

**T.C.
Sağlık Bakanlığı
İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi
2. Biyokimya ve Klinik Biyokimya**

Doç. Dr. Mehmet H. Köseoğlu



**METASTATİK MEME KANSERLERİNDE
KANDA DOLAŞAN TÜMÖR HÜCRESİ İLE CA 15-3
DÜZEYLERİNİN KORELASYONU VE PROGNOSTİK
FAKTÖRLERLE İLİŞKİSİ**

**Uzmanlık Tezi
As. Dr. Ataman Gönel
İzmir-2009**

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim süresince ve tezimin hazırlanması aşamasında her durumda yanımda olan ve bana destek olan sayın Hocam Doç. Dr. Mehmet KÖSEOĞLU'na ve Tıbbi Onkoloji Şefi sayın Doç. Dr. M. Oktay TARHAN hocama sonsuz teşekkürlerimi arz ederim.

Yetişmemde emeği geçen Sayın Uz.Dr.Ayşenur ATAY'a, Uz.Dr. Serap ÇUHADAR'a, Uz.Dr.Köksal DEVECİ'ye, Uz.Dr. Barış KARADAŞ'a, Uz.Dr. Yusuf Cem KAPLAN'a, Uz.Dr. Fatoş ER'e ve Uz.Dr. Nejla BARIŞ'a teşekkür ederim.

Asistanlık dönemimde birlikte çalıştığım, destek aldığım tüm asistan arkadaşlarıma ve laboratuvar çalışanlarına teşekkür ederim.

Dr.Ataman GÖNEL

İZMİR-2009

KISALTMALAR

HRT: Hormon replasman tedavisi
ER: Östrojen reseptörü
PR: Progesteron reseptörü
EGF: Epidermal büyüme faktörü
EGFR: Epidermal büyüme faktörü reseptörü
PCNA: Proliferatif hücre çekirdek antijeni
HER-2: Human epidermal growth factor receptor 2
LKIS: Lobüler karsinoma in situ
DKIS: Duktal karsinoma in situ
TLI: Timidin işaretleme indeksi
NOS : Başka şekilde sınıflandırılmayan
VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü
TNF: Tümör nekrozis faktör
HGF: Hepatosit büyüme faktörü
IFN: İnterferon
CEA: Karsinoembriyonik antijen
TPA: Doku polipeptit antijen
MSA: Memeli serum antijen
MCA: Müsinöz karsinoma antijen
BCM: Meme kanseri müsin antijeni
NRP: Neu Related Protein
bFGF : Temel fibroblast büyüme faktör
MUC-1: Müsin benzeri glikoprotein-1
CTC: Circulating tumor cell
KDTH: Kanda dolaşan tümör hücresi
RT-PCR: Reverse Transcriptase Polimerase Chain Reaction
EpCAM: Epithelial cell adhesion molecule
DAPI: 4'6-diamino 2 phenylindole 2
LCA: Lökosit ortak antijen
CK: Sitokeratin
CD45: Cluster of differentiation

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ VE AMAÇ	5-6
2. GENEL BİLGİLER	5-27
2.1. EPİDEMİYOLOJİ.....	5
2.2. RİSK FAKTÖRLERİ.....	6-8
2.2.1. Coğrafi çeşitlilik.....	6
2.2.2. Yaş.....	7
2.2.3. Genetik ve Aile Öyküsü.....	7
2.2.4. Benign meme hastalığı.....	7
2.2.5. Uzun süreli endojen östrojen etkisi altında kalmak.....	7
2.2.6. Uzun süreli eksojene maruz kalmak.....	8
2.2.7. Oral kontraseptifler.....	8
2.3. PROGNOSTİK FAKTÖRLER.....	9-11
2.3.1. Histolojik tür.....	9
2.3.2. Histolojik derece.....	10
2.3.3. Tümör büyüklüğü.....	10
2.3.4. Aksiler lenf tutulumu.....	10
2.3.5. Multisentrisite.....	10
2.3.6. Yaş.....	10
2.3.7. Etnik özellikler.....	10
2.3.8. Mitotik indeks.....	10
2.3.9. Hormon reseptör durumu.....	10
2.3.10. Bcl-2.....	11
2.3.11. p53.....	11
2.3.12. c-erbB2.....	11
2.3.13. Ki-67.....	12
2.3.14. Lenfatik ve kan damar invazyonu.....	12
2.3.15. BRCA1 ve BRCA2.....	13
2.4. HİSTOPATOLOJİ	13-16
2.4.1. Meme Kanserlerinin Subtipleri.....	13
2.4.1.1. Duktal ve lobüler karsinoma in situ.....	13

2.4.1.1.1. DKIS.....	13
2.4.1.1.2. LKIS.....	13
2.4.1.2. İnfiltratif duktal karsinom.....	14
2.4.1.3. Tubüler karsinom.....	14
2.4.1.4. Medüller karsinom.....	14
2.4.1.5. Müsinöz karsinom.....	14
2.4.1.6. Adenokistik karsinom.....	14
2.4.1.7. Papiller karsinom.....	14
2.4.1.8. Paget hastalığı.....	14
2.4.1.9. Karsinosarkom.....	14
2.4.1.10. Sistosarkoma filloides.....	15
2.5. MEME KANSERİNDE KARSİNOGENEZ.....	16-17
2.6. METASTAZ PATOGENEZİ.....	18
2.7. TÜMÖR ANJİOGENEZİ.....	18-19
2.8. TÜMÖR BELİRLEYİCİLER.....	19-28
2.8.1. Tarama.....	20
2.8.2. Tanıda kullanım.....	20
2.8.3. Prognozda kullanım.....	20-21
2.8.4. Takipte kullanım.....	21-22
2.8.5. Kanser Antijen 15-3.....	22-25
2.8.6. Kanda Dolaşan Tümör Hücreleri	25-28
3. MATERYAL VE METOD.....	29-34
3.1. Materyal.....	29
3.2. Araç ve Gereçler.....	29
3.2.1. Cihaz ve Aletler.....	29
3.2.2. Ticari Kitler.....	30
3.2.3. Histokimyasal Boyalar.....	30
3.3. Gruplar.....	31
3.4. Numunelerin Toplanması.....	31
3.5. KDTH Ölçümü Test Prensibi.....	31-32
3.6. Ca 15-3 Ölçümü Test Prensibi.....	32
3.7. İmmünohistokimyasal Yöntem.....	32-33

3.8. Histokimyasal sonuçların değerlendirilmesi.....	31-32
3.9. Histolojik derecelendirmenin değerlendirilmesi.....	34
4. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER.....	35
5. BULGULAR.....	35-57
6. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	57-64
7. TÜRKÇE ÖZET.....	65
8. İNGİLİZCE ÖZET.....	66
9. KAYNAKLAR	67-82
10. ÖZGEÇMİŞ.....	83



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri gelişmiş ülkelerdeki kadınlar arasında sık görülen bir kanser olup, yaşam boyu oluşma riski 1/12 ile 1/20 arasında değişmektedir (1). Meme kanseri 30 yaşından sonra artmaya başlar, 45-55 yaşlarında diğer bir deyişle menopoza bir duraklama görülür. 55 yaşından sonra ise insidans hızla yükselir (2,3).

Meme kanserinin erken tanısı için yapılan eğitim, tarama programlarına, tanı yöntemlerindeki ilerlemelere ve tedavideki gelişmelere (sentinel lenf nodu biyopsisi, yeni sitostatik ilaçlar ve radyoterapi teknikleri) rağmen, lokal-bölgesel nüks ve uzak metastaz, klinik takipte karşılaşılan sorunlar olarak devam etmektedir. Biyopsi hem oluşan kitlenin tanısı hem de östrojen, progesteron reseptörü (ER, PR) gibi histopatolojik özelliklerin ortaya konmasına yardımcı olur. Tüm vücut tümör taraması için yapılan tetkikler (toraks ve abdomen BT, kemik sintigrafisi, PET-CT gibi) hastalığın yaygınlığı hakkında bilgi vermesi dışında tedavi kararının belirlenmesinde de yol göstericidir. Son yıllarda yapılan çalışmalar meme kanserinde metastazda yeni odakların primeri olarak kabul edilebilecek kanda dolaşan tümör hücrelerinin (KDTH) klinikte ki yararını tespit etmeye odaklanmıştır. KDTH'lerinin metastatik meme kanserli hastalarda sağkalım şansını tahmin etmede ve prognoz açısından öngörü sağlamada radyolojik görüntüleme yöntemlerinden daha güvenilir sonuçlar vermesi dikkate değer bir bulgudur (4,5).

Biz bu çalışmada metastatik meme kanserlerinde serum CA 15-3 (Kanser Antijen 15-3) düzeyleri ile kanda dolaşan tümör hücre (KDTH) sayısı arasındaki korelasyonun olup olmadığını saptamayı amaçladık. Ayrıca prognostik önemi olan histopatolojik faktörlerle (östrojen reseptörü, progesteron reseptörü, c-erbB2 onkogen, p-53 supresör gen, Ki-67 proliferasyon belirteci) ilişkisini araştırdık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Epidemiyoloji

Meme kanseri kadınlarda en çok görülen kanser olmasının yanında, birçok ülkede kadınlardaki kanser ölümlerinin de başlıca nedenidir Meme kanserinden ölüm oranları Danimarka, İngiltere ve Hollanda gibi batı ülkelerindeki kadınlarda 10-25/100.000 iken, Japonya, Meksika ve Venezüela'da 2-5/100.000 arasındadır (6). 2008 yılında meme kanseri tanısı almış 182.460 hastadan 40.480 kişinin öleceği tahmin edilmektedir (7).

2.2.RİSK FAKTÖRLERİ

Meme kanseri oluşumundan sorumlu birçok risk faktörü tanımlanmıştır. Bunlar özetle tablo 1'de sunulmaktadır (8). Tablodaki risk faktörleri iyi tanımlanmış ve daha az iyi tanımlanmış olarak ikiye ayrılmıştır. Ayrıca her birinin muhtemel risk derecesi bildirilmiştir.

2.2.1.Coğrafi çeşitlilik

Meme kanserinin insidansı ve mortalite oranları, ülkeler arasında farklılıklar göstermektedir. Meme kanseri görülme riski Kuzey Amerika ve Kuzey Avrupa'da Asya ve Afrika'ya göre daha yüksektir. ABD'deki risk Japonya'ya oranla 5 misli daha fazladır. Bu farklılıkların genetik orijinden ziyade, çevresel faktörlere bağlı oldukları görülmektedir. Çünkü düşük insidanslı bir bölgeden yüksek insidanslı bir bölgeye göç edenlerde, göç ettikleri bölgenin kanser oranlarına adaptasyon sağlanmaktadır. Diyet, reproduktif patern ve beslenme alışkanlıklarının da etkilediği düşünülmektedir (8).

2.2.2.Yaş

30 yaşın altında meme kanserleri nadirdir. Bu yaştan sonra yaşam boyu risk giderek artar. Menopozdan sonra ise bu yüksek ivme plato çizer (8).

2.2.3.Genetik ve Aile Öyküsü.

Meme kanserlerinin %5-10'unda spesifik mutasyonların varlığı düşünülmektedir. Li-Fraumeni sendromlu hastalarda tümör süpresör gen olan p53'te germ-line mutasyonları izlenir ve bunların, meme kanseri dahil olmak üzere çeşitli tümörlere eğilimleri vardır. Bu sendromda meme kanseri 40 yaşın altında ortaya çıkmakta ve bilateralidir. Her şeye rağmen bu mutasyon meme kanserlerinin % 1' den azında bulunmaktadır. Son dönemde keşfedilen ve 17q21. kromozomda lokalize BRCA1 geni de familyal meme kanseri ile bağlantılıdır. Bu genin germ-line mutasyonları olguların büyük bir bölümünde izlenmekte ve hem meme hem de over kanserine kalıtsal bir eğilim oluşturmaktadır. BRCA1 genindeki mutasyonlar ile 50 yaşındaki kadınlarda %50, 65 yaşındakilerde ise %80 oranında meme kanseri gelişme riski vardır. Bir ikinci meme kanser gen olan BRCA2, 13q12-13 kromozomunda lokalizedir. Familyal meme kanserlerinin %10-15'inden sorumludur. Her iki genin de tümör süpresör gen oldukları düşünülmektedir. BRCA1'in fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir. Bazılarına göre bu gen hücreler tarafından sekrete edilen büyümeyi baskılayan bir proteini kodlamaktadır. Bazı kaynaklar ise BRCA1 proteininin nukleusta kaldığını ve diğer proteinlere bağlanarak fonksiyon gördüğünü savunmaktadırlar (8).

2.2.4.Benign meme hastalığı

Nonproliferatif meme lezyonları kanser geliştirme riski taşımaz. Atipik olmayan proliferatif lezyonlar meme kanseri geliştirmede düşük risk artışına sebep olurken, özellikle atipik hiperplazi, önemli bir risk faktörü taşımaktadır (9).

2.2.5. Uzun süreli endojen östrojen etkisi altında kalmak

Özellikle yaşamın ilk dönemlerinde östrojene maruz kalınması major risk faktörü olarak kabul edilir. Erken başlayan menstrüel sikluslar, geç menopoza, geç yaşta doğum, hiç doğum yapmama, laktasyonun kısa sürmesi meme kanser riskini artırır. Çünkü tüm bu durumlar östrojene maruz kalınan süreyi artırırlar (8).

2.2.6. Uzun süreli eksojen östrojene maruz kalmak

Postmenopozal dönemde hormon replasman tedavisinde (HRT) izlenir. HRT

bir taraftan osteoporozu geciktirir, kalbi korur ve inmeleri önler; diğer taraftan meme kanser riskini artırır. Artan riskin büyüklüğü hakkında henüz bir uzlaşma yoksa da, 5 yıllık bir HRT sonrası göreceli riskin 1.5 ve 1.8 misli arttığı kabul edilmektedir. Östrojen ve progesteronun kombine kullanılması ile riskin azaldığını gösteren kesin kanıtlar yoktur (8).

2.2.7. Oral kontraseptifler

Meme kanser riskini artırdıklarından kuşulanılmıştır. Ancak kanıtlar yine çelişkiler içerir. Günümüzde kullanılan düşük doz dengeli kombine östrojen ve progesteronlar, özellikle 25 yaşın altında doğum yapmamış kadınlarda kanser riskini hafif derecede artırır.

Az tanımlanmış faktörlerden de obezite, alkol kullanımı, sigara ve yağ oranı yüksek diyetin meme kanser gelişiminde payı olduğu düşünülmektedir (8).

Tablo.1 Meme kanserinde risk faktörleri

Faktör	Göreceli Risk
İyi Tanımlanmış Faktörler	
Coğrafik faktör	Değişik bölgelerde farklılık göstermekte
Yaş	30 yaşın üzerinde risk artmakta
Aile Öyküsü	
Birinci Derce yakınında meme kanseri	1.2-3.0
Premenopozal	3.1
Premenopozal ve bilateral	8.5-9.0
Postmenopozal	1.5
Postmenopozal ve bilateral	4.0-5.4
Menstrüel öykü	

Menarş yaşı <12 yaş	1.3
Menarş yaşı >55 yaş	1.5-2.0
Gebelik	
25-29 yaşlarında ilk canlı doğum	1.5
30 yaşın üzerinde ilk canlı doğum	1.9
Doğum yapmamış kadınlarda	2.0-3.0
Benign meme hastalıkları	
Proliferatif hastalık	1.9
Atipik hiperplazili proliferatif hastalık	4.4
Lobuler karsinoma in situ	6.9-12.0
Az tanımlanmış faktörler	
Eksojen östrojen	
Oral kontraseptifler	
Obesite	
Aşırı yağlı diyet	
Alkol kullanımı	
Sigara içimi	

2.3. PROGNOTİK FAKTÖRLER

2.3.1 Histolojik tür: Meme karsinomunun tubuler, papiller, müsinöz, adenoid kistik karsinom, medüller karsinom gibi belirli tipleri düşük dereceli kanserlerdir ve aksiller lenf nodu metastazlarının yokluğu ya da düşük sıklığı ile relatif olarak iyi prognoz ve düşük rekürrens oranları gösterirler (10). İnvazif lobuler karsinom, invazif duktal kanserlere göre daha iyi prognozludur. En agresif tümörlerden biri olan inflamatuvar meme kanserinin prognozu oldukça kötüdür (11).

2.3.2. Histolojik derece: İndifferansiye tümör, nekroz, mitotik aktivitenin fazla olması, vasküler invazyon genel sağkalımı azaltır (12).

2.3.3. Tümör büyüklüğü: Nod negatif hastalarda ve uzak metastazı olmayan hastalarda en güçlü prognostik faktör tümör büyüklüğüdür (13, 14). Tümör çapının 2 cm ve üzerinde olması tek başına yüksek risk faktörüdür (15).

2.3.4. Aksiler lenf tutulumu: Aksiller lenf nodlarının durumu diğer faktörlerden bağımsız olarak prognozu belirleyen bir faktördür. Aksiller lenfatik tutulum ile lokal rekürens artmakta ve dolayısıyla genel sağkalımda azalmaktadır (16).

2.3.5. Multisentrisite: Multipl primer tümör bulunması, özellikle koruyucu cerrahi düşünülen olgularda prognostik bir faktördür (17).

2.3.6. Yaş: 35 yaş altı hastalarda prognoz daha kötü seyretmektedir (18).

2.3.7. Etnik özellikler: Prognoz siyah ırkta beyaz ırka göre daha kötüdür (19).

2.3.8. Mitotik indeks: Hematoksilen eosin ile boyanan preparatlarda ışık mikroskopi ile gözlenen mitoz sayısını belirler. Belli bir büyütme alanında 4-5'den daha fazla mitoz saptandığında mortalite riskinin 2.8 kat arttığı gösterilmiştir (16).

2.3.9. Östrojen ve progesteron reseptörleri: Östrojen reseptör (ER) varlığının prognostik bir faktör olduğu ilk kez 1977 yılında belirtilmiştir (21). İnvaziv kanserlerde ER pozitifliği %37-80, PR pozitifliği %45-69 oranında bildirilmiştir (22,23). Meme kanserinin gelişmesinde dişi seks hormonlarının rolü vardır ve her zaman geçerli olmasa da, antihormonal terapiye cevap verdikleri için tümörlerde ER veya PR'nin tayini iyi prognoz olarak kabul edilir (24). ER (+) hastalarda 5 yıllık hastalıksız sağkalım ER(-) hastalardan %10 daha uzundur (16). Meme kanserinde ER pozitifliği yaşlı kadınlarda gençlerden daha yüksek oranda görülür. Östrojen ve progesteron reseptörlerinin birlikte negatif olan hastalarda endokrin yanıt oranı %10 iken östrojen ve progesteron reseptörlerinin birlikte pozitif olan hastalarda bu değer %78 olarak bildirilmektedir. Bunun nedeni tam olarak bilinmiyor ancak nedenleri arasında hasarlı gen veya ürününün rolü olduğu söylenebilir (24,25).

2.3.10. Bcl-2: İyi prognoz belirteci olarak bildirilmiştir. Diğer adı tamoksifen belirtecidir. Bcl (+) olan tümörlerde östrojen reseptörü pozitifdir. Sağkalım bu hastalarda daha fazladır (20).

2.3.11. p53: 17q13 kromozomunda yerleşen p53 tümör supresör geni 53 kD'luk bir fosfoproteini kodlamaktadır. Hücre siklusunda G1 fazından S fazına ilerlemeyi inhibe eder. Mutasyonlar sonucu üretilen nükleer protein immünohistokimyasal yöntemle saptanabilmektedir (16,20). Meme kanserleri için yapılan çalışmalarda, p53 ekspresyonu ile yüksek tümör derecesi, yüksek proliferasyon indeksi, aneploidi ayrıca östrojen ve progesteron yokluğu arasında yakın ilişki olduğu gösterilmiştir (26). Meme kanserlerinin %20-30'unda p53 inaktivasyonu gözlenir. p53 mutasyonlarının tespiti in situ'dan invazif karsinomaya geçiş için bir belirteç olarak kullanılabilir. İn situ duktal karsinomlar da p53 mutasyonu gözlenmediği, buna karşılık meme karsinogenezinin erken evrelerinde p53'ün mutasyona uğradığı bildirilmiştir. EGFR pozitif ve ER negatif vakalarda ise anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (27).

2.3.12. c-erbB2 : c-erbB2 meme kanserlerinde sık amplifiye edilen bir gendir. c-erbB2 geni, HER2/neu veya p185 olarak da adlandırılır. 17. kromozomun uzun kolunda lokalize bir protoonkogendir. Epidermal Growth Factor (EGF) ailesinden bir glikoproteini (p185) kodlamaktadır. p185'in intrasellüler komponenti tirozin kinaz aktivitesi göstermektedir. Ekstrasellüler komponenti ise yapı olarak growth faktör reseptörlerine benzemektedir. Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) ailesi veya HER ailesinin [HER-1 (c-erbB1,EGFR), HER-2 (c-erbB2), HER-3 (c-erbB3), HER-4 (c-erbB4)] dört üyesinden biri olan HER2/neu 185 kDa ağırlığındadır (8,13). Meme kanserlerinde HER2'nin prognostik ve prediktif önemi bulunmaktadır. Meme kanserli hastalarda % 25-30 oranında HER2 amplifikasyon ve overekspresyonu bildirilmiştir. HER2 pozitifliği tümörün agresif davranışı ve kötü prognoz ile yakından ilişkilidir (28,29). c-erbB2 aşırı ekspresyonunun, lokal nüks, metastaz, sağkalım, mitotik indeks ve aksiller lenf nodu tutulumu ile ilişkisi olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Ancak meme kanserinde diğer prognostik faktörlerle c-erbB2 ekspresyonu arasında ilişki gösterilememiştir. Bu nedenle c-

erbB2 geni, meme kanserinde negatif bağımsız prognostik faktör olarak kabul edilmektedir (30-35).

2.3.13. Ki-67: Ki-67 protein orijinal olarak ilk defa Gerdes ve arkadaşları tarafından kobayı Hodgkin lenfoma hücreleri ile immünize etmeleri sonucu 1983 yılında tarif edilmiştir. Bu yapı çoğalan bütün hücrelerde izlenmiş ve araştırