarak hazırlandı. Tablo 11'de bileşenlerin tepkime hacimleri verilmiştir.

Tablo 11. qRT-PCR için kullanılan bileşenlerin oranları.

Kullanılan Bileşenler	Hacimler
2x QuantiTect SYBR Green PCR Toplam Karışım	10 µl
10x miScript Universal Primer	2 µl
10x miScriptPrimerAssay (Related miRNA primer)	2 µl
RNaz içermeyen su	1 µl
Zenginleştirilmiş cDNA	5 µl
Toplam total hacim	20 µl

Buz üzerinde tepkime bileşenleri hazırlanıp miRNA-1, miRNA-34a-5p, miRNA-126-3p, miRNA 423-5p, miRNA-199a-3p, miRNA-133-b, miRNA-29b-1-5p, miRNA-4638-3p primerleriyle beraber referans olarak SNORD61 ifade seviyelerine tespit etmek için qRT-PCR Rotor-Gene Q (Qiagen) kullanılmıştır. Q-PCR tepkime koşulları Tablo 12’ de verilmiştir.

Tablo 12. qRT-PCR tepkime koşulları.

Sıcaklık (°C)	Zaman(dk)	
95	15	
94	15	} 40 döngü
55	30	
70	30	

5.5.6. $2^{-\Delta\Delta Ct}$ Analizi ile Kat değişimlerinin Hesaplanması

Daha önce belirlenen miRNA-1, miRNA-34a-5p, miRNA-29b-1-5p, miRNA-126-3p, miRNA-199a-3p, miRNA 423-5p, miRNA-133-b, miRNA-4638-3p gen ekspresyonlarındaki ortaya çıkan farklılıklar hesaplandı. Real Time analizinde SNORD 61, çalışmamızda referans miRNA kabul edilerek ilk planda deltaCt değerleri bulundu. İkinci basamakta ilk grubun (tanı anında örneği alınan grup) Ct değerleri referans genin CT değerleri ile karşılaştırılarak delta Ct hesaplamaları yapıldı. Sonrasında her bir

örneğin delta Ct değerleri Excel programı içerisine veriler girişleri yapıldı ve tüm miRNA'ların delta-delta Ct ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) istatistiği yapıldı.

6. İstatistiksel Analiz Yöntemi

Elde edilen verilerdeki sürekli ölçümlerin normallik kontrolleri Shapiro Wilk testi ile değerlendirilmiştir. Sürekli ölçümlere ait başlangıç, 2.ay ve 4.ay ölçümleri arasındaki farklılıklar için Repeated Measurement analiz, 2.ay artışları ve 4.ay artışları arasındaki farklılıklar için ise Paired Samples T testi kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler olarak ortalama ve standart sapma değerleri verilmiştir. Sürekli ölçümler arasındaki ilişkiler, Pearson korelasyon analiziyle elde edilmiştir. İstatistik anlamlılık $p<0.05$ olarak baz alınmıştır.

BULGULAR

Çalışmamıza Tıbbi Onkoloji bölümümüzde tedavi alan, dahil edilme ve dışlanma kriterlerine uyan 50 meme kanserli hasta dahil edilmiştir. Verilerin toplanma süresi boyunca 1 hastanın sepsis nedenli erken ölümü, 2 hastanın merkezimizden takipten çıkması, 2 hastanın ise 2.kür sonrası eksik labaratuvar ve görüntüleme sonuçları nedeniyle, bazı kardiyak biyobelirteçler ve EKO görüntülerinde eksiklikler yaşanmıştır. Geri kalan 45 hastanın ise üç farklı zamandaki EKO verileri tamdı. Yapılan analizler sonucunda hastalarımızın yaşlarına ait ortalama ve standart sapma değerleri $51,4 \pm 10,2$ olarak hesaplanmıştır. Meme kanserli hastalar için önem arz eden menopoiz durumuna göre hastalarımızın %42'si (n:21) premenopoiz iken, %58'i (n:29) postmenopoiz olduğu saptanmıştır (Tablo 14). Hastaların detaylı inceleme sonucunda toplanan verilerinden elde edilen bilgiler ışığında saptanan genel demografik ve eşlik eden hastalıkları, yaşam tarzları ile ilgili bulgular ise Tablo 13 ve Tablo 15' de özetlenmiştir.

Tablo 13. Hastaların tedavi başlangıcındaki genel demografik verileri.

	Sayı(N)	Minimum	Maksimum	Ortalama
Yaş	50	34,00	70,00	$51,4 \pm 10,24$
VKİ (kg/m ²)	50	21,36	39,39	$28,97 \pm 4,28$
HbA1c (%)	26	4,70	12,00	$6,31 \pm 1,7$
TSH (µIU/mL)	46	0,04	13,43	$1,96 \pm 1,94$

Hastalarımızın başlangıç VKİ ortalaması ve standart sapması $28,97 \pm 4,28$ kg/m² olduğu ve hastalarımızın DM durumunu göstermesi açısından 26 hastanın HbA1c değerine ulaşılmış ve ortalama $6,3 \pm 1,65$ olarak tespit edilmiştir. Tiroid fonksiyon testleri incelenen 46 hastamızın ortalama TSH (Tiroid Stimule Edici Hormon) değeri ise normal aralıkta bulunmuştur.

Tablo 14. Hastaların menopoz durumu.

		Sayı (n)	Yüzde (%)
Tanı anında menopoz durumu	Premenepoz	21	42,0
	Postmenepoz	29	58,0

Hastalarımızın performans durumunu belirlemede en sık kullanılan ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) skoru incelendiğinde 41 hastanın (%82) ECOG skoru 0 iken 7 hastanın ise ECOG skoru 1, erken kaybettiğimiz hastanın ECOG skoru ise 2 idi. Hastalarımızın eşlik eden hastalıkları ve yaşam tarzlarına ilişkin yapılan analiz bulgularına göre, çalışmaya dahil olan toplam 50 hastanın 26'sında (%52) geçmişte veya teşhis anında sigara içicisi oldukları, 6 hastamızın (%12) düzenli alkol aldığı, 12 hastamızın (%24) diyabet tanısı olduğu, 17 hastamızın (%34) hiperlipidemi tanısı olduğu, ikisi koroner arter hastalığı olmak üzere 7 hastamızın (%14) bilinen kalp rahatsızlığı olduğu, 13 hastanın (%26) ise hipertansiyonu olduğu görülmüştür. Kalp hastalığı olan hastalarımız içinde KY tanısı olan hasta ise yoktu. Ayrıca 4 hastamızın astım, 10 hastanın bilinen tiroid hastalığı mevcuttur. Tiroid hastalarının hepsi tedavi altında idi (Tablo 15). Beslenme alışkanlıkları içerisinde 19 hastamız (%38) akdeniz diyeti tanımına benzer diyet yaptığı görülmektedir. Egzersiz sıklığına göre yapılan sınıflandırmada 8 hastamızın (%16) hiç egzersiz yapmadığı, 17 hastanın (%34) ara sıra, 15 hastanın (%30) sıklıkla, 10 hastanın (%20) her zaman egzersiz yaptığı bilinmektedir. Hastalarımızın tanı anında veya tanı sonrası süreçten sonra kullandıkları ilaçlar içerisinde ACE-i/ARB (Angiotensin dönüştürücü enzim inhibitörü, Angiotensin reseptörü blokörü) Aspirin, Statin ve/veya B-bloker gibi kardiyovasküler koruyucu ilaç alanların sayısının 17 (%34) olduğunu bilmekteyiz (Tablo 15). Bu hastaların 12'si bu tedavilerini onkoloji takiplerine başlamadan önce almaktaydı. Hastaların 5'ine ise meme kanseri teşhisinden sonra bu ilaçların başlandığı görülmektedir.

Tablo 15. Hastaların eşlik eden hastalıkları ve yaşam tarzları ile ilgili veriler.

Komorbiditeler		Hasta sayısı (N)	Hasta yüzdesi (%)
Sigara	Var	26	52
	Yok	24	48
Alkol	Var	6	12
	Yok	44	88
DM	Var	12	24
	Yok	38	76
HT	Var	13	26
	Yok	37	74
Hiperlipidemi	Var	17	34
	Yok	33	66
Kalp Hastalığı	Var	7	14
	Yok	43	86
Ailede kalp hastalığı	Var	13	26
	Yok	37	74
Akciğer Hastalığı	Var	4	8
Tiroid Hastalığı	Var	10	20
SVH öyküsü	Var	2	4
Beslenme	Akdeniz Diyeti	19	38
Egzersiz sıklığı	Hiç yapmaz	8	16
	Ara sıra yapar	17	34
	Sıklıkla yapar	15	30
	Her zaman yapar	10	20
Kardiyoprotektif ilaç	Var	17	34
	Yok	33	66

DM: Diyabetes mellitus, HT: hipertansiyon, SVH: serebrovasküler hastalık

Hastaların görüntüleme sonuçları, patoloji ve ameliyat notları incelendiğinde çalışmamıza dahil olan hastaların tanı anında meme tutulumuna göre yapılan ayırmda %38 hastanın (n:19) sağ meme, %62 hastanın (n:31) sol memede kitle tespit edilmiştir. Kitlenin bulunduğu kadranlara göre yapılan alt gruplarda %38 hastanın üst dış kadran, %26 multisentrik, %12 hastanın alt iç kadran, %10 alt dış, %10 üst iç kadranda lezyon belirlenmiştir. 2 hastamızın ise (%4) ise multifokal olarak tanı aldığı görülmektedir (Tablo 16).

Hastaların biyopsi ve cerrahi patoloji sonuçları birlikte değerlendirildiğinde belirlenen histolojik alt tiplerine göre hastalarda %78 oranda invaziv duktal karsinom, %12 oranda invaziv lobüler karsinom, 1 hastanın ise miks tip olduğu görülmüştür. 4 hastamız ise diğer meme kanserleri grubunda yer almaktadır. Hormon reseptörlerinin durumu benzer şekilde değerlendirildiğinde östrojen reseptörü pozitif (+) hasta oranımız %76, progesteron reseptörü pozitif (+) hasta oranımızın %74 oranda olduğu, HER-2 reseptörü pozitif (+) olan hasta oranımız ise %26 olduğu saptanmıştır. Histolojik derecelendirmeye göre hastaların %54'ünün grade-2, %42'sinin grade-3 olduğu, sadece 2 hastamızın grade-1 olduğu belirlenmiştir (Tablo 16).

Moleküler alt sınıflamaya göre hastalar %62 oranında Luminal A iken, %14 oranında ise Luminal B oldukları, 4 hastanın ise bazal tip grubunda olduğu verilerden elde edilmiştir.

Çalışma kapsamındaki hastaların tanı sonrası yapılan klinik evrelemesine göre 4 hastamızın (%8) metastatik geri kalanların ise metastatik olmadığı bilinmektedir. AJCC'nin 2018 yılında geçerli olmaya başlayan yeni TNM sınıflamasına göre yapılan evrelemeye göre hastalar gruplandırıldığında hastaların %26'sı EVRE 3A, %22'si EVRE 2B, %18'i ise EVRE 2A olduğu görüldü.

Hastaların 2 tanesi yalnızca kemik metastazı olan hastalar iken, 2 tanesinin multiple metastazları mevcut idi (Tablo 17).

Tablo 16. Hastaların patolojik ve moleküler bilgileri.

		Sayı (n)	Yüzde (%)
Meme tutulumu	sağ meme	19	38,0
	sol meme	31	62,0
Kitle lokalizasyonu	üst dış	19	38,0
	üst iç	5	10,0
	alt dış	5	10,0
	alt iç	6	12,0
	multisentirik	13	26,0
	multifokal	2	4,0
Histolojik tip	IDC	39	78,0
	ILC	6	12,0
	Mikst tip	1	2,0
	Diğerleri	4	8,0
ER	pozitif (+)	38	76,0
	negatif (-)	12	24,0
PR	pozitif (+)	37	74,0
	negatif (-)	13	26,0
HER-2	pozitif (+)	13	26,0
	negatif (-)	36	72,0
Grade	grade-1	2	4,0
	grade-2	27	54,0
	grade-3	21	42,0
Sınıflandırma	Luminal A	31	62,0
	Luminal B	7	14,0
	HER2+	8	16,0
	Bazal	4	8,0

IDC: invaziv duktal karsinom, ILC: invaziv lobüler karsinom

Hastaların %68'i adjuvan kemoterapi almışken, %32'si neoadjuvan kemoterapi aldı. Hastaların tedavi süresince meme kanseri kemoterapi protokolleri incelendiğinde hastaların %40'ı AC+PTX (Paklitaksel) tedavisi, %20'sine sadece 6 AC, %18'ine AC+PTX/HER (Herceptin) tedavisi, %12'sine AC+DTX (Doksetaksel) tedavisi, %8'ine sadece 4 AC ve 1 hastaya ise AC+DTX/HER tedavisi verilmesi planlanmıştır (Tablo 17). Tüm hastalar, takiplerimiz boyunca protokolleri içinde 4AC tedavisi planlanmış, daha önce kardiyotoksisite yaratacak başka kemoterapi almayan ve hastalık teşhisi konmadan önce radyoterapi öyküsü olmayan hastalardan oluşmaktadır (Tablo 17). Hastalara planlanmış AC protokol sıklığı incelendiğinde hastaların %72'sinin 21 günde bir kür aldıkları, %28'inin ise 14 günde bir kür aldıkları görüldü. Hastaların toplamda 4 kür AC protokolünün başlangıcından bitişine kadar geçen süresi ortalama ve standart sapması $70,8 \pm 28,8$ gün olarak hesaplanmıştır.

Operasyon tipleri açısından elde edilen bulgulara göre, 3 hastamız henüz opere olmamış idi. Uygulanan cerrahi prosedür %68 oranında MRM (Modifiye radikal mastektomi), %18 oranında MKC (Meme koruyucu cerrahi), iken 4 hastamız ise mastektomi tipi operasyonla opere olmuştur (Tablo 17).

Hastaların periyodik olarak verdikleri kanlardan, aynı biyokimya labaratuvarında yapılan ölçümler incelenmiştir. Bu sonuçlar ile ilgili elde edilen biyokimyasal ve hemogram parametreleri ile ilgili detaylı bulguların, başlangıç, 2AC sonrası, 4AC sonrası verilerden elde edilen analizlerden tespit edilen farklılıklar topluca özetlenmiştir (Tabo 18). Hastaların başlangıç aşamasındaki glukoz ölçümleri ortalaması $111,70 \pm 31,76$ mg/dL olarak ölçülmüştür. Glukoz için zamana bağlı olarak değişim gözlenmektedir ($p=0.021$). Farklılıklar incelendiğinde ise sadece başlangıç değerleri ile 2AC değerleri arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur ($p=0.006$). Başlangıç hemoglobin (Hgb) değerleri ortalaması $12,85 \pm 1,65$ g/dL idi. Hastalar kemoterapi süresince 2AC sonrası ve 4AC sonrası ölçümlerde Hgb parametresi için zamana bağlı olarak anlamlı bir değişim olduğu görülmektedir ($p<0,001$). Başlangıç ile 2AC arasındaki ($p<0,001$), başlangıç ile 4AC arasındaki ($p<0,001$) ve 2AC ile 4AC arasındaki ($p=0,006$) farklılıklar anlamlı bulunmuştur (Tablo 18). Zamana bağlı olarak Hgb değerlerinde bir düşüş gözlenmiştir.

Tablo 17. Hastaların hastalık evrelemesi ve kemoterapi bilgileri.

		Sayı (n)	Yüzde (%)
Evreleme	EVRE 1A	4	8,0
	EVRE 2A	9	18,0
	EVRE 2B	11	22,0
	EVRE 3A	13	26,0
	EVRE 3B	5	10,0
	EVRE 3C	4	8,0
	EVRE 4	4	8,0
Metastaz durumu	M1	4	8,0
	M0	46	92,0
Metastaz yeri	Kemik	2	4,0
	Multiple	2	4,0
Kemoterapi	Neoadjuvan	16	32,0
	Adjuvan	34	68,0
KT Protokolü	Yalnızca 4AC	4	8,0
	Yalnızca 6AC	10	20,0
	AC+PTX	20	40,0
	AC+PTX/HER	9	18,0
	AC+DTX	6	12,0
	AC+DTX/HER	1	2,0
AC kür sıklığı	14 gün	14	28,0
	21 gün	36	72,0
Operasyon Durumu	Opere olmadı	3	6,0
	Mastektomi	4	8,0
	MRM	34	68,0
	MKC	9	18,0

MRM: Modifiye radikal mastektomi, MKC: Meme koruyucu cerrahi, M1: Metastaz mevcut.

Başlangıç lökosit değerleri ortalaması $7,73 \pm 2,05 \cdot 10^3/\mu\text{L}$ idi. Hastalar kemoterapi süresince 2AC sonrası ve 4AC sonrası ölçümlerde lökosit parametresi için zamana bağlı olarak anlamlı farklılıklar olduğu görülmektedir ($p<0,001$). Başlangıç ile 2AC arasındaki ($p<0,001$), başlangıç ile 4AC arasındaki ($p<0,001$) farklılıklar anlamlı bulunmuştur. Farklılıklar incelendiğinde, başlangıç değerleri 2AC ve 4AC değerlerine göre oldukça yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). Başlangıç nötrofil değerleri ortalaması $4,82 \pm 1,76 \cdot 10^3/\mu\text{L}$ idi. Hastalar kemoterapi süresince 2AC sonrası ve 4AC sonrası ölçümlerde nötrofil parametresi için zamana bağlı olarak değişim olduğu görülmektedir ($p<0,001$). Başlangıç ile 2AC arasındaki ($p<0,001$), başlangıç ile 4AC arasındaki ($p=0,005$) farklılıklar anlamlı bulunmuştur. Zamana bağlı olarak nötrofil değerlerinde bir düşüş gözlenmiştir.

Lenfosit parametresi incelendiğinde zamana bağlı olarak değişim gözlenmektedir ($p<0,001$). Başlangıç değer ile 2AC ve 4AC değerleri arasında farklılık anlamlı bulunmuştur (her iki p değeri $<0,001$). 2AC değeri ile 4AC değeri arasında da farklılıklar anlamlı bulunmuştur ($p=0,001$).

Platelet (Plt) parametresi bakımından incelendiğinde zamanla ölçüm değerleri arasında farklılıklar gözlenmiştir ($p<0,001$). Farklılıklar incelendiğinde, başlangıç değerleri 2AC ve 4AC değerlerine göre oldukça yüksek bulunmuştur (tüm p değerleri $<0,001$).

Başlangıç RDW (Kırmızı kan hücreleri dağılım genişliği) değerleri ortalaması yüzde $14,06 \pm 2,34$ idi. Hastalar kemoterapi süresince 2AC sonrası ve 4AC sonrası ölçümlerde RDW parametresi için zamana bağlı olarak değişim olduğu görülmektedir ($p<0,001$). Başlangıç ile 2AC arasındaki ($p<0,001$), başlangıç ile 4AC arasındaki ($p<0,001$) ve 2AC ile 4AC arasındaki ($p<0,001$) farklılıklar anlamlı bulunmuştur. RDW değerinin zamanla arttığı görülmektedir.

Başlangıç kreatinin değerleri ortalaması $0,63 \pm 0,14 \text{ mg/dL}$ idi. Hastalar kemoterapi süresince 2AC sonrası ve 4AC sonrası ölçümlerde kreatinin parametresi için zamana bağlı olarak değişim olduğu görülmektedir ($p=0,001$). Başlangıç ile 4AC arasındaki ($p<0,001$) farklılıklar anlamlı bulunmuştur.

AST (Aspartat transaminaz), CK, CRP (C-reaktif protein), HDL (Yüksek Dansiteli Lipoprotein), LDH (Laktat Dehidrogenaz), LDL (Düşük dansiteli lipoprotein) ve tümör belirteçlerinin kemoterapi aldıkları süre boyunca değişim yaşamış olsalar da zamana bağlı değişimler anlamlı bulunmamıştır (Tablo 18).

Özellikle LDH, CK, CK-MB, AST değerlerinde zamanla artış görülmüş lakin istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 18).

Konumuz gereği kardiyak biyobelirteçlerin analizi sonrası elde edilen verilere göre çıkan bulguları özetlemek gerekmektedir. Başlangıç CK-MB değerleri ortalaması $1,16 \pm 0,69$ ng/mL idi. Hastalar kemoterapi süresince 2AC sonrası ve 4AC sonrası ölçümlerde CK-MB parametresi için kemoterapi alınan zamana bağlı, ortalama değerlerde kürler uygulandıktan sonra artış olmasına rağmen, değişimin anlamlı olmadığı görülmektedir ($p=0,098$). Başlangıç myoglobin değerleri ortalaması $21,75 \pm 24,98$ ng/mL idi. Hastalar kemoterapi süresince 2AC sonrası ve 4AC sonrası ölçümlerde myoglobin parametresi için kemoterapi alınan zamana bağlı, ortalama değerlerde kürler uygulandıktan sonraki değişimin anlamlı olmadığı görülmektedir ($p=0,380$).

Başlangıç BNP değerleri ortalaması $103,60 \pm 52,97$ pg/mL dir. Hastalar kemoterapi süresince 2AC sonrası ve 4AC sonrası ölçümlerde BNP parametresi için kemoterapi alınan zamana bağlı, ortalama değerlerde kürler uygulandıktan sonra artış olsa da değişimin anlamlı olmadığı görülmektedir ($p=0,297$).

Hastaların troponin-I değerlerinin tedavi öncesi ortalaması $0,0041739 \pm 0,004$ ng/mL olarak görülmüştür. Hastalar kemoterapi süresince 2AC sonrası ve 4AC sonrası ölçümlerde troponin parametresi için zamana bağlı olarak değişim olduğu görülmektedir ($p<0,001$). Başlangıç ile 2AC arasındaki ($p<0,001$), başlangıç ile 4AC arasındaki ($p<0,001$) ve 2AC ile 4AC arasındaki ($p<0,001$) farklılıklar anlamlı bulunmuştur (Tablo 18).

Tablo 18. Hastaların tedavi boyuncaki labaratuvar verileri.

	Parametre	Tedavi öncesi	2AC	4AC	p
Biyokimya ve Hemogram	Glukoz (mg/dL)	111,70 ± 31,76	122,55 ± 42,52*	117,35 ± 41,35	0,021
	AST (U/L)	20,27 ± 5,72	19,96 ± 5,74	21,41 ± 7,43	0,360
	CK (U/L)	60,29 ± 25,10	53,97 ± 32,74	62,60 ± 33,97	0,156
	CK-MB (ng/mL)	1,16 ± 0,69	1,18 ± 0,66	1,31 ± 0,60	0,098
	CRP (mg/L)	5,82 ± 7, 06	12,40 ± 27, 15	9,70 ± 13, 95	0,076
	HDL (mg/dL)	53,82 ± 10,36	53,03 ± 11,14	52,15 ± 11,5	0,435
	Hgb (g/dL)	12,85 ± 1,65	11,96 ± 1,44*	11,54 ± 1,39 ^{*†}	0,001
	Lökosit (10 ³ /μL)	7,73 ± 2,05	4,25 ± 3,44*	4,50 ± 4,40 *	< 0,001
	Lenfosit (10 ³ /μL)	2,17 ± 0,53	1,30 ± 0,45 *	1,07 ± 0,39 ^{*†}	< 0,001
	Nötrofil (10 ³ /μL)	4,82 ± 1,76	2,28 ± 3,04*	2,66 ± 3,99*	< 0,001
	Plt (10 ³ /μL)	304,10 ± 71,45	230,33 ± 67,96*	248,96 ± 77,60*	< 0,001
	RDW (%)	14,06 ± 2,34	14,82 ± 2,50*	16,71 ± 2,98 ^{*†}	< 0,001
	Kreatinin (mg/dL)	0,63 ± 0,14	0,59 ± 0,12	0,58 ± 0,14*	0,001
	LDH (U/L)	180,19 ± 34,85	197,79 ± 79,30	202,60 ± 58, 69	0,079
	LDL (mg/dL)	147,83 ± 39,97	149,97 ± 33,98	149,09 ± 33,28	0,878
	Myoglobin (ng/mL)	21,75 ± 24,98	20,03 ± 25,27	21,41 ± 24, 68	0,380
	Pro-BNP (pg/mL)	103,60 ± 52,97	122,11 ± 119,17	126,18±102,71	0,297
	Troponin-I (ng/mL)	0,0041739±0,004	0,0090435±0,005*	0,0236087±0,130 ^{*†}	<0,001
	CEA (ng/mL)	2,55 ± 3,89	2,18 ± 2,14	2,20 ± 2,52	0,404
	CA15-3(U/mL)	28,61 ± 69,46	23,64 ± 28,23	19,42 ± 12,42	0,347

*: Başlangıç değerleri ile olan farklılık; †: 2AC ile olan farklılıkları göstermektedir.

AST: Aspartat transaminaz, CK: Kreatin kinaz, CRP: C-reaktif protein, HDL: Yüksek Dansiteli Lipoprotein, LDH: Laktat Dehidrogenaz, LDL: Düşük Dansiteli Lipoprotein, RDW: Kırmızı kan hücreleri dağılım genişliği

Ekokardiyografi, EKG, tansiyon ve kemoterapi doz verileri ile ilgili bulgular Tablo 19'da gösterilmiştir.

Çalışmamızda yer alan hastaların SoVEF değerlerinin tedavi başlanmadan önceki ortalaması $60,31 \pm 3,11$, 2AC sonrası ölçülen SoVEF değerlerinin ortalaması $59,02 \pm 3,18$, hastaların tedavisinin tamamı bittikten sonra 4AC ardından ölçülen SoVEF değerlerinin ortalaması $55,79 \pm 4,92$ şeklindedir. SoVEF parametresinin tedavi uygulama zamanına bağlı olarak değişim gösterdiği görülmektedir ($p < 0,001$). Başlangıç ile 4AC sonrası ölçüm arasındaki ve 2AC ile 4AC sonrası ölçümler arasında zaman ile oluşan farklılıkların anlamlı olduğu görülmüştür (her iki $p < 0,001$). Özellikle 4AC sonrası ölçümde EF düşüşünün daha net bir şekilde belirginleştiği görülmektedir (Tablo 19).

EKO ölçüm parametrelerinden ESV (End sistolik volüm) (mL) parametresi açısından ESV ölçümleri incelendiğinde, başlangıç aşamasındaki ortalama değer $35,73 \pm 8,24$ mL iken, 2AC sonrası ortalama değer $35,93 \pm 8,08$ mL dir. 4AC sonrasında ise ölçümlerin ortalamasının $39,44 \pm 9,02$ mL değerine yükseldiği görülmüştür ($p = 0,019$). İkili karşılaştırmalar incelendiğinde ise 2AC ile 4AC arasındaki farklılığın anlamlı olduğu görülmüştür. Benzer şekilde EDV (End Diyastolik volüm) (mL) parametresinin zaman ile arttığı görülmektedir (Tablo 19). Lakin istatistiksel olarak bu artış anlamsız sonuçlanmıştır ($p = 0,844$). Bir başka EKO ölçüm parametresi olan TAPSE için yapılan istatistiksel analizlere göre elde edilen veriler ışığında, tedavi öncesi başlangıç ortalama değeri $22,20 \pm 3,12$ cm olduğu görüldü. Hastaların 2AC sonrası yapılan EKO ölçümleri sonucu elde edilen TAPSE ortalama değerleri $20,24 \pm 3,1$ cm ile düşüşe geçmiştir. 4AC bitiminde ise ölçülen değer $19,27 \pm 3,78$ cm olarak düşmeye devam etmektedir ($p < 0,001$). Başlangıç ile 2AC arasında anlamlı bir farklılık ($p = 0,012$) ve başlangıç aşaması ile 4AC arasında yine düşüş açısından anlamlı bir farklılık olduğu tespit edildi ($p < 0,001$). TAPSE parametresi incelendiğinde zamana bağlı olarak düşüş yönünde değişim gözlenmektedir ($p < 0,001$). Hastaların IVRZ (İzovolümetrik relaksasyon zamanı) ölçüm parametresi başlangıç için ortalama $89,13 \pm 41,67$ ms olarak, 2AC zamanı için $77,47 \pm 20,66$ ms, 4AC sonrasında ise $73,96 \pm 15,33$ ms olarak hesaplandı. Zamanla oluşan bu düşüş değişimi anlamlı bulunmuştur ($p = 0,048$). Üç farklı zamanın kendi içindeki

ikili karşılaştırmalarında ise başlangıç ile 4AC sonrası oluşan ortalama değerler arasındaki düşüş anlamlıdır (p=0,02).

Tablo 19. Hastaların tedavi boyunca kardiyak ölçümleri ve KT dozları.

	Parametre	Tedavi öncesi	2AC	4AC	p
EKO	SoVEF (%)	60,31 ± 3,11	59,02 ± 3,18	55,79 ± 4,92 ^{*,†}	<0,001
	E (cm/sn)	69,64 ± 12,45	71,07 ± 15,66	69,13 ± 15,62	0,653
	E'(cm/sn)	11,64 ± 2,90	11,69 ± 2,36	10,91 ± 2,19	0,082
	E/E'	6,28 ± 1,64	6,27 ± 1,70	6,56 ± 1,91	0,572
	EDV (ml)	86,64 ± 18,37	87,13 ± 16,36	88,64 ± 20,09	0,844
	ESV (ml)	35,73 ± 8,24	35,93 ± 8,08	39,44 ± 9,02 [†]	0,019
	LA volüm(ml)	37,75 ± 12,82	38,64 ± 14,77	37,25 ± 10,1	0,834
	TAPSE (cm)	22,20 ± 3,12	20,24 ± 3,1 [*]	19,27 ± 3,78 [*]	<0,001
	S (cm/sn)	13,38 ± 1,56	13,35 ± 2,80	13,38 ± 2,83	0,998
	Sağ ventrikül diyastol çapı (cm)	3,23 ± 0,41	3,18 ± 0,33	3,24 ± 0,30	0,548
	IVRZ (ms)	89,13 ± 41,67	77,47 ± 20,66	73,96 ± 15,33 [*]	0,048
	Deselerasyon süresi (ms)	202,38±35,86	190,69±43,81	194,58 ± 41,30	0,378
EKG	Kalp Hızı (Nbz/dk)	77,64 ± 12,89	84,49±12,46 [*]	87,91 ± 11,41 [*]	<0,001
	Qt süresi(ms)	396,57±14,15	395,79±16,20	396,49 ± 18,25	0,941
TA	Sistolik (mmHg)	133,91±18,79	131,82±20,28	131,45 ± 15,67	0,893
	Diyastolik (mmHg)	80,45 ± 11,32	77,91 ± 8,10	75,73 ± 8,63	0,493
Doz	Adriamisin (mg/m ²)	-	119,24±2,069	238,26 ± 4,58	<0,001

*: Başlangıç değerleri ile olan farklılık; †: 2AC ile olan farklılıkları göstermektedir.

EKO parametreleri olarak elde edilen E (mitral akım üzerinden diyastolik erken doluş pik velositesi), E' (mitral kapak lateral yaprakçığı üzerinden doku doppler) ve E/E', LA volüm (sol atrial volüm), S (triküspit kapak S velositesi), sağ ventrikül diyastol çapı, deselerasyon süresi gibi parametrelerin ortalama değerleri tedavi öncesi, 2AC ve 4AC ölçümlerinde oluşan farklılık anlamlı çıkmamıştır (Tablo 19). EKG ölçümü ile belirlenen kalp hızı (Nabız/dk) başlangıç aşamasında ortalama $77,64 \pm 12,89$ hesaplandı, 2AC sonrası ölçümde $84,49 \pm 12,46$, 4AC bitiminden sonra ise $87,91 \pm 11,41$ olarak hesaplandı. Bu değerler arasında kür verilme zamanıyla oluşan farklılık anlamlı görülmüştür ($p < 0,001$). Başlangıç değer ile 2AC ve 4AC ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur (tüm p değerleri; $< 0,001$). Kalp hızında zamanla artış görülmüştür. EKG de ölçülen QTc süresi açısından ise anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p = 0,941$).

Tansiyon ölçümleri arasında özellikle diyastolik tansiyon açısından zamanla düşüş yaşanarak bir değişim gerçekleşmiş olsa da, anlamlı bir düşüş olmadığı görülmüştür (Tablo 19). Hastalarımıza verilen 2AC sonrası adriamisin (doksorubisin) dozu ortalama olarak $119,24 \pm 2,069$ mg/m² iken, 4AC sonunda verilen doz ortalaması ise $238,26 \pm 4,58$ m/m² dir ($p < 0,001$). AC doz bakımından incelendiğinde; 2. ve 4. ölçüm değerleri arasında farklılık anlamlı bulunmuş ve zamanla değerlerde beklendiği gibi bir yükselme gözlenmiştir ($p < 0,001$).

Elimizdeki EKO, EKG, tansiyon ve kardiyak parametrelerin birbiri arasındaki ilişkiyi saptamaya çalıştık. Yapılan korelasyon analizlerine göre hastaların başlangıç değerleri ile ilgili elde edilen bulgular şu şekildedir. Tedavi öncesi hastaların sistolik kan basınçları ile diyastolik kan basınçları arasında pozitif, yüksek bir korelasyon tespit edildi ($p < 0,001$ $r = 0,76$). Yine sistolik kan basıncı ile troponin arasında zayıf şiddette negatif bir korelasyon bulunmuştur ($p = 0,037$, $r = -0,034$). Yine aynı verilere göre sistolik kan basıncı ile E' Lateral ölçümleri arasında zayıf şiddette negatif korelasyon görülmüştür ($p = 0,038$, $r = -0,35$). Sistolik kan basıncı ile LA volüm arasında pozitif yönde orta şiddette korelasyon saptanmıştır ($p = 0,011$, $r = 0,43$). Diyastolik kan basıncının troponin ile zayıf ve negatif yönde korelasyonu olduğu görülmüştür ($p = 0,044$, $r = -0,33$). Diyastolik kan basıncının LA Volüm ile korelasyonu ise orta şiddette pozitif bir korelasyondur ($p = 0,006$, $r = 0,45$). Tedavi öncesi troponin değerinin ise LA Volüm ile zayıf da olsa negatif yönde korelasyon ilişkisi olduğu görülmüştür

($p=0,014$, $r=-0,36$). Yine BNP değerinin myoglobin ile arasında pozitif yönde zayıf bir ilişki bulunmuştur ($p=0,015$, $r=0,35$). CK ve CK-MB başlangıç değerleri arasında pozitif yönde ve orta şiddette ilişki görülmektedir ($p<0,001$, $r=0,55$). CK ile myoglobin arasında pozitif yönlü çok yüksek pozitif bir ilişki analiz edilmiştir ($p<0,001$, $r=0,81$). CK-MB ile myoglobin arasında orta şiddette pozitif korelasyon saptanmıştır ($p<0,001$, $r=0,59$). Kemoterapi tedavisi öncesi myoglobin değerleri ile S lmleri arasında zayıf derecede pozitif korelasyon anlaşılmıştır ($p=0,046$, $r=0,29$).

Hastaların kalp hızı değerleri ile EKG'de llen QTc değerleri arasında zayıf derecede negatif bir ilişki bulunmuştur ($p=0,017$, $r=-0,34$). QTc lmleri ile IVRZ arasında negatif zayıf şiddette ilişki gözlemlenmiştir ($p=0,025$, $r=-0,33$).

EF lmleri ile ESV lmleri arasında orta derecede pozitif korelasyon tespit edilmiştir ($p=0,001$, $r=0,45$). SoVEF lmleri ile sağ ventrikül diyastol çapı ölçümleri arasında negatif zayıf bir ilişki bulundu ($p=0,025$, $r=-0,33$). E' Lateral ile E/E' arasında yüksek şiddette negatif bir ilişki gözlendi ($p<0,001$, $r=-0,75$). EDV lm değerleri ile ESV lm değerleri arasında çok yüksek derecede pozitif bir ilişki görüldü ($p<0,001$, $r=0,90$). ESV ile sağ ventrikül diyastol çapı arasında zayıf derecede pozitif yönlü ilişki bulundu ($p=0,031$, $r=0,32$). LA Volüm ile sağ ventrikül diyastol çapı arasında zayıf derecede pozitif ilişki görülmüştür ($p=0,043$, $r=0,30$). TAPSE lmleri ile IVRZ arasında zayıf derecede pozitif yönlü ilişki saptandı ($p=0,008$, $r=0,38$).

Hastaların 2.kr tedavileri sonrası yapılan ölçümleri sonucunda EKO, EKG tansiyon ve kardiyak parametrelerin birbiri arasındaki ilişkiyi belirlemeyi hedefledik. 2 kür kemoterapi sonrası ölçülen diyastolik kan basıncıları ile hastaların kalp hızı değerleri arasında çok yüksek şiddette pozitif korelasyon görüldü ($p<0,001$, $r=0,90$). 2 kr alan hastaların troponin değerleri ile BNP değerleri arasında zayıf da olsa pozitif bir korelasyon tespit edildi ($p=0,009$, $r=0,37$). CK ile CK-MB arasında orta derecede pozitif korelasyon görüldü ($p=0,005$, $r=0,40$). CK ile myoglobin arasında orta derecede pozitif korelasyon görüldü ($p=0,001$, $r=0,47$). CK ile LA volüm arasında orta derecede pozitif korelasyon görüldü ($p=0,002$, $r=0,44$).

CK-MB ile myoglobin arasında yüksek derecede pozitif korelasyon görüldü ($p<0,001$, $r=0,65$). CK-MB ile kalp hızı arasında zayıf derecede pozitif korelasyon görüldü ($p=0,011$, $r=0,36$). CK-MB ile ESV arasında zayıf derecede

pozitif korelasyon görüldü ($p=0,007$, $r=0,39$). Myoglobin ile ESV arasında orta derecede pozitif korelasyon görüldü ($p=0,001$, $r=0,45$). Kalp hızı ile IVRZ arasında zayıf derecede negatif korelasyon görüldü ($p=0,020$, $r=-0,34$).

EKO ölçümleri ile elde edilen EF değerleri ile IVRZ arasında zayıf derecede pozitif korelasyon görüldü ($p=0,024$, $r=0,33$). E' Lateral ölçümleri ile EDV arasında pozitif zayıf derecede ilişki bulundu ($p=0,008$, $r=0,38$). E' Lateral ölçümleri ile ESV arasında pozitif zayıf derecede ilişki bulundu ($p=0,048$, $r=0,29$). EDV ölçümleri ile ESV arasında pozitif çok yüksek derecede ilişki bulundu ($p<0,001$, $r=0,85$). EDV ölçümleri ile LA Volüm arasında pozitif zayıf derecede ilişki bulundu ($p=0,019$, $r=0,34$). EDV ölçümleri ile sağ ventrikül diyastol çapı arasında pozitif zayıf derecede ilişki bulundu ($p=0,039$, $r=0,30$). TAPSE verileri ile IVRZ ölçümleri arasında zayıf dahi olsa pozitif korelasyon saptandı ($p=0,049$, $r=0,29$).

Hastaların 4.kür kemoterapileri sonrası (AC4) EKO, EKG ve kardiyak parametrelerin ölçümleri ile ilgili elde edilen korelasyon bulguları değerlendirilmiştir. AC4 ölçümleri ile elde edilen sistolik kan basıncı ve diyastolik kan basıncı arasında orta derecede pozitif korelasyon elde edildi ($p<0,001$, $r=0,55$). Sistolik kan basıncı ile kalp hızı arasında zayıf pozitif korelasyon saptandı ($p=0,022$, $r=0,37$). Sistolik kan basıncı ile E' Lateral arasında orta şiddette negatif korelasyon saptandı ($p=0,003$, $r=-0,46$). Sistolik kan basıncı ile E/E' arasında zayıf pozitif korelasyon saptandı ($p=0,020$, $r=0,38$). Diyastolik kan basıncı ile myoglobin arasında zayıf negatif korelasyon saptandı ($p=0,032$, $r=-0,35$). Önemli bir kardiyak belirteç olan BNP ve EKG ile elde edilen QTc mesafesi ölçümleri arasında zayıf da olsa, pozitif korelasyon saptandı ($p=0,01$, $r=0,37$). BNP ile sağ ventrikül diyastol çapı arasında zayıf da olsa, pozitif korelasyon saptandı ($p=0,016$, $r=0,35$). CK ile CK-MB arasında yüksek derecede pozitif korelasyon görüldü ($p<0,001$, $r=0,73$). CK ile myoglobin arasında çok yüksek derecede pozitif korelasyon görüldü ($p<0,001$, $r=0,83$). CK ile IVRZ arasında orta derecede pozitif korelasyon görüldü ($p=0,002$, $r=0,44$). CK-MB ile myoglobin arasında yüksek derecede pozitif korelasyon görüldü ($p<0,001$, $r=0,67$). Kalp hızı ile EF arasında zayıf derecede negatif korelasyon görüldü ($p=0,026$, $r=-0,32$). EF ölçümleri ile ESV arasında negatif zayıf derecede ilişki gözlemlendi ($p=0,009$, $r=-0,37$). EF ölçümleri ile TAPSE arasında pozitif zayıf derecede ilişki gözlemlendi ($p=0,032$, $r=0,31$). EF ölçümleri ile IVRZ

arasında pozitif zayıf derecede ilişki gözlemlendi ($p=0,046$, $r=0,29$). EDV ölçümleri ile ESV arasında pozitif çok yüksek derecede ilişki gözlemlendi ($p<0,001$, $r=0,92$). EDV ölçümleri ile LA volüm arasında pozitif orta derecede ilişki gözlemlendi ($p=0,004$, $r=0,42$). EDV ölçümleri ile sağ ventrikül diyastol çapı arasında pozitif zayıf derecede ilişki gözlemlendi ($p=0,013$, $r=0,36$). ESV ölçümleri ile LA volüm arasında pozitif zayıf derecede ilişki gözlemlendi ($p=0,007$, $r=0,39$). ESV ölçümleri ile sağ ventrikül diyastol çapı arasında pozitif zayıf derecede ilişki gözlemlendi ($p=0,018$, $r=0,34$). LA Volüm ölçümleri ile S değeri arasında pozitif orta derecede ilişki gözlemlendi ($p=0,001$, $r=0,49$). LA Volüm ölçümleri ile sağ ventrikül diyastol çapı arasında pozitif zayıf derecede ilişki gözlemlendi ($p=0,05$, $r=0,29$).

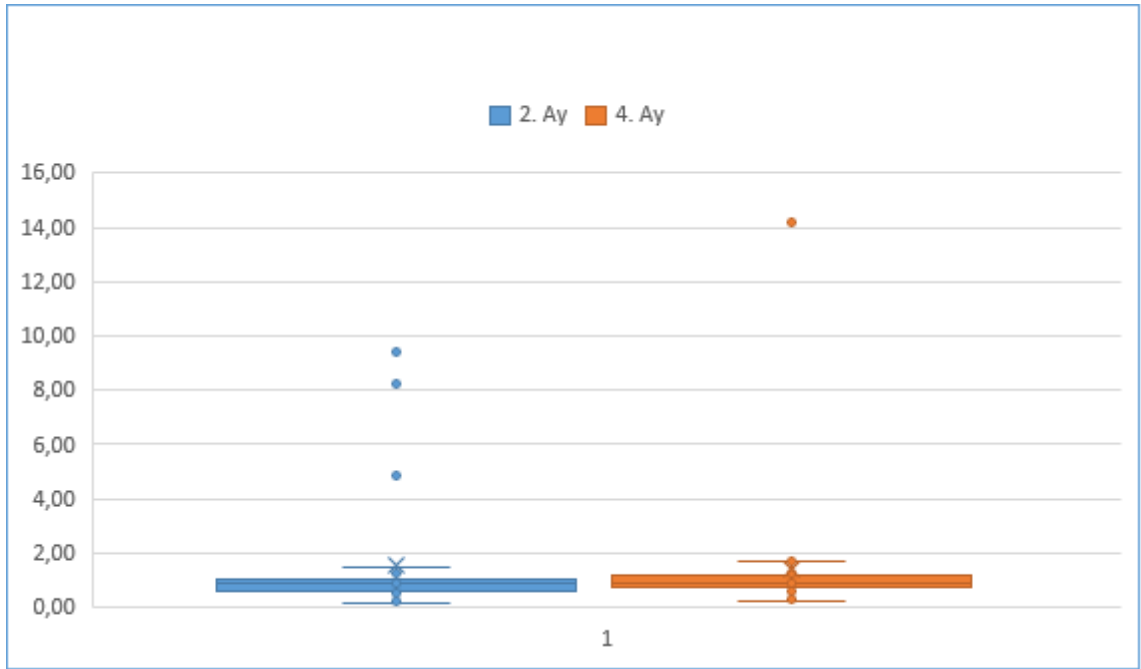
Tablo 20. Hastaların miRNA kat artışlarının 2AC ve 4AC ortalamaları

	Ortalama kat artışı zamanı	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	P
miRNA-1	2AC kat artışı	1,519 $\pm$ 2,279	0,807
	4AC kat artışı	1,413 $\pm$ 2,588	
miRNA-34a-5p	2AC kat artışı	0,855 $\pm$ 0,294	0,107
	4AC kat artışı	0,976 $\pm$ 0,264	
miRNA-126-3p	2AC kat artışı	1,217 $\pm$ 1,205	0,422
	4AC kat artışı	1,003 $\pm$ 0,393	
miRNA-133b	2AC kat artışı	0,907 $\pm$ 0,343	0,728
	4AC kat artışı	0,937 $\pm$ 0,394	
miRNA-199a-3p	2AC kat artışı	2,459 $\pm$ 5,704	0,950
	4AC kat artışı	2,495 $\pm$ 7,511	
miRNA-29-b-1-5p	2AC kat artışı	0,853 $\pm$ 0,263	0,098
	4AC kat artışı	1,105 $\pm$ 0,656	
miRNA-423-5p	2AC kat artışı	1,020 $\pm$ 0,881	0,642
	4AC kat artışı	1,140 $\pm$ 1,007	
miRNA-4638-3p	2AC kat artışı	1,431 $\pm$ 2,424	0,416
	4AC kat artışı	3,573 $\pm$ 13,10	

Hastaların 2AC ve 4AC zamanlarında alınan kanlarından elde edilen miRNA ekspresyon kat artışları ortalaması arasındaki fark anlamlı

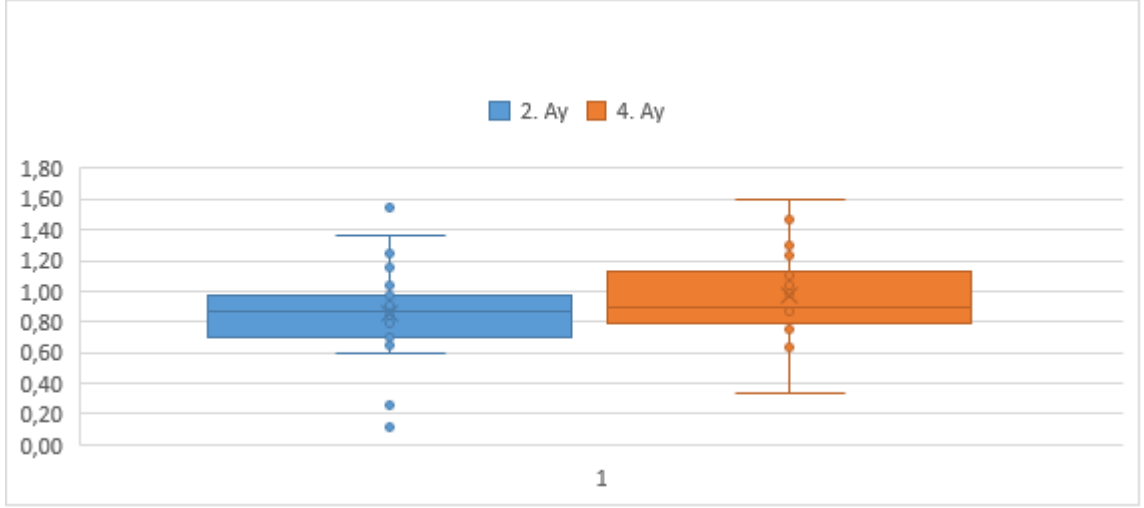
bulunmamıştır (Tablo 20). Hastalardan çalışılan miRNA-1, miRNA-34a-5p, miRNA-199a-3p, miRNA-133-b, miRNA-126-3p, miRNA-29b-1-5p, miRNA 423-5p, miRNA-4638-3p sonuçlarından elde edilen bulgulara göre her bir miRNA için ayrı bir değerlendirme gerekmektedir.

miRNA-1: Hastaların tedavi öncesi ile 2 kür kemoterapi sonrası ortalama kat değişimleri incelendiğinde başlangıca göre miRNA-1'in 2 kür sonrası (2AC) ortalama kat değişimi (KD) 1,52 iken, 4 kür kemoterapi sonrası (4AC) ortalama kat değişimi ise 1,41 olarak hesaplanmıştır (Şekil 1).



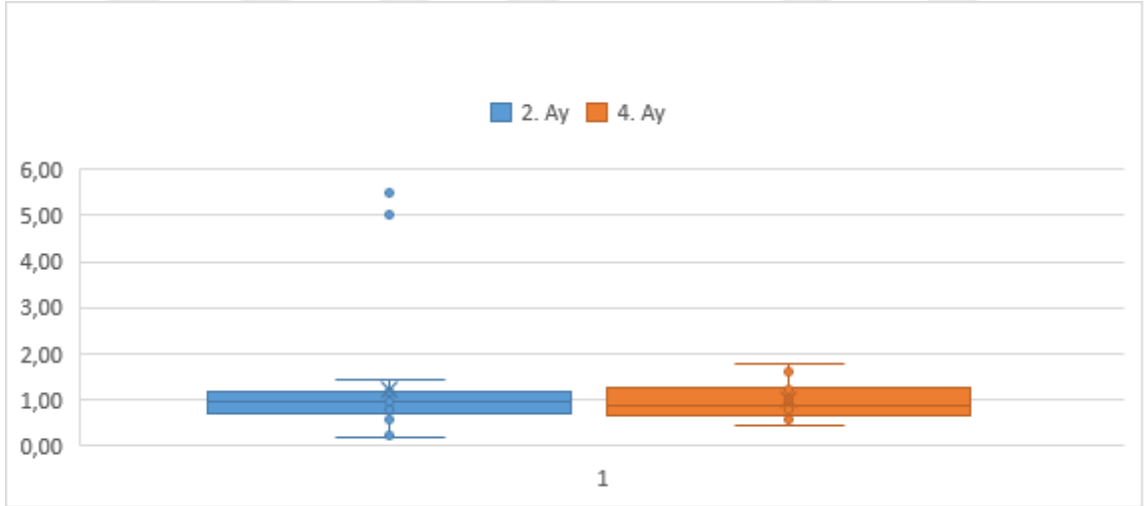
Şekil 1. Hastaların miRNA-1 ekspresyonlarının 2AC ve 4AC ortalama KD.

miRNA-34a-5p: Hastaların tedavi öncesi ile 2 kür kemoterapi sonrası ortalama kat değişimleri incelendiğinde başlangıca göre miRNA-34a-5p'nin 2 kür sonrası (2AC) ortalama kat değişimi 0,86 iken, 4 kür kemoterapi sonrası (4AC) ortalama kat değişimi ise 0,98 olarak hesaplanmıştır (Şekil 2).



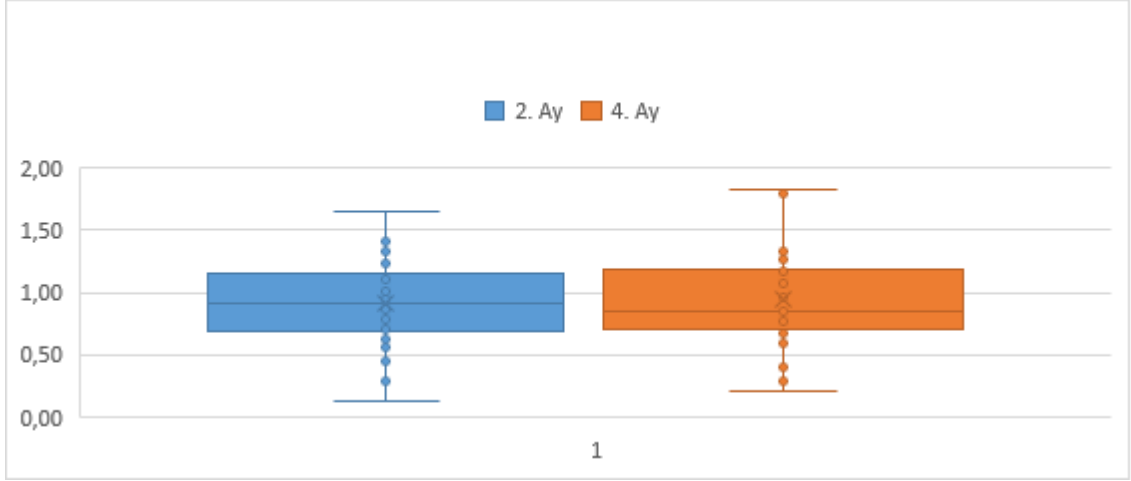
Şekil 2. Hastaların miRNA-34a-5p ekspresyonlarının 2AC ve 4AC ortalama KD.

miRNA-126-3p: Hastaların tedavi öncesi ile 2 kür kemoterapi sonrası ortalama kat değişimleri incelendiğinde başlangıca göre miRNA-126-3p 'nin 2AC ortalama kat değişimi 1,22 iken, 4AC ortalama kat değişimi ise 1 olarak hesaplanmıştır (Şekil 3).



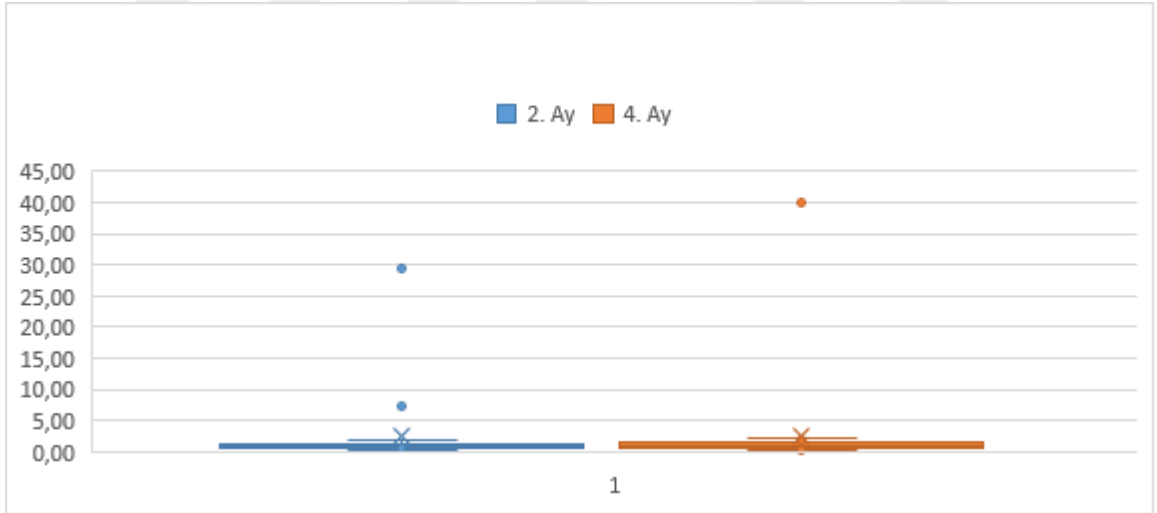
Şekil 3. Hastaların miRNA-126-3p ekspresyonlarının 2AC ve 4AC ortalama KD.

miRNA-133-b: Hastaların tedavi öncesi ile 2 kür KT sonrası ortalama kat değişimlerine göre başlangıca göre miRNA-133-b'nin 2AC ortalama kat değişimi 0,91 iken, 4AC ortalama kat değişimi ise 0,94 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4).



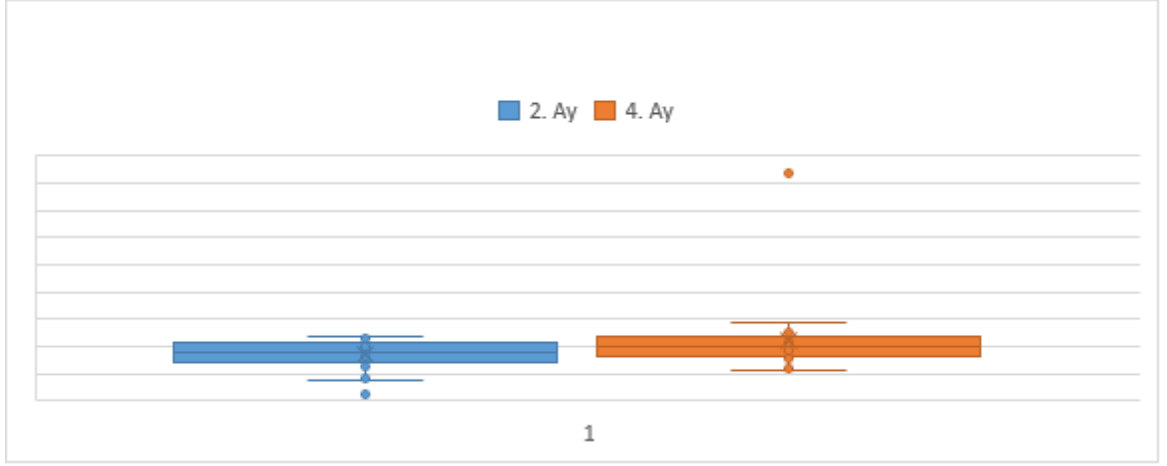
Şekil 4. Hastaların miRNA-133-b ekspresyonlarının 2AC ve 4AC ortalama KD.

miRNA-199a-3p: Hastaların tedavi öncesi ile 2 kür kemoterapi sonrası ortalama KD incelendiğinde başlangıca göre miRNA-199a-3p'nin 2AC ortalama kat değişimi 2,46 iken, 4AC ortalama kat değişimi ise 2,49 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5).



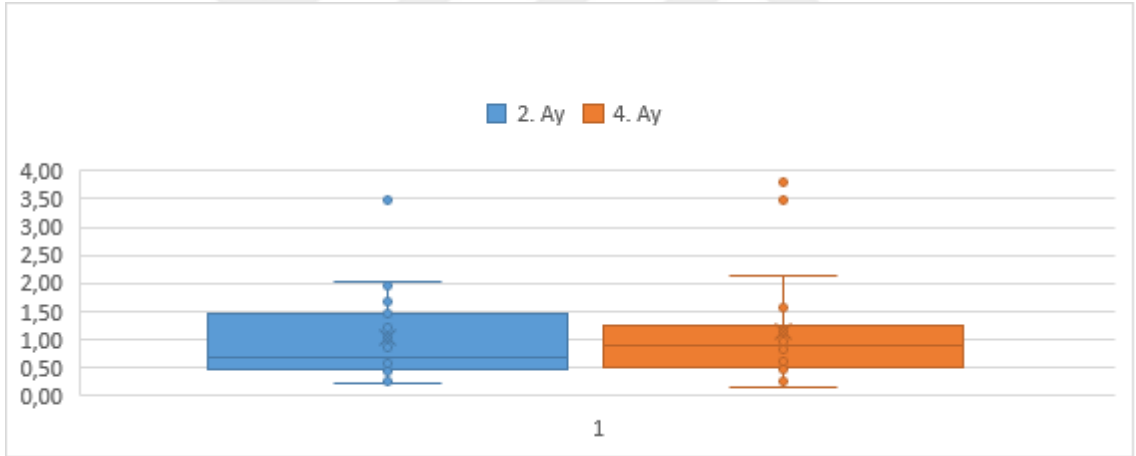
Şekil 5. Hastaların miRNA199a3p ekspresyonlarının 2AC ve 4AC ortalama KD.

miRNA-29b-1-5p: Hastaların tedavi öncesi ile 2 kür kemoterapi sonrası ortalama kat değişimleri incelendiğinde başlangıca göre miRNA-29b-1-5p 'nin 2AC ortalama kat değişimi 0,85 iken ($p=0,008$), 4AC ortalama kat değişimi ise 1,11 olarak hesaplanmıştır (Şekil 6).



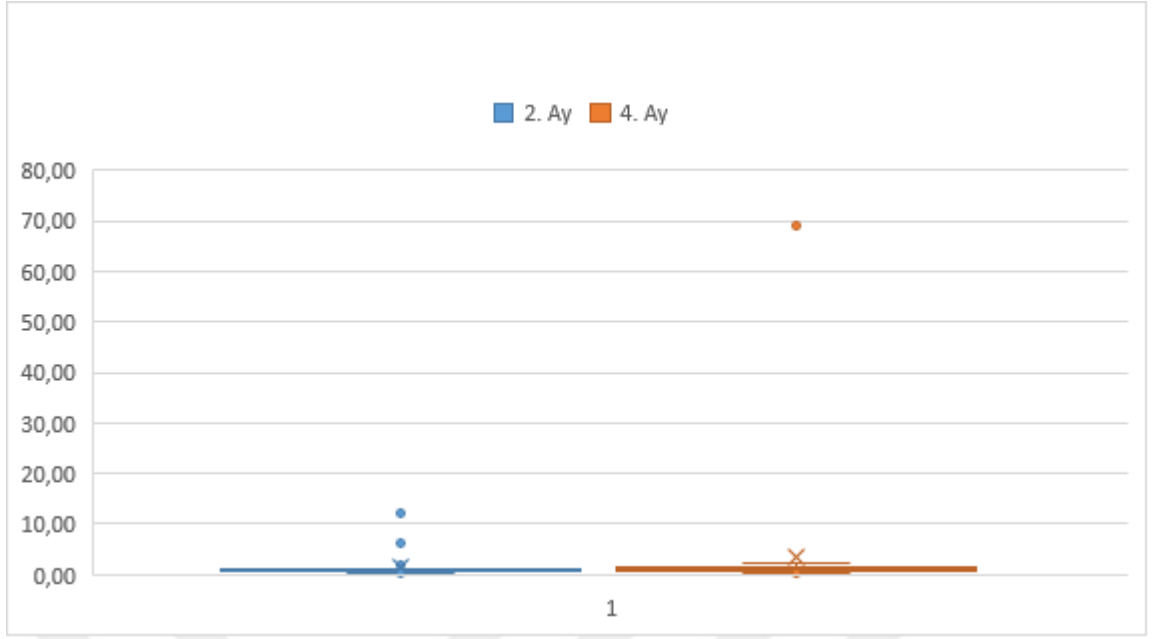
Şekil 6. Hastaların miRNA-29b-1-5p ekspresyonunun 2AC ve 4AC ortalama KD

miRNA 423-5p: miRNA 423-5p'nin 2AC ortalama kat değişimi 1,02 iken, 4AC ortalama kat değişimi ise 1,14 olarak hesaplanmıştır (Şekil 7).



Şekil 7. Hastaların miRNA-423-5p ekspresyonlarının 2AC ve 4AC ortalama KD

miRNA-4638-3p: Hastaların tedavi öncesi ile 2AC ortalama kat değişimleri incelendiğinde başlangıca göre miRNA-4638-3p'nin 2AC ortalama kat değişimi 1,43 iken, 4AC ortalama kat değişimi ise 3,57 olarak hesaplanmıştır (Şekil 8).



Şekil 8. Hastaların miRNA-4638-3p ekspresyonunun 2AC ve 4AC ortalama KD

Hastaların 2AC miRNA kat artışları ile 2AC diğer parametrelerin aralarındaki ilişki incelendi. Her bir miRNA için yapılan BNP, BNP kat artışı, troponin, troponin kat artışı, EF, EF kat artışı, TAPSE, TAPSE kat artışı parametrelerinin aralarında anlamlı bir ilişki bulunamadı (Tablo 21).

Tablo 21. Hastaların 2AC miRNA kat artışları ile diğer 2AC parametrelerin korelasyonu.

MiRNA kat değişimleri		BNP 2 AC	BNP 2AC KD	Tn- 2AC	Tn- 2AC KD	EF (%) 2AC	EF 2AC KD	2AC TAPSE (cm)	2AC KD TAPSE (cm)
miRNA-1 KD 2AC	r	-0,094	-0,105	0,115	-0,164	0,011	0,269	0,178	0,147
	p	0,642	0,602	0,567	0,415	0,957	0,175	0,374	0,466
miRNA-34a-5p KD 2AC	r	-0,055	0,084	-0,057	-0,209	0,081	-0,075	0,011	-0,007
	p	0,787	0,678	0,778	0,296	0,690	0,708	0,955	0,970
miRNA-126-3p KD 2AC	r	-0,094	-0,131	0,040	-0,132	-0,008	0,048	0,048	0,004
	p	0,640	0,515	0,843	0,513	0,969	0,811	0,813	0,984
miRNA-133b KD 2AC	r	-0,121	-0,010	-0,204	-0,204	-0,050	-0,028	0,092	0,096
	p	0,549	0,961	0,309	0,308	0,804	0,891	0,648	0,635
miRNA-199a-3p KD 2AC	r	-0,112	-0,095	0,007	-0,223	-0,028	0,223	0,103	0,109
	p	0,578	0,638	0,971	0,265	0,891	0,263	0,610	0,587
miRNA-29b-1- 5p KD 2.Ay	r	-0,291	-0,161	0,007	0,131	-0,066	0,001	-0,111	-0,027
	p	0,142	0,422	0,972	0,514	0,743	0,996	0,580	0,895
miRNA-423-5p KD 2AC	r	-0,071	-0,109	0,087	-0,070	-0,001	0,171	0,076	0,081
	p	0,725	0,589	0,666	0,729	0,995	0,394	0,708	0,688
miRNA-4638-3p KD 2AC	r	-0,054	-0,106	0,120	-0,086	0,057	0,176	0,109	0,051
	p	0,788	0,600	0,550	0,670	0,778	0,379	0,589	0,799

Hastaların 4AC miRNA kat artışları ile diğer 4AC parametrelerin korelasyonu ayrı olarak incelendiğinde ise farklı bulgular elde edildi (Tablo 22). Hastaların miRNA-1'in 4AC kat değişimi ile EF'nin 4AC kat değişimi arasında orta şiddette pozitif bir ilişki tespit edildi ($p = 0,005$, $r = 0,52$).

miRNA-199a-3p için yapılan korelasyon analizinden elde edilen veriye göre miRNA-199a-3p'nin 4AC kat değişimi ile EF'nin 4AC kat değişimi arasında orta derecede pozitif bir korelasyon mevcuttur ($p = 0,011$, $r = 0,48$).

Diğer bir miRNA olarak, miRNA-423-5p için yapılan korelasyon analizinden elde edilen veriye göre miRNA-423-5p'nin 4AC kat değişimi ile EF'nin 4AC kat değişimi arasında orta derecede pozitif bir korelasyon mevcuttur ($p = 0,017$, $r = 0,46$). Diğer korelasyon analizlerinde ise, dahil edilen TAPSE ve

TAPSE kat artışları, troponin ve kat artışları, BNP ve kat artışlarının dahil olduğu korelasyonlarda anlamlı bir ilişki bulunamadı (Tablo 22).

Tablo 22. Hastaların 4AC miRNA kat artışları ile diğer 4AC parametrelerin korelasyonu.

MiRNA kat değişimleri		BNP 4 AC	BNP 4AC KD	Tn- 4AC	Tn- 4AC KD	EF (%) 4AC	EF 4AC KD	4AC TAPSE (cm)	4AC- KD TAPE (cm)
miRNA-1 KD 4AC	r	-0,105	-0,096	0,233	-0,089	0,332	0,522*	-0,015	0,017
	p	0,603	0,635	0,243	0,658	0,091	0,005	0,942	0,933
miRNA-34a-5p KD 4AC	r	0,135	0,062	0,119	0,169	0,202	0,060	0,091	0,138
	p	0,501	0,758	0,553	0,401	0,312	0,768	0,651	0,493
miRNA-126-3p KD 4AC	r	0,199	0,079	0,144	0,228	0,333	0,243	0,083	0,226
	p	0,318	0,694	0,474	0,253	0,090	0,222	0,680	0,256
miRNA-133b KD 4AC	r	0,255	0,151	0,082	0,080	0,076	-0,101	-0,027	0,011
	p	0,199	0,453	0,686	0,693	0,708	0,617	0,893	0,958
miRNA-199a-3p KD 4AC	r	-0,129	-0,082	0,237	-0,090	0,292	0,482*	-0,042	0,000
	p	0,520	0,686	0,234	0,657	0,140	0,011	0,836	0,999
miRNA-29b-1-5p KD 4AC	r	-0,180	-0,156	-0,196	0,018	0,016	0,007	0,137	0,167
	p	0,368	0,438	0,328	0,928	0,938	0,974	0,497	0,406
miRNA-423-5p KD 4AC	r	0,077	-0,085	-0,011	0,047	0,306	0,455*	0,213	0,184
	p	0,704	0,675	0,956	0,816	0,120	0,017	0,286	0,358
miRNA-4638-3p KD 4AC	r	-0,060	-0,006	-0,153	-0,068	0,111	-0,087	0,254	0,103
	p	0,764	0,978	0,447	0,736	0,581	0,667	0,201	0,610

Korelasyon analizinin bir diğeri ise 2AC döneminde alınan miRNA numunelerinin 4AC sonrası yapılan ölçümler ile olan ilişkisini tespit etmeye yönelikti. Hastaların bu verileriyle yapılan analizlerde daha farklı bulgular elde edildi (Tablo 23).

Hastaların 2AC miRNA-1 kat artışı ile 4AC sonrası ölçülen TAPSE değerleri arasında orta derecede negatif yönlü bir ilişki saptandı (p=0,037 r=-0,404). Hastaların 2AC miRNA-126-3p kat artışı ile 4AC sonrası ölçülen TAPSE değerleri arasında orta derecede negatif yönlü bir ilişki saptandı (p=0,008 r=-

0,496). Benzer şekilde 2AC miRNA-126-3p kat artışı ile 4AC sonrası ölçülen TAPSE kat artışı değerleri arasında orta derecede negatif yönlü bir ilişki saptandı ($p=0,011$ $r=-0,484$). Bir diğer miRNA olan, miRNA-133b'nin 2AC kat değişim değerleri ile 4AC sonrası TAPSE değerleri arasında negatif yönlü orta derecede korelasyon saptandı ($p=0,018$, $r=-0,453$). miRNA-133b'nin 2AC kat değişim değerleri ile 4AC sonrası TAPSE kat artış değerleri arasında negatif yönlü orta derecede korelasyon saptandı ($p=0,026$, $r=-0,427$). miRNA-199a-3p'nin 2AC kat değişim değerleri ile 4AC sonrası EF kat artış değerleri arasında pozitif orta derecede korelasyon saptandı ($p=0,018$, $r=-0,453$). Aynı zamanda miRNA-423-5p'nin 2AC kat değişimi ile 4AC sonrası TAPSE ölçümleri arasında negatif yönde, orta şiddette ilişki saptanmıştır ($p=0,029$ $r=-0,420$). Benzer ilişki açısından 4AC sonrası TAPSE ölçümleri ile miRNA-4638-3p 2AC kat değişimleri arasında negatif yönde ve orta derece korelasyon görüldü ($p=0,011$, $r=-0,484$). miRNA-4638-3p'nin 2AC ölçümleri ile 4AC TAPSE kat değişimi arasında da negatif orta derecede ilişki saptanmıştır ($p=0,014$, $r=-0,467$). Diğer parametrelerin ise birbiriyle olan korelasyon analizlerinde anlamlı bir sonuç görülmemiştir (Tablo 23).

Tablo 23. Hastaların 2AC miRNA kat artışları ile diğer 4AC parametrelerin korelasyonu

MiRNA kat değişimleri		BNP 4 AC	BNP 4AC KD	Tn- 4AC	Tn- 4AC KD	EF(%) 4AC	EF 4AC KD	4AC TAPSE (cm)	4AC KD TAPSE (cm)
miRNA-1 KD 2AC	r	-0,094	-0,085	0,060	-0,245	0,087	0,308	-0,404*	-0,363
	p	0,639	0,674	0,765	0,219	0,668	0,118	0,037	0,063
miRNA-34a-5p KD 2AC	r	-0,043	0,006	-0,011	-0,237	0,003	-0,118	-0,217	-0,238
	p	0,830	0,975	0,956	0,233	0,988	0,558	0,276	0,232
miRNA-126-3p KD 2AC	r	-0,052	-0,056	-0,056	-0,200	-0,069	-0,022	-0,496**	-0,484*
	p	0,795	0,783	0,781	0,318	0,734	0,913	0,008	0,011
miRNA-133b KD 2AC	r	0,003	0,057	-0,188	-0,244	-0,018	-0,017	-0,453*	-0,427*
	p	0,989	0,779	0,348	0,220	0,928	0,932	0,018	0,026
miRNA-199a-3p KD 2AC	r	-0,144	-0,099	0,187	-0,184	0,246	0,453*	-0,191	-0,152
	p	0,475	0,622	0,349	0,359	0,217	0,018	0,340	0,450
miRNA-29b-1-5p KD 2AC	r	0,003	0,166	0,051	0,147	-0,117	-0,069	-0,296	-0,238
	p	0,987	0,407	0,800	0,465	0,562	0,732	0,134	0,232
miRNA-423-5p KD 2AC	r	-0,086	-0,127	-0,121	-0,155	-0,083	0,059	-0,420*	-0,374
	p	0,670	0,527	0,548	0,441	0,679	0,772	0,029	0,054
miRNA-4638-3p KD 2AC	r	-0,035	-0,059	-0,074	-0,208	-0,102	0,014	-0,484*	-0,467*
	p	0,862	0,769	0,714	0,297	0,614	0,946	0,011	0,014

TARTIŞMA

Kanser hastalığı dünya genelinde büyük bir halk sağlığı problemi olarak görülmektedir. Meme kanseri ise tüm kanserler içerisinde büyük bir paya ve öneme sahiptir^{19, 21}. Erken tanı, yeni tedavi seçenekleri ve farklı ilaç kombinasyonları sayesinde kanser tedavisinde artık daha yüz güldürücü sonuçlar elde edilmektedir. Tam kür sağlanan hastaların sayısının artmasıyla beraber, modern tıp için yaşam kalitesi daha büyük önem arz etmeye başladı^{6, 19}.

Kanser hastaları için kardiyovasküler mortalite oranları hala ölüm sebepleri içerisinde üst sıralarda yer almaktadır. Tam kür sağlamış kanser hastalarının kardiyovasküler ölüm riski, kanserin kendisinin nüks etmesinden doğacak riskten daha fazladır. Kanser hastalarının genel popülasyondan 10 kat daha fazla mortalite riskine sahip oldukları bilinmektedir, KKY riski ise normalden 15 kat daha fazladır. Ayrıca koroner arter hastalığı riskinin de daha fazla olduğu aşikardır^{139, 140}.

Meme kanseri, dünya çapında kadınlarda en sık tespit edilen kanser türü olmakla beraber, genellikle potent bir kemoterapötik ilaç olan doksorubisin ile tedavi edilmektedir. Bu başarılı ilacın kür sağlama konusundaki etkinliği ve pro-apoptotik etkisi ne yazık ki sadece kanser hücrelerine spesifik değildir. İşte bu yüzden ki, bu güçlü etki kanser olmayan hücrelere ve doğal olarak kardiyomyositlere de yansımaktadır. Bu toksisite onkolojik prognozdan ayrı olarak kemoterapi ilaçlarının hastalara etkin bir şekilde verilmesini de tehlikeye sokabilir ve hastanın hayatta kalma süresini, yaşam kalitesini etkileyebilir. Kronik doksorubisin kullanımı progresif bir şekilde kardiyomyopati ve kalp yetmezliği gelişmesine sebep olur. Hatta bu yan etkinin tedavi bitiminden 20 yıl sonraya kadar görülmesi mümkündür^{21, 152}. Tüm bu istenmeyen yan etkiler uzun zamandan beri bilinmektedir fakat elimizdeki imkanlarla, doksorubisinin indüklediği uzun dönem kardiyotoksisiteyi önleyebilmek, riski azaltabilmek, riski zamanında değerlendirebilmek için erken tanı koymak hala çok zordur²¹. Güncel bilgiler ışığında, ilaca bağlı kardiyotoksisite, klinik olarak ejeksiyon fraksiyonunun ölçülmesi ve düzenli olarak değerlendirilmesi ile belirlenmektedir. Fakat hastalarda kardiyak hasar tespit edildiğinde, önleyici tedaviler uygulamak için artık çok geçtir^{6, 18, 21}.

Elimizdeki klasik biyobelirteçleri incelemek gerekirse, kardiyak spesifik olan troponin I ve T, kardiyomyosit hasarından sonra kana salınır ve kemoterapi sonrası hızlıca yükselir, geç kardiyak hadiseleri öngörebilir^{19, 142}. Lakin troponinlerin salınımı, myokardiyal hücrelerin lizisi ile ilişkilidir ve bu kemoterapiye bağlı kalp hasarında başlangıç aşamasında olmayabilir. Ek olarak troponinlerin yarı ömürleri ise kısadır. Ayrıca tedavi süresince çoklu kan numunesi almayı gerektirdiği için pratikte uygulaması zordur.¹⁹

NT-proBNP ise kalp yetmezliği için klinikte iyi bir belirteç olsa da literatürde kemoterapi ilişkili kalp hasarını saptamadaki öngörü gücü ile ilgili çelişkiler mevcut ve bu testin kemoterapi ilişkili kardiyotoksisite tespitinde pozitif eşik değeri bugüne kadar net olarak belirlenememiştir^{145, 146}. Kanseri hastalarının ömrünü uzatmak ve yaşam kalitesini artırmak için, kemoterapinin sebep olduğu geri dönüşümsüz kardiyak hasarın erken tespiti, önemli bir araştırma konusudur¹⁹.

Tüm bu gerekçelerle, kolay ulaşılabilir, dolaşımdan elde edilebilen, stabil ve kardiyotoksisteyi erken saptayabilen ve bu sayede koruyucu önlemleri erkenden almamıza olanak veren bir tanısal biyobelirteç klinikte çok değerli bir yer edinebilir^{19, 140, 141}.

MikroRNA'lar son yıllarda geniş bir hastalık çeşidinde, doku ve hastalık spesifik ekspresyonları, vücut sıvılarındaki stabilitesi sayesinde, potansiyel bir aday biyobelirteç olarak dikkatleri çekmiştir²¹. Ayrıca birçok ilaç yan etki çalışmasında da miRNA'lar denenmiştir^{22, 136}.

Bu veriler ışığında bizler de mortalite nedenleri içinde yıllar ilerledikçe daha da büyük yer kaplayan, kanser ve kalp hastalıkları konusunda multidisipliner bir araştırmayı başlattık. Çalışmamızda klasik kardiyak biyobelirteçler ve miRNA düzeylerinin ölçümü ile kardiyotoksitenin erken belirlenmesinde yenilikçi arayışlar içine girdik.

Araştırmanın en kritik sorusu hastaların aldıkları doksorubisin dozu ve süresidir. Çalışmamızda hastaların aldığı 2AC sonrası adriamisin (doksorubisin) dozu ortalama olarak $119,24 \pm 2,069$ mg/m² iken 4AC sonunda verilen doz ortalaması ise $238,26 \pm 4,58$ m/m² dir ($p < 0,001$). Bu dozlar bazı kaynaklara göre kardiyotoksiste sınır dozunun altında gibi gözükmemektedir. Fakat birçok araştırma göstermiştir ki antrasiklin kardiyotoksitesi için kümülatif doz, tek risk faktörü değildir. Her doz için kardiyotoksiste riski mevcuttur ve çalışmamızda da

görüldüğü üzere farklı kişisel özellikler, genetik yatkınlık ve birçok faktör bu seyri etkilemektedir^{6, 10}. Dolayısıyla çalışmamız çok yüksek doz adriamisin verilen çalışmalardan farklı olarak, kardiyotoksisite açısından tespiti erken aşamada daha zor bir grup hasta ile yapılmaktadır. Çalışmamızdan edindiğimiz bulgular bize birçok konuda yorum şansı verdi.

Hastaların başlangıç aşamasına göre açlık kan şekeri ölçümlerinin zamanla artması anlamlı bulunmuştur. Açlık kan şekeriindeki bozulma, kardiyovasküler açıdan risk oluşturmaktadır. Bu bozulmanın kemoterapi süresince hastaların uygulamış oldukları beslenme alışkanlıkları ile ilişkili mi yoksa metabolik değişikliklerin sonucu mu olduğu konusunda daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır¹⁹.

Çalışmaya dahil olan hastaların Hgb, lökosit, nötrofil, lenfosit ve platelet değerlerindeki anlamlı düşüş kemoterapinin beklenen yan etkilerinin hematolojik sistemde de meydana geldiğinin objektif bir göstergesi olarak karşımıza çıkmıştır. Zamanla hastaların kreatinin değerlerindeki düşüş, özellikle bu düşüşün ilk 2 kür sonrası belirgin olması bizlere, onkoloji hastalarının sık rastladığı kas kaybı sorununa işaret ediyor olabilir. Konumuzla ilişkili olarak ilaçların toksisitesini minimize etmek için, kemoterapi dozlarının hesaplanması konusunda kas kitlesinin de göz önüne alınması gerektiği ile ilgili çalışmaların yaygınlaştığı da aşıkardır¹⁵³.

Biyokimyasal ölçümlerden AST, CK, CRP, LDH ve tümör belirteçleri, kemoterapi verilen süre boyunca değişim yaşamış olsalar da zamana bağlı değişimler anlamlı bulunmamıştır. Özellikle LDH, CK, CK-MB, AST değerlerinde zamanla artış görülmüş lakin istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ayrıca elde ettiğimiz bulgular bize gösterdi ki, CK-MB, myoglobin, troponin ve NT-proBNP kalp hastalıkları için gerçekten hala önemli belirteçlerdir. Bizim çalışmamızdan elde edilen bulgulara göre bu biyobelirteçlerdeki değişim dikkat çekicidir.

CK-MB parametresinin kemoterapi süresince arttığı görülmektedir. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen klinik olarak kardiyotoksisite için potansiyel bir anlam ifade etmektedir. Benzer şekilde LDH, CK, AST gibi kalp hasarıyla ilişkili olabilecek, genel kas hasarı belirteçleri de zamanla yükselmiştir. Bize göre bu yükselişin istatistiksel olarak anlamsız çıkmasının diğer bir sebebi ise çalışmamızda numunelerin KT uygulamasından

14 gün sonra alınmış olması ve bu belirteçlerin yarı ömrünün kısa, kas kitlesi, spor ve egzersiz gibi başka birçok faktörden de etkilenebiliyor olmasıdır¹⁵⁴. Benzer şekilde ölçümlerde myoglobin parametresi için kemoterapi alınan zamana bağlı, ortalama değerlerde kürler uygulandıktan sonraki değişimin anlamlı olmadığı görülmektedir, yine aynı nedenle bu parametrenin yarı ömründen ve non spesifik olmasından dolayı beklenen şekilde isteneni vermemesi gayet doğaldır. Yapılan korelasyon analizlerine göre, tedavi öncesi BNP ve myoglobin arasında, CK ile myoglobin arasında, CK-MB ile myoglobin arasında pozitif ilişki saptanmıştır ($p<0,001$, $r=0,59$). Tüm bunlar bize gösteriyor ki kardiyak parametrelerin henüz başlangıç aşamasında dahi birbiriyle benzer ilişkileri, kardiyak belirteçlerin bir bütün olarak değerlendirilmesi gerektiğini bizlere vurgulamaktadır.

NT-proBNP sonuçları incelendiğinde başlangıca göre artış gözlenmektedir, bu artışın anlamlı çıkmaması örneklem grubunun yeteri kadar geniş olmaması ve belli bir eşik değer baz alınmamasına bağlı olduğu düşünülebilir. Yine BNP içinde yarı ömrünün çok uzun olmaması benzer kısıtlılığa sebep olabilir^{155, 156}. Ayrıca hastalarımızın henüz kalp yetmezliği kliniğinde olmaması, numunelerin henüz ilk 6 ay içerisinde alınmasından dolayı, KY kliniği oluşması için takip dönemlerimizin erken olduğu düşünüldüğünde, BNP değerlerinde artış olmasına rağmen bunun istatistiksel olarak anlamlı çıkmaması, literatürdeki BNP ile ilgili çelişkili yorumları da destekler niteliktedir¹⁹.

Hastaların troponin-I değerlerinin kemoterapi süresince 2AC sonrası ve 4AC sonrası ölçümlerde troponin parametresi için zamana bağlı olarak artış olduğu görülmektedir ($p<0,001$). Benzer şekilde birçok çalışmada troponin artışı gözlenmiş olması elde ettiğimiz verileri destekler niteliktedir. Fréres ve arkadaşlarına ait benzer dizayn edilmiş bir çalışmada hastalarda yine troponin artışı gözlenmiştir. Fréres ve arkadaşları, neoadjuvan kemoterapi verilen 45 hastayı çalışmalarına dahil etmişlerdir. Çalışmaya alınan tüm hastaların henüz cerrahi geçirmemiş olması çalışmanın en olumlu yönlerinden biri olsa da, antrasiklin olarak epirubisin verilmiş olması, takip süresince hastaların paklitaksel ve 17'sinin ise trastuzumab veya lapatinib almış olması bize göre çalışmanın antrasiklin sonrası homojenliğinin bozulmasına sebebiyet vermiştir. Lakin elde ettikleri bulgulara göre 2 kür antrasiklin sonrası yapılan ölçümlerde

hastaların %42'sinin troponin değerleri 1,3 kat, cerrahi öncesi %73 hastanın troponin değeri 2 kat, cerrahiden 3 ay sonra ise %47 hastanın troponin değeri 1,2 kat arttığı görülmüştür^{18, 19}.

Araştırmamızda yer alan hastaların SoVEF değerlerinin tedavi başlanmadan önceki ortalaması $60,31 \pm 3,11$, 2AC sonrası ölçülen SoVEF değerlerinin ortalaması $59,02 \pm 3,18$, hastaların 4AC ardından ölçülen SoVEF değerlerinin ortalaması $55,79 \pm 4,92$ şeklindedir. SoVEF parametresinin tedavi uygulama zamanına bağlı olarak aşağı yönde anlamlı bir değişim gösterdiği görülmektedir ($p < 0,001$). Özellikle 4AC sonrası ölçümde EF düşüşünün daha net bir şekilde oturduğu bizler için beklenen bir bulgudur. Tüm hastalarımızın aynı merkezde yapılan EKO sonuçlarına göre EF düşüş ortalamasının özellikle 4.kür sonrası anlamlı çıkması hasta grubumuzun kardiyotoksisite çalışması için uygun bir örneklem oluşturduğunu göstermektedir. Benzer çalışmalarda hastalar EF düşüşü yaşayanlar ve yaşamayanlar şeklinde 2 farklı gruba ayrılıp analizler yapıldığı görülmektedir. Vagner ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada çalışmaya dahil olan 56 hastanın 10 tanesi kardiyotoksisite gelişip EF düşenler ve 46 hasta ise kardiyotoksisite gelişmeyenler şeklinde ikiye ayrılmış ve analiz ve değerlendirmeler buna göre yapılmıştır^{18, 19}. Lakin bildiğimiz üzere EF düşüşünün tespit edilmesi doksorubisin kardiyotoksisitesi için her zaman erken aşamada mümkün olmamaktadır. Takiplerinin ilk yıllarında EF düşüşü yaşamayanların da yıllar içinde KY kliniği ile karşımıza çıkabileceği bilinmektedir. Dolayısıyla doksorubisin kardiyotoksisitesi kümülatif doz ve zamanla ilişkili olarak artmaktadır. Ayrıca EF ölçümü sistolik fonksiyonun bir göstergesi olsa da bilindiği üzere antrasiklin kardiyotoksisitesinin ilk öncül bulguları diyastolik yetmezlik ile kendini göstermektedir⁶. Çalışmamızda ESV ölçümlerinin 4 kür sonunda anlamlı şekilde arttığı, TAPSE ölçümlerinin ise düştüğü ($p < 0,001$) gözlenmiştir. İstatistiksel olarak anlamsız sonuçlanmış olsa da EDV parametresi de zamanla artmıştır ($p = 0,844$). Yine EKO verileriyle elde edilen bulgular bize IVRZ parametresinin gittikçe düştüğünü gösterdi ($p = 0,02$). Bu parametrelerdeki değişim ise hastalarda erken diyastolik yetmezliğin öncül bulgularının başladığını göstermektedir. Benzer çalışmalarda sadece EF ölçümü ile yetinilmesi kardiyotoksisite tespitinin sistolik fonksiyonlar baz alınarak yapılması kısıtlayıcı ve yanıltıcıdır^{18, 19, 21}. Çalışmamızın en önemli avantajlarından biri de hastaların detaylı EKO verilerinin de analizlere dahil

edilmiş olmasıdır. Lakin çalışmamızda anlamlı çıkmasını umduğumuz EKO parametreleri olarak elde edilen sırasıyla, mitral akım üzerinden diyastolik erken doluş pik velositesi (E), mitral kapak lateral yaprakçığı üzerinden doku doppler (E') ve E/E', LA volüm, triküspit kapak S velositesi, Sağ ventrikül diyastol çapı, deselerasyon süresi gibi parametrelerin ortalama değerleri tedavi öncesi, 2AC ve 4AC ölçümlerinde oluşan farklılık anlamlı çıkmamıştır. Çalışma grubumuzun küçüklüğü, farklı özelliklerdeki hastalardan oluşması ve EKO ölçümlerinin kişiye bağımlı olması temel kısıtlayıcılar olarak karşımıza çıkmaktadır.

Kalp hızının artışı ile ilgili de literatürde kardiyotoksiste öncülü olduğuna dair yayınlar mevcuttur¹⁵⁷. Bizim çalışmamızda da kalp hızında zamanla artış görülmüştür ($p<0,001$). EKG ile kalp hızı ölçümünün basit, ucuz, kolay ulaşılabilir ve tekrarlanabilir olması, klinik pratikte ardışık EKG çekiminin de bizlere hasta takibinde yol gösterebileceğini göstermektedir. EKG'de ölçülen QT süresi açısından ise çalışmamızda anlamlı bir fark bulunamamıştır.

2 kür alan hastaların troponin değerleri ile BNP değerleri arasında zayıf da olsa pozitif bir korelasyon tespit edildi ($p=0,009$, $r=0,37$). Dahası CK ile CK-MB'nin, CK ve CK-MB ile myoglobinin, CK-MB'nin myoglobin ve kalp hızı ile, ESV'nin CK-MB ve myoglobin ile CK artışıyla LA volüm arasında pozitif korelasyon görüldü. LA volümünün artışı, sol atrium dilatasyonun göstergesi olması, ESV artışının dilate kardiyomyopatinin göstergesi olması ve kardiyak belirteçlerin birbiriyle olan anlamlı korelasyonları kardiyak takiplerde bütüncül değerlendirmenin önemini bize göstermektedir¹⁵⁸. Benzer şekilde Kalp hızı artışı ile IVRZ arasındaki zayıf da olsa negatif korelasyon varlığı, bir erken bulguya işaret ediyor olabilir. IVRZ düşüşünün diyastolik yetmezlikte evrelemede kullanıldığı düşünüldüğünde bu ilişki klinik önem arz edebilir^{159, 160}.

4 kür sonraki ölçümlere yapılan korelasyon bulgularında farklı olarak önemli bir kardiyak belirteç olan BNP ve QTc ölçümleri arasında, pozitif korelasyon saptanmıştı. BNP ile sağ ventrikül diyastol çapı arasında zayıf da olsa, pozitif korelasyon saptandı ($p=0,016$, $r=0,35$). Sağ ventrikül diyastol çapının artışı yine sağ ventrikül dilatasyon bulgusu olduğu düşünüldüğünde, BNP'nin zayıf da olsa kardiyotoksistide bir belirteç görevini göstermektedir.

Kalp hızı ile EF arasında zayıf derecede negatif korelasyon görülmesi sistolik yetmezlik için kalp hızının bir potansiyel gösterge olma ihtimalini yine vurguluyor ($p=0,026$, $r=-0,32$). EF ölçümleri ile ESV arasında negatif ilişki, yine

EF ölçümleri ile TAPSE ve IVRZ arasında pozitif ilişki gözlenmesi ise diyastolik fonksiyonla beraber zaman ile sistolik fonksiyonun da bozulmaya başladığını göstermektedir. EDV ölçümleri ile ESV arasında, EDV ölçümleri ile LA volüm ve sağ ventrikül diyastol çapı arasında pozitif ilişki gözlenmesi sol atrial dilatasyon ile dilate kardiyomyopatinin zaman ile birbirleriyle korele seyrettiğinin göstergesi olarak yorumlanabilir.

Birçok çalışmada miRNA analizleri rölatif kat artışı üzerinden yapılmaktadır^{18, 19, 21}. Çalışmamızda hastaların 2AC ve 4AC zamanlarında alınan kanlarından elde edilen miRNA ekspresyon kat artışları ortalaması arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır. Hastalardan çalışılan miRNA-1, miRNA-126-3p, miRNA-34a-5p, miRNA-133-b, miRNA-199a-3p miRNA-29b-1-5p, miRNA 423-5p, miRNA-4638-3p sonuçlarından elde edilen bulgulara göre her bir miRNA için ortalama kat artışı 1'den büyük olanlar başlangıca göre artmış ve 1'den küçük olanlar azalmış diye ayrı bir değerlendirme yapılabilir.

miRNA-1'in 2 kür sonra, KD 1,52 iken, 4 kür sonrası KD ise 1,41 olarak arttığı görülmüştür. miRNA-126-3p 'nin 2 kür sonra KD 1,22 iken, 4 kür sonrası KD ise 1 olarak hesaplanmıştır. miRNA-199a-3p'nin 2 kür sonrası KD 2,46 iken, 4 kür sonrası KD ise 2,49 olarak hesaplanmıştır, miRNA 423-5p'nin 2 kür sonrası ortalama KD 1,02 iken, 4 kür ardından KD ise 1,14 olarak hesaplanmıştır, miRNA-4638-3p'nin 2 kür sonrası KD 1,43 iken, 4 kür ardından KD ise 3,57 olarak hesaplanmıştır. miRNA-34a-5p 'nin 2 kür KD 0,86 iken, 4 kür ardından KD ise 0,98 olarak hesaplanmıştır. miRNA-133-b'nin 2 kür KD 0,91 iken, 4 kür KD ise 0,94 olarak hesaplanmıştır. miRNA-29b-1-5p'nin 2 kür KD 0,85, 4 kür KD sonrasında KD ise 1,11 olarak hesaplanmıştır.

Kat artışlarının 1'in üzerinde olması gen ekspresyon artışının, 1'in altında olması ise azalışının göstergesi olarak yorumlanabilir. Birçok çalışmada bizlerin de çalışmasında değerlendirilen miRNA'lar çalışılmıştır^{18, 19, 21}. Bizim çalışmamızda bu artış tüm hastalarımız topluca değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamsız sonuçlanmıştır. Ancak ortalama kat artışına tüm hastalarımızı dahil etmiş olmamız, hasta sayımızın kısıtlı olması, numunelerin hastalardan ilaç uygulamasından 14 gün sonra alınmış olması gibi faktörler de kat artışını benzer yayınlardaki kadar belirginleştirmemiş olabilir. Kat artışları tüm hastalar beraber değerlendirildiğinde anlamsız bir kat artışı tespit etmiş olsak da, literatürdeki verilerle birçok açıdan benzer sonuçlar da mevcuttur^{18, 19, 21}. Diğer

yandan benzer dizayn edilmiş araştırmalarda hasta sonuçları değerlendirilirken kat artışı hesaplamaları içine, belli bir değerin üstünde olanların ortalaması alındığı veya hastalar kendi içlerinde troponin yükselişine veya EF düşüşüne göre ikiye bölünerek analizler yapıldığı görülmüştür¹⁸. Biz ise hastalarımızın kat artış oranlarını hesaplarken tüm hastaları dahil ederek analizler yaptık. Bu konuyla ilgili en doğru yaklaşımın saptanabilmesi için daha geniş hasta gruplarıyla ve antrasiklin ilişkili kardiyotoksisite gelişen hastaların, KY kliniği açısından kesinlik kazanacak kadar uzun süre takip edilmesi gerekmektedir.

Araştırmamızın bu kısmında diğer çalışmalardan farklı olarak 2AC, 4AC dönemlerindeki önemli parametrelerin ve bu parametrelerin kat artışları oranı belirlenerek birbirleriyle olan ilişkisi incelendi, sonuç olarak ilginç sonuçlara eriştik. Hastaların 2AC miRNA kat artışları ile 2AC diğer parametrelerin aralarındaki ilişki incelenmişti. Her bir miRNA için yapılan BNP, BNP kat artışı, troponin, troponin kat artışı, EF, EF kat artışı, TAPSE, TAPSE kat artışı parametrelerinin aralarında anlamlı bir ilişki bulunamadı. Hastalara sadece 2 kür KT verildikten sonra kardiyotoksisiteyi, 2AC dönemindeki sahip olduğumuz diğer parametrelerle belirleyebilmek o aşamada zaten pek beklenen bir sonuç değildi.

Hastaların 4AC miRNA kat artışları ile diğer 4AC parametrelerinin korelasyonu ayrı olarak incelendiğinde ise farklı bulgular elde edildi. Hastaların miRNA-1'in 4AC kat değişimi ile EF'nin 4AC kat değişimi arasında orta şiddette pozitif bir ilişki tespit edildi ($p=0,005$, $r=0,52$). Bu bağlamda birçok yayında bahsi geçen miRNA-1'in aday biyobelirteç olması ihtimali bizim çalışmamızda da gösterilmiştir²¹. Yine miRNA-199a-3p için yapılan korelasyon analizinden elde edilen veriye göre miRNA-199a-3p'nin 4AC kat değişimi ile EF'nin 4AC kat değişimi arasında orta derecede pozitif bir korelasyon mevcuttu ($p=0,011$, $r=0,48$). Bu bulgular eşliğinde miRNA-199-3p'nin literatürde de çokça geçtiği üzere potansiyel bir belirteç aday olabileceğini düşünmekteyiz¹⁹. Diğer bir miRNA olarak, miRNA-423-5p için yapılan korelasyon analizinden elde edilen veriye göre miRNA-423-5p'nin 4AC kat değişimi ile EF'nin 4AC kat değişimi arasında orta derecede pozitif ilişki görüldü. MiRNA-423-5p'de benzer şekilde araştırılıp bu konuda yapılan araştırmalarda aday olarak öne çıkmaktadırlar^{19, 21}. Bu üç miRNA ve EF arası saptanan ilişkiler, kardiyak ölçümleri ile kan

örneklerinin eş zamanlı yapılmış olması nedeniyle kıymetlidir. Zira klinik olarak pratikte uygulanabilirlik açısından önem arz etmektedir.

Çalışmamızın bu aşamasının amacı ise 2AC döneminde alınan miRNA numunelerinin 4AC sonrası yapılan kan ve EKO ölçümleri ile olan ilişkisini tespit etmeye yöneliktir. Hastaların bu verileriyle yapılan analizlerde önceki çalışmalardan daha farklı olarak miRNA'ların daha ileri aşamada gerçekleşecek kardiyak bulguları öngörü gücünü gösterme şansı yakaladığımıza inanmaktayız.

Hastaların 2AC miRNA-1 kat artışı ile 4AC sonrası ölçülen TAPSE değerleri arasında orta derecede negatif yönlü bir ilişki saptanmıştı. TAPSE ölçümlerinin düşmesi kardiyak disfonksiyon açısından anlamlı olduğundan, miRNA-1 yine kardiyak bir belirteç adayı olarak erken bir belirteç adayı olabilir. Hastaların 2AC miRNA-126-3p kat artışı ile 4AC sonrası ölçülen TAPSE değerleri arasında orta derecede negatif yönlü bir ilişki tespit etmiştik. Yine benzer nedenlerle miRNA-126-3p, kardiyak fonksiyonlardaki bozulmanın erken habercisi olmaya adaydır. Ayrıca 2AC miRNA-126-3p kat artışı ile 4AC sonrası ölçülen TAPSE kat artışı değerleri arasında da negatif yönlü bir ilişki saptanması bir önceki tespitimizi destekler niteliktedir. Bir başka miRNA çeşidi olan, miRNA-133b'nin 2AC kat değişim değerleri ile 4AC sonrası TAPSE değerleri arasında negatif, orta derecede korelasyon görmüştük. miRNA-133b'nin 2AC kat değişim değerleri ile 4AC sonrası TAPSE kat artış değerleri arasında orta derecede korelasyon bulmuştuk. Dolayısıyla miRNA-133b'nin de erken aşamada bir öngörü özelliğine sahip olduğunu düşünmekteyiz. miRNA-199a-3p'nin 2AC kat değişim değerleri ile 4AC sonrası EF kat artış arasında pozitif bir ilişki gözlemlendi. Buradaki direk EF ilişkisi olması açısından da ayrıca önem kazanmaktadır. MiRNA-199a-3p kendi çalışmamız içinde de belirgin bir şekilde farklı zamanlarda kardiyak bir belirteç olma özelliği barındırdığını düşünmekteyiz. Aynı gerekçelerle miRNA-423-5p'nin 2AC kat değişimi ile 4AC sonrası TAPSE ölçümleri arasında negatif yönde, orta şiddette ilişki belirlenmişti. Benzer ilişki açısından 4AC sonrası TAPSE ölçümleri ile miRNA-4638-3p 2AC kat değişimleri arasında negatif bir korelasyon bizlerin bu miRNA ile ilgili olarak ayrıca umutlandırmaktadır. miRNA-4638-3p'nin 2AC ölçümleri ile 4AC TAPSE kat değişimi arasında da negatif orta derecede ilişki belirlenmiş olması bu fikri pekiştirmektedir. Diğer parametrelerin ise birbiriyle olan korelasyon analizlerinde anlamlı bir sonuç görülmemiştir.

Değişik araştırmalarda bulunan veriler arasında yaşanan farklılıklar, numunelerin alınma zamanına, seçilmiş hasta örnekleminin özelliklerine, alınan KT miktarı ve protokolüne, eşlik eden hastalık ve KVV risk faktörlerinin derecesine, numunelerin saklanma koşulları ve genetik etkenlere göre değişiklik gösterebilir.



SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızı literatür eşliğinde değerlendirmemiz durumunda, alınan sonuçlar bizlere kanser ve kalp hastalıklarının önemini yeniden hatırlatmış, kardiyak parametrelerin henüz başlangıç aşamasında dahi birbiriyle anlamlı ilişkiler içinde olduklarını ve kemoterapi süresince, kardiyak belirteçlerin bir bütün olarak değerlendirilmesi gerektiğini göstermiştir. Özellikle tek bir biyokimyasal parametreden ziyade, EKO, EKG dahil tüm verileri akılcı bir şekilde yorumlayıp, hastanın kliniği ile beraber değerlendirilmesinin erken tanıdaki önemini açıkça gösterilmiştir.

Kardiyotoksik ajan alacak hastaların kardiyak takibi, kemoterapi öncesinde başlamalı ve kemoterapinin erken aşamasından itibaren sık aralıklarla yapılması sağlanmalıdır. Hastaların EKO görüntülemeleri ve yorumları, sadece sistolik fonksiyonlar açısından değil, erken diyastolik fonksiyonlar yönünden de standart olarak değerlendirilmeli ve bu konuya onkoloji ve kardiyoloji rehberlerinde daha çok yer verilmelidir. İlgili hekimlerin dikkati bu konuya çekilmelidir. Bu hastalar multidisipliner şekilde değerlendirilmeli ve hastalara yaşam tarzı değişikliği dahil tüm tedavi seçenekleri düşünülmelidir.

Son yıllarda popüler bir şekilde birçok araştırmada kendine yer bulan miRNA'lar, geleceğin potansiyel biyobelirteçleri olmaya adaydırlar. Doksorubisine bağlı kardiyotoksistide miRNA-4638-3p, miRNA-1, miRNA-423-5p, miRNA-126-3p, miRNA-199a-3p, miRNA-133b henüz tam olarak aydınlatamadığımız mekanizmalar ile yer almaktadır. Bu miRNA'lar ve benzer potansiyel miRNA'lar konusunda daha büyük ve kapsamlı, uzun soluklu çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020. CA Cancer J Clin 2020; 70(1):7-30.
2. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. Int J Cancer 2019; 144:1941-1953.
3. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/2014_RAPOR._uzuuun.pdf. 2017. Erişim tarihi: 10.05.2020.
4. Siegel R, DeSantis C, Virgo K, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2012. CA Cancer J Clin 2012;62:220-41.
5. Ewer MS, Ewer SM. Cardiotoxicity of anticancer treatments. Nat Rev Cardiol 2015; 12:547-58.
6. Zamorano JL, Lancellotti P, Rodriguez Muñoz D, et al. 2016 ESC Position Paper on cancer treatments and cardiovascular toxicity developed under the auspices of the ESC Committee for Practice Guidelines: The Task Force for cancer treatments and cardiovascular toxicity of the European Society of Cardiology (ESC). Eur Heart J 2016; 37:2768-2801.
7. Di Marco A, Cassinelli G, Arcamone F. The discovery of daunorubicin. Cancer Treat Rep 1981; 65 Suppl 4:3-8.
8. Felker GM, Thompson RE, Hare JM, et al. Underlying causes and long-term survival in patients with initially unexplained cardiomyopathy. N Eng J Med 2000; 342:1077-84.
9. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. Lancet 2005; 365:1687-717.
10. Hershman DL, McBride RB, Eisenberger A, et al. Doxorubicin, cardiac risk factors, and cardiac toxicity in elderly patients with diffuse B-cell non-Hodgkin's lymphoma. J Clin Oncol 2008; 26:3159-65.

11. Cardinale D, Colombo A, Lamantia G, et al. Anthracycline-induced cardiomyopathy: clinical relevance and response to pharmacologic therapy. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55:213-20.
12. Cardinale D, Colombo A, Bacchiani G, et al. Early detection of anthracycline cardiotoxicity and improvement with heart failure therapy. *Circulation* 2015; 131:1981-8.
13. Eschenhagen T, Force T, Ewer MS, et al. Cardiovascular side effects of cancer therapies: a position statement from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. *Eur J Heart Fail* 2011;13: 1-10.
14. Edwardson DW, Narendrula R, Chewchuk S, et al. Role of Drug Metabolism in the Cytotoxicity and Clinical Efficacy of Anthracyclines. *Curr Drug Metab* 2015; 16:412-26.
15. Raj S, Franco VI, Lipshultz SE. Anthracycline-induced cardiotoxicity: a review of pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Curr Treat Options Cardiovasc Med* 2014; 16:315.
16. Lotrionte M, Biondi-Zoccai G, Abbate A, et al. Review and meta-analysis of incidence and clinical predictors of anthracycline cardiotoxicity. *Am J Cardiol* 2013; 112:1980-4.
17. Waggoner AD, Bierig SM. Tissue Doppler imaging: a useful echocardiographic method for the cardiac sonographer to assess systolic and diastolic ventricular function. *J Am Soc Echocardiogr* 2001; 14:1143-52.
18. Leger KJ, Leonard D, Nielson D, et al. Circulating microRNAs: Potential Markers of Cardiotoxicity in Children and Young Adults Treated With Anthracycline Chemotherapy. *Journal of the American Heart Association* 2017;6.
19. Frères P, Bouznad N, Servais L, et al. Variations of circulating cardiac biomarkers during and after anthracycline-containing chemotherapy in breast cancer patients. *BMC Cancer* 2018; 18:102.
20. Creemers EE, Tijssen AJ, Pinto YM. Circulating microRNAs: novel biomarkers and extracellular communicators in cardiovascular disease? *Circ Res* 2012; 110:483-95.
21. Rigaud VO, Ferreira LR, Ayub-Ferreira SM, et al. Circulating miR-1 as a potential biomarker of doxorubicin-induced cardiotoxicity in breast cancer patients. *Oncotarget* 2017; 8:6994-7002.

22. Koturbash I, Tolleson WH, Guo L, et al. microRNAs as pharmacogenomic biomarkers for drug efficacy and drug safety assessment. *Biomark Med* 2015; 9:1153-76.
23. Ruggeri C, Giofr  S, Achilli F, et al. Role of microRNAs in doxorubicin-induced cardiotoxicity: an overview of preclinical models and cancer patients. *Heart Fail Rev* 2018; 23:109-122.
24. Doroshow JH, Kummar S. Translational research in oncology-10 years of progress and future prospects. *Nat Rev Clin Oncol* 2014; 11:649-62.
25. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med* 2001; 344:783-92.
26. Druker BJ. Perspectives on the development of a molecularly targeted agent. *Cancer Cell*. 2002;1:31-6.
27. Bell DW. Our changing view of the genomic landscape of cancer. *The J Pathol* 2010; 220:231-43.
28. Wood LD, Parsons DW, Jones S, et al. The genomic landscapes of human breast and colorectal cancers. *Science* 2007; 318:1108-13.
29. Mokdad AH, Marks JS, Stroup DF, et al. Actual causes of death in the United States, 2000. *JAMA* 2004; 291:1238-45.
30. Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2015; 65:87-108.
31. Iwasaki M, Tsugane S. Risk factors for breast cancer: epidemiological evidence from Japanese studies. *Cancer Sci* 2011; 102:1607-14.
32. Kesson EM, Allardice GM, George WD, et al. Effects of multidisciplinary team working on breast cancer survival: retrospective, comparative, interventional cohort study of 13 722 women. *BMJ* 2012; 344:e2718.
33. Kohler BA, Sherman RL, Howlader N, et al. Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, 1975-2011, Featuring Incidence of Breast Cancer Subtypes by Race/Ethnicity, Poverty, and State. *J Natl Cancer Inst* 2015; 107:djv048.
34. de Gelder R, Heijnsdijk EA, Fracheboud J, et al. The effects of population-based mammography screening starting between age 40 and 50 in the presence of adjuvant systemic therapy. *Int J Cancer* 2015; 137:165-72.

35. Munoz D, Near AM, van Ravesteyn NT, et al. Effects of screening and systemic adjuvant therapy on ER-specific US breast cancer mortality. *J Natl Cancer Inst* 2014;106:dju289.
36. Tabár L, Dean PB, Chen TH, et al. The incidence of fatal breast cancer measures the increased effectiveness of therapy in women participating in mammography screening. *Cancer* 2019; 125:515-523.
37. Goldman L, Schafer A. *Goldman's Cecil Medicine* 24 ed. Philadelphia Elsevier/Saunders; 2012: 1310-1317.
38. Kuhl H. Breast cancer risk in the WHI study: the problem of obesity. *Maturitas* 2005; 51:83-97.
39. Kotsopoulos J, Lubinski J, Salmena L, et al. Breastfeeding and the risk of breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Breast Cancer Res* 2012; 14:R42.
40. Nagata C, Mizoue T, Tanaka K, et al. Breastfeeding and breast cancer risk: an evaluation based on a systematic review of epidemiologic evidence among the Japanese population. *Jpn J Clin Oncol* 2012; 42:124-30.
41. Pike MC, Pearce CL, Wu AH. Prevention of cancers of the breast, endometrium and ovary. *Oncogene* 2004; 23:6379-91.
42. Key TJ, Pike MC. The role of oestrogens and progestagens in the epidemiology and prevention of breast cancer. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1988; 24:29-43.
43. Breast cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data on 53 297 women with breast cancer and 100 239 women without breast cancer from 54 epidemiological studies. *Lancet* 1996;347:1713-27.
44. Grubbs DM, Hartmann LC, Cerhan JR, et al. Risk of breast cancer with oral contraceptive use in women with a family history of breast cancer. *JAMA* 2000; 284:1791-8.
45. Pharoah PD, Day NE, Duffy S, et al. Family history and the risk of breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cancer* 1997; 71:800-9.
46. Perou CM, Sørli T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000; 406:747-52.
47. Schnitt SJ. Benign breast disease and breast cancer risk: morphology and beyond. *Am J Surg Pathol* 2003; 27:836-41.

48. Boyd NF, Lockwood GA, Martin LJ, et al. Mammographic densities and breast cancer risk. *Breast Dis* 1998; 7:1133-44.
49. Hulka BS, Moorman PG. Breast cancer: hormones and other risk factors. *Maturitas* 2008; 61:203-13; discussion 213.
50. Bernstein L, Henderson BE, Hanisch R, et al. Physical exercise and reduced risk of breast cancer in young women. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86:1403-8.
51. Lahmann PH, Hoffmann K, Allen N, et al. Body size and breast cancer risk: findings from the European Prospective Investigation into Cancer And Nutrition (EPIC). *Int J Cancer* 2004; 111:762-71.
52. Lauby-Secretan B, Scoccianti C, Loomis D, et al. Body Fatness and Cancer--Viewpoint of the IARC Working Group. *N Engl J Med* 2016;375:794-8.
53. La Vecchia C, Giordano SH, Hortobagyi GN, et al. Overweight, obesity, diabetes, and risk of breast cancer: interlocking pieces of the puzzle. *Oncologist* 2011; 16:726-9.
54. Carmichael AR. Obesity as a risk factor for development and poor prognosis of breast cancer. *BJOG* 2006; 113:1160-6.
55. Gunter MJ, Hoover DR, Yu H, et al. Insulin, insulin-like growth factor-I, and risk of breast cancer in postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101:48-60.
56. Nelson HD, Zakher B, Cantor A, et al. Risk factors for breast cancer for women aged 40 to 49 years: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med* 2012; 156:635-48.
57. Schoemaker MJ, Nichols HB, Wright LB, et al. Association of Body Mass Index and Age With Subsequent Breast Cancer Risk in Premenopausal Women. *JAMA Oncol* 2018; 4:e181771.
58. Sezer H Breast cancer risk factors in Turkey: a hospital-based case-control study., Yilmaz M, Gurler H, et al. Breast cancer risk factors in Turkey: a hospital-based case-control study. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011; 12:2317-22.
59. Gaudet MM, Gapstur SM, Sun J, et al. Active smoking and breast cancer risk: original cohort data and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 2013; 105:515-25.

60. Seitz HK, Pelucchi C, Bagnardi V, et al. Epidemiology and pathophysiology of alcohol and breast cancer: Update 2012. *Alcohol* 2012; 47:204-12.
61. Smith-Warner SA, Spiegelman D, Yaun SS, et al. Alcohol and breast cancer in women: a pooled analysis of cohort studies. *JAMA* 1998; 279:535-40.
62. Terry MB, Zhang FF, Kabat G, et al. Lifetime alcohol intake and breast cancer risk. *Ann Epidemiol* 2006; 16:230-40.
63. Ahlgren M, Melbye M, Wohlfahrt J, et al. Growth patterns and the risk of breast cancer in women. *N Engl J Med* 2004; 351:1619-26.
64. Green J, Cairns BJ, Casabonne D, et al. Height and cancer incidence in the Million Women Study: prospective cohort, and meta-analysis of prospective studies of height and total cancer risk. *Lancet Oncol* 2011; 12:785-94.
65. Ritte R, Lukanova A, Tjønneland A, et al. Height, age at menarche and risk of hormone receptor-positive and -negative breast cancer: a cohort study. *Int J Cancer* 2013; 132:2619-29.
66. Zmuda JM, Cauley JA, Ljung BM, et al. Bone mass and breast cancer risk in older women: differences by stage at diagnosis. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93:930-6.
67. Qu X, Zhang X, Qin A, et al. Bone mineral density and risk of breast cancer in postmenopausal women. *Breast Cancer Res Treat* 2013; 138:261-71.
68. Travis RC, Balkwill A, Fensom GK, et al. Night Shift Work and Breast Cancer Incidence: Three Prospective Studies and Meta-analysis of Published Studies. *J Natl Cancer Inst* 2016; 108.
69. Schernhammer ES, Hankinson SE. Urinary melatonin levels and breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97:1084-7.
70. Schernhammer ES, Berrino F, Krogh V, et al. Urinary 6-sulfatoxymelatonin levels and risk of breast cancer in postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100:898-905.
71. Cassidy J, Bisset D, Spence RAJ, et al. *Oxford Onkoloji El Kitabı*. 3th ed: İstanbul Tıp Kitabevleri; 2017.
72. Esserman LJ, Shieh Y, Rutgers EJ, et al. Impact of mammographic screening on the detection of good and poor prognosis breast cancers. *Breast Cancer Res Treat* 2011; 130:725-34.

73. The palpable breast lump: information and recommendations to assist decision-making when a breast lump is detected. The Steering Committee on Clinical Practice Guidelines for the Care and Treatment of Breast Cancer. Canadian Association of Radiation Oncologists. CMAJ 1998;158 Suppl 3:S3-8.
74. Morrow M. The evaluation of common breast problems. Am Fam Physician 2000; 61:2371-8, 2385.
75. Santen RJ, Mansel R. Benign breast disorders. N Engl J Med 2005; 353:275-85.
76. Vincent T. DeVita Jr. M, Theodore S. et al. DeVita, Hellman, and Rosenberg's Cancer: Principles & Practice of Oncology. In: Vincent T. DeVita Jr (eds). 11th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins (LWW); 2018: 2261-2340.
77. Li CI, Uribe DJ, Daling JR. Clinical characteristics of different histologic types of breast cancer. Br J Cancer 2005; 93:1046-52.
78. Cheang MC, Chia SK, Voduc D, et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. J Natl Cancer Inst 2009; 101:736-50.
79. Orvieto E, Maiorano E, Bottiglieri L, et al. Clinicopathologic characteristics of invasive lobular carcinoma of the breast: results of an analysis of 530 cases from a single institution. Cancer 2008; 113:1511-20.
80. Winchester DJ, Chang HR, Graves TA, et al. A comparative analysis of lobular and ductal carcinoma of the breast: presentation, treatment, and outcomes. J Am Coll Surg 1998; 186:416-22.
81. Eliyatkin N, Yalçın E, Zengel B, et al. Molecular Classification of Breast Carcinoma: From Traditional, Old-Fashioned Way to A New Age, and A New Way. J Breast Health 2015; 11:59-66.
82. Kapp AV, Jeffrey SS, Langerød A, et al. Discovery and validation of breast cancer subtypes. BMC Genomics 2006; 7:231.
83. Cheang MC, Voduc D, Bajdik C, et al. Basal-like breast cancer defined by five biomarkers has superior prognostic value than triple-negative phenotype. Clin Cancer Res 2008; 14:1368-76.

84. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol* 2013; 24:2206-23.
85. Amin MB, Edge S, Greene F, et al. *AJCC Cancer Staging Manual*. 8th ed. Chicago: Springer; 2018.
86. McGowan JV, Chung R, Maulik A, et al. Anthracycline Chemotherapy and Cardiotoxicity. *Cardiovasc Drugs Ther* 2017; 31:63-75.
87. Polychemotherapy for early breast cancer: an overview of the randomised trials. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. *Lancet* 1998; 352:930-42.
88. Hagop M, Kantarjian M, Robert A, et al. *The MD Anderson Manual of Medical Oncology*. 3rd ed. USA: McGraw-Hill Education; 2016.
89. De Lena M, Zucali R, Viganotti G, et al. Combined chemotherapy-radiotherapy approach in locally advanced (T3b-T4) breast cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 1978; 1:53-59.
90. Green MC, Buzdar AU, Smith T, et al. Weekly paclitaxel improves pathologic complete remission in operable breast cancer when compared with paclitaxel once every 3 weeks. *J Clin Oncol* 2005; 23:5983-92.
91. Rastogi P, Anderson SJ, Bear HD, et al. Preoperative chemotherapy: updates of National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocols B-18 and B-27. *J Clin Oncol* 2008; 26:778-785.
92. Hoogstraten B, George SL, Samal B, et al. Combination chemotherapy and adriamycin in patients with advanced breast cancer. A Southwest Oncology Group study. *Cancer* 1976; 38:13-20.
93. Serrano J, Palmeira CM, Kuehl DW, et al. Cardiosensitive and cumulative oxidation of mitochondrial DNA following subchronic doxorubicin administration. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1411:201-5.
94. Kim H, Kang HJ, Park KD, et al. Risk Factor Analysis for Secondary Malignancy in Dexrazoxane-Treated Pediatric Cancer Patients. *Cancer Res Treat* 2019; 51:357-367.
95. Jefferies J, Chang A, Rossano J, Shaddy R, Towbin J. *Heart Failure in the Child and Young Adult, From Bench to Bedside*. 1st ed. London: Elsevier; 2018.

96. Akam-Venkata J, Franco VI, Lipshultz SE. Late Cardiotoxicity: Issues for Childhood Cancer Survivors. *Curr Treat Options Cardiovasc Med* 2016; 18:47.
97. Wouters KA, Kremer LC, Miller TL, et al. Protecting against anthracycline-induced myocardial damage: a review of the most promising strategies. *Br J Haematol* 2005; 131:561-78.
98. Minotti G, Recalcati S, Menna P, et al. Doxorubicin cardiotoxicity and the control of iron metabolism: quinone-dependent and independent mechanisms. *Methods Enzymol* 2004; 378:340-61.
99. Lyu YL, Kerrigan JE, Lin CP, et al. Topoisomerase IIbeta mediated DNA double-strand breaks: implications in doxorubicin cardiotoxicity and prevention by dexrazoxane. *Cancer Res* 2007; 67:8839-46.
100. Zhang S, Liu X, Bawa-Khalfe T, et al. Identification of the molecular basis of doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Nat Med* 2012; 18:1639-42.
101. Lipshultz SE, Colan SD, Gelber RD, et al. Late Cardiac Effects of Doxorubicin Therapy for Acute Lymphoblastic Leukemia in Childhood. *N Engl J Med* 1991; 324:808-815.
102. Lipshultz SE, Lipsitz SR, Sallan SE, et al. Chronic progressive cardiac dysfunction years after doxorubicin therapy for childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2005; 23:2629-36.
103. Link G, Tirosh R, Pinson A, et al. Role of iron in the potentiation of anthracycline cardiotoxicity: identification of heart cell mitochondria as a major site of iron-anthracycline interaction. *J Lab Clin Med* 1996; 127:272-8.
104. Lipshultz SE, Lipsitz SR, Mone SM, et al. Female sex and higher drug dose as risk factors for late cardiotoxic effects of doxorubicin therapy for childhood cancer. *N Engl J Med* 1995; 332:1738-43.
105. Franco VI, Henkel JM, Miller TL, et al. Cardiovascular effects in childhood cancer survivors treated with anthracyclines. *Cardiol Res Pract* 2011; 2011:134679.
106. Landy DC, Miller TL, Lopez-Mitnik G, et al. Aggregating traditional cardiovascular disease risk factors to assess the cardiometabolic health of childhood cancer survivors: an analysis from the Cardiac Risk Factors in Childhood Cancer Survivors Study. *Am Heart J* 2012; 163:295-301.e2.

107. Mackey JR, Martin M, Pienkowski T, et al. Adjuvant docetaxel, doxorubicin, and cyclophosphamide in node-positive breast cancer: 10-year follow-up of the phase 3 randomised BCIRG 001 trial. *Lancet Oncol* 2013; 14:72-80.
108. Steinherz LJ, Steinherz PG, Tan CT, et al. Cardiac toxicity 4 to 20 years after completing anthracycline therapy. *JAMA* 1991; 266:1672-7.
109. Von Hoff DD, Layard MW, Basa P, et al. Risk factors for doxorubicin-induced congestive heart failure. *Ann Int Med* 1979; 91:710-7.
110. Hall PS, Harshman LC, Srinivas S, et al. The frequency and severity of cardiovascular toxicity from targeted therapy in advanced renal cell carcinoma patients. *JACC Heart Fail* 2013; 1:72-8.
111. Herrmann J, Lerman A, Sandhu NP, et al. Evaluation and management of patients with heart disease and cancer: cardio-oncology. *Mayo Clin Proc* 2014; 89:1287-306.
112. Curigliano G, Cardinale D, Suter T, et al. Cardiovascular toxicity induced by chemotherapy, targeted agents and radiotherapy: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol* 2012; 23 Suppl 7:vii155-66.
113. Plana JC, Galderisi M, Barac A, et al. Expert consensus for multimodality imaging evaluation of adult patients during and after cancer therapy: a report from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2014; 27:911-39.
114. Krishnamoorthy VK, Sengupta PP, Gentile F, et al. History of echocardiography and its future applications in medicine. *Crit Care Med* 2007; 35:S309-S313.
115. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2015; 28:1-39.e14.
116. Hering D, Faber L, Horstkotte D. Echocardiographic features of radiation-associated valvular disease. *Am J Cardiol* 2003; 92:226-30.
117. Hull MC, Morris CG, Pepine CJ, et al. Valvular dysfunction and carotid, subclavian, and coronary artery disease in survivors of hodgkin lymphoma treated with radiation therapy. *JAMA* 2003; 290:2831-7.

118. Thavendiranathan P, Grant AD, Negishi T, et al. Reproducibility of echocardiographic techniques for sequential assessment of left ventricular ejection fraction and volumes: application to patients undergoing cancer chemotherapy. *J Am Coll Cardiol* 2013; 61:77-84.
119. Cardinale D, Sandri MT. Role of biomarkers in chemotherapy-induced cardiotoxicity. *Prog Cardiovasc Dis* 2010; 53:121-9.
120. Cardinale D, Sandri MT, Martinoni A, et al. Left ventricular dysfunction predicted by early troponin I release after high-dose chemotherapy. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36:517-22.
121. Ledwidge M, Gallagher J, Conlon C, et al. Natriuretic peptide-based screening and collaborative care for heart failure: the STOP-HF randomized trial. *JAMA* 2013; 310:66-74.
122. Ky B, Putt M, Sawaya H, et al. Early increases in multiple biomarkers predict subsequent cardiotoxicity in patients with breast cancer treated with doxorubicin, taxanes, and trastuzumab. *J Am Coll Cardiol* 2014; 63:809-16.
123. Sawaya H, Sebag IA, Plana JC, et al. Assessment of echocardiography and biomarkers for the extended prediction of cardiotoxicity in patients treated with anthracyclines, taxanes, and trastuzumab. *Circ Cardiovasc Imaging* 2012; 5:596-603.
124. Thakur A, Witteles RM. Cancer therapy-induced left ventricular dysfunction: interventions and prognosis. *J Card Fail* 2014; 20:155-8.
125. Güneş VH. Moleküler Hücre Biyolojisi. 3.baskı. İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi; 2013.
126. Beermann J, Piccoli MT, Viereck J, et al. Non-coding RNAs in Development and Disease: Background, Mechanisms, and Therapeutic Approaches. *Physiol Rev* 2016; 96:1297-325.
127. Güzelgöl F, Aksoy K. Kodlanmayan RNA'ların İşlevi ve Tıpta Kullanım Alanları. *Arşiv* 2009;18:141-155.
128. Lu TX, Rothenberg ME. Diagnostic, functional, and therapeutic roles of microRNA in allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 132:3-13; quiz 14.
129. Hwang HW, Mendell JT. MicroRNAs in cell proliferation, cell death, and tumorigenesis. *Br J Cancer* 2006; 94:776-80.

130. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993; 75:843-54.
131. Ruvkun G. Molecular biology. Glimpses of a tiny RNA world. *Science* 2001; 294:797-9.
132. Pasquinelli AE, Reinhart BJ, Slack F, et al. Conservation of the sequence and temporal expression of *let-7* heterochronic regulatory RNA. *Nature* 2000; 408:86-9.
133. Saydam F, Değirmenci İ and Güneş H. MikroRNA'lar ve kanser. *Dicle Tıp Degisi* 2011;38(1).
134. Kozomara A, Birgaoanu M, Griffiths-Jones S. miRBase: from microRNA sequences to function. *Nucleic Acids Res* 2019; 47:D155-d162.
135. Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer* 2006; 6:259-69.
136. Christodoulatos GS, Dalamaga M. Micro-RNAs as clinical biomarkers and therapeutic targets in breast cancer: Quo vadis? *World J Clin Oncol* 2014; 5:71-81.
137. Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61:69-90.
138. Oeffinger KC, Mertens AC, Sklar CA, et al. Chronic health conditions in adult survivors of childhood cancer. *N Engl J Med* 2006;355: 1572-82.
139. Mertens AC, Yasui Y, Neglia JP, et al. Late mortality experience in five-year survivors of childhood and adolescent cancer: the Childhood Cancer Survivor Study. *J Clin Oncol* 2001; 19:3163-72.
140. Diller L, Chow EJ, Gurney JG, et al. Chronic disease in the Childhood Cancer Survivor Study cohort: a review of published findings. *J Clin Oncol* 2009; 27:2339-55.
141. Carver JR, Shapiro CL, Ng A, et al. American Society of Clinical Oncology clinical evidence review on the ongoing care of adult cancer survivors: cardiac and pulmonary late effects. *J Clin Oncol* 2007; 25:3991-4008.
142. Cardinale D, Sandri MT, Colombo A, et al. Prognostic value of troponin I in cardiac risk stratification of cancer patients undergoing high-dose chemotherapy. *Circulation* 2004; 109:2749-54.

143. Gerhardt W, Katus H, Ravkilde J, et al. S-troponin T in suspected ischemic myocardial injury compared with mass and catalytic concentrations of S-creatine kinase isoenzyme MB. *Clin Chem* 1991; 37:1405-11.
144. Cil T, Kaplan AM, Altintas A, et al. Use of N-terminal pro-brain natriuretic peptide to assess left ventricular function after adjuvant doxorubicin therapy in early breast cancer patients: a prospective series. *Clin Drug Investig* 2009; 29:131-7.
145. Vogelsang TW, Jensen RJ, Hesse B, et al. BNP cannot replace gated equilibrium radionuclide ventriculography in monitoring of anthracycline-induced cardiotoxicity. *Int J Cardiol* 2008; 124:193-7.
146. Daugaard G, Lassen U, Bie P, et al. Natriuretic peptides in the monitoring of anthracycline induced reduction in left ventricular ejection fraction. *Eur J Heart Fail* 2005; 7:87-93.
147. Sandhu H, Maddock H. Molecular basis of cancer-therapy-induced cardiotoxicity: introducing microRNA biomarkers for early assessment of subclinical myocardial injury. *Clin Sci* 2014; 126:377-400.
148. Horie T, Ono K, Nishi H, et al. Acute doxorubicin cardiotoxicity is associated with miR-146a-induced inhibition of the neuregulin-ErbB pathway. *Cardiovasc Res* 2010; 87:656-64.
149. Nishimura Y, Kondo C, Morikawa Y, et al. Plasma miR-208 as a useful biomarker for drug-induced cardiotoxicity in rats. *J App Toxicol* 2015; 35:173-80.
150. Frères P, Wenric S, Boukerroucha M, et al. Circulating microRNA-based screening tool for breast cancer. *Oncotarget* 2015; 7:5416-28.
151. Yadi W, Shurui C, Tong Z, et al. Bioinformatic analysis of peripheral blood miRNA of breast cancer patients in relation with anthracycline cardiotoxicity. *BMC Cardiovasc Disord* 2020; 20:43.
152. Octavia Y, Tocchetti CG, Gabrielson KL, et al. Doxorubicin-induced cardiomyopathy: from molecular mechanisms to therapeutic strategies. *J Mol Cell Cardiol* 2012; 52:1213-25.
153. Sjøblom B, Grønberg BH, Benth J, et al. Low muscle mass is associated with chemotherapy-induced haematological toxicity in advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2015;90:85-91.

154. Moghadam-Kia S, Oddis CV, Aggarwal R. Approach to asymptomatic creatine kinase elevation. *Cleve Clin J Med* 2016; 83:37-42.
155. Daniels LB, Maisel AS. Natriuretic peptides. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50:2357-68.
156. Park HJ, Baek SH, Jang SW, et al. Direct comparison of B-type natriuretic peptide and N-terminal pro-BNP for assessment of cardiac function in a large population of symptomatic patients. *Int J Cardiol* 2010; 140:336-43.
157. Singal PK, Iliskovic N. Doxorubicin-induced cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1998; 339:900-5.
158. Yaylali YT, Saricopur A, Yurtdas M, et al. Atrial Function in Patients with Breast Cancer After Treatment with Anthracyclines. *Arq Bras Cardiol* 2016; 107:411-419.
159. Mengozzi G, Palagi C, Petronio AS, et al. The evaluation of the cardiotoxicity of 4'-epidoxorubicin at high doses. *Cardiologia* 1991; 36:137-42.
160. Akyüz Özkan E, Khosroshahi HE. Evaluation of the left and right ventricular systolic and diastolic function in asthmatic children. *BMC Cardiovasc Disord* 2016; 16:145.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AC	: Adriamisin (doksorubisin) -siklofosfamid kemoterapisi
2AC	: 2 kür, Adriamisin (doksorubisin) -siklofosfamid kemoterapisi
4AC	: 4 kür, Adriamisin (doksorubisin) -siklofosfamid kemoterapisi
6AC	: 6 kür, Adriamisin (doksorubisin) -siklofosfamid kemoterapisi
AC+PTX	: Adriamisin (doksorubisin) -siklofosfamid + Paklitaksel
AC+PTX/HER	: Adriamisin -siklofosfamid + Paklitaksel/Herceptin
AC+DTX	: Adriamisin (doksorubisin) -siklofosfamid + Dosetaksel
AC+DTX/HER	: Adriamisin -siklofosfamid + Dosetaksel/Herceptin
ACEi	: Angiotensin dönüştürücü enzim inhibitörü
AJCC	: American Joint Committee on Cancer (Amerikan Ortak Kanser Komitesi)
ARB	: Angiotensin reseptörü blokörü
AST	: Aspartat transaminaz
ATP	: Adenozin Trifosfat
BNP	: Beyin kaynaklı natriüretik peptid
BRCA	: Breast cancer gen
CA-15-3	: Kanser antijeni
c-DNA	: kalıp, complementary DNA
CEA	: Karsinoembriyonik antijen
CK14	: Sitokeratin 14
CK	: Kreatin kinaz
CRP	: C-reaktif protein
cTnI	: Kardiyak troponin I
DCIS	: Duktal karsinoma in situ
DM	: Diyabetes mellitus
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
DT	: Deselerasyon zamanı

ECOG	: Eastern Cooperative Oncology Group
E	: mitral akım üzerinden diyastolik erken doluş pik velositesi
E' lateral	: mitral kapak lateral yaprakçığı üzerinden doku doppler
EF	: Ejeksiyon fraksiyonu
EGFR	: Epidermal büyüme faktör reseptörü
EKG	: Elektrokardiyografi
EKO	: Ekokardiyografi
ER	: Östrojen reseptörü
ESMO	: European Society for Medical Oncolog (Avrupa Medikal Onkoloji Derneği)
ESC	: European Society of Cardiology Avrupa Kardiyoloji Derneği
ESV	: End sistolik volüm
EDV	: End diyastolik volüm
GLS	: Global longitudinal strain
HDL	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
HT	: Hipertansiyon
HPL	: Hiperlipidemi
KAH	: Koroner arter hastalığı
HER-2	: İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2
Hgb	: Hemoglobin
IDC	: İnvaziv duktal karsinom
IGF-1	: insülin-benzeri büyüme faktörü-1
IHK	: immünhistokimyasal
ILC	: invaziv lobüler karsinoma
ITH	: izole tümör hücreleri
İVRT	: izovolümetrik relaksasyon zamanı
KD	: Kat değişimi
KG	: Kilogram
KMR	: Kardiyak manyetik rezonans
KT	: Kemoterapi
KY	: Kalp Yetmezliği
KVH	: Kardiyovasküler hastalık
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein

LDH	: Laktat Dehidrogenaz
LA	: Sol atrium
M	: Uzak metastaz
MRM	: Modifiye radikal mastektomi,
MKC	: Meme koruyucu cerrahi,
mRNA	: Messenger RNA, haberci RNA
miRNA	: MikroRNA
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
N	: Lenf nodu metastazı
NAKT	: Neoadjuvan kemoterapi
ncRNA	: kodlanamayan RNA ,non-coding RNA
NST	: No special type, Özel tipte olmayan
NOS	: Not otherwise specified, Özel tipte olmayan
NT- proBNP	: N-terminal beyin natriüretik peptid
OKS	: Oral kontraseptif
Q/RT-PCR	: Gerçek zamanlı-Kantitatif Polimeraz zincir reaksiyonu
pCR	: Patolojik tam yanıt
PR	: Progesteron reseptörü
RDW	: Kırmızı kan hücreleri dağılım genişliği
RT	: Radyoterapi
RNA	: Ribo nükleik asit
RISC	: RNA kaynaklı susturma kompleksi
r RNA	: ribozomal RNA
t RNA	: taşıyıcı RNA
RT-PCR	: Reverse transkriptaz/polimeraz zincir reaksiyonu
SiRNA	: small interfering RNA, küçük interferans RNA
snoRNA	: small nucleolar, küçük nükleolar RNA
ROS	: Reaktif oksijen radikalleri
SoVEF	: Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu
S	: triküspit kapak S velositesi
TAPSE	: Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion (Triküspit anüler düzlemin sistolik hareketi)
TOP2	: Topoizomeraz II
TOP2α	: topoizomeraz II alfa

Top2 β	: topoizomeraz-II β
T	: Tümör boyutu
Tn	: Troponin
TSH	: Tiroid Stimule Edici Hormon
UTR	: translasyon olmayan bölge
VK�	: Vücut kitle indeksi



ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

Şekiller	Sayfa No
Şekil 1 (Hastaların miRNA-1 ekspresyonlarının 2AC ve 4AC ortalama KD).....	77
Şekil 2 (Hastaların miRNA-34a-5p ekspresyonlarının 2AC ve 4AC ortalama KD).....	78
Şekil 3 (Hastaların miRNA-126-3p ekspresyonlarının 2AC ve 4AC ortalama KD).....	78
Şekil 4 (Hastaların miRNA-133-b ekspresyonlarının 2AC ve 4AC ortalama KD).....	79
Şekil 5 (Hastaların miRNA-199a-3p ekspresyonlarının 2AC ve 4AC ortalama KD).....	79
Şekil 6 (Hastaların miRNA-29b-1-5p ekspresyonunun 2AC ve 4AC KD).....	80
Şekil 7 (Hastaların miRNA-423-5p ekspresyonlarının 2AC ve 4AC ortalama KD).....	80
Şekil 8 (Hastaların miRNA-4638-3p ekspresyonunun 2AC ve 4AC ortalama KD)....	81

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablolar.....	Sayf No
Tablo 1 (Meme kanserinin moleküler sınıflaması)	23
Tablo 2 (TNM sınıflamasının T faktörü)	25
Tablo 3 (TNM sınıflamasında N faktörünün klinik sınıflandırması)	26
Tablo 4 (TNM sınıflamasında N faktörü patolojik sınıflama)	27
Tablo 5 (TNM sınıflamasının M faktörü)	28
Tablo 6 (TNM sınıflamasına göre meme kanserinde evreleme)	28
Tablo 7 (Antrasiklinlerin kardiyotoksitesinin farklı tiplerinin özellikleri)	38
Tablo 8 (RT-PCR için bileşenler ve miktarları)	57
Tablo 9 (cDNA'nın zenginleştirilme reaksiyonu bileşenleri)	58
Tablo 10 (cDNA'nın zenginleştirilme tepkime sıcaklıkları)	58
Tablo 11 (qRT-PCR için kullanılan bileşenlerin oranları)	59
Tablo 12 (qRT-PCR tepkime koşulları)	59
Tablo 13 (Hastaların tedavi başlangıcındaki genel demografik verileri)	61
Tablo 14 (Hastaların menopoz durumu)	62
Tablo 15 (Hastaların eşlik eden hastalıkları ve yaşam tarzları ile ilgili veriler)	63
Tablo 16 (Hastaların patolojik ve moleküler bilgileri)	65
Tablo 17 (Hastaların hastalık evrelemesi ve kemoterapi bilgileri)	67
Tablo 18 (Hastaların tedavi boyunca laboratuvar verileri)	70
Tablo 19 (Hastaların tedavi boyunca kardiyak ölçümleri ve KT dozları)	72
Tablo 20 (Hastaların miRNA kat artışlarının 2AC ve 4AC ortalamaları)	76
Tablo 21 (Hastaların 2AC miRNA kat artışları ile diğer 2AC parametrelerin korelasyonu)	82
Tablo 22 (Hastaların 4AC miRNA kat artışları ile diğer 4AC parametrelerin korelasyonu)	83
Tablo 23 (Hastaların 2AC miRNA kat artışları ile diğer 4AC parametrelerin korelasyonu)	85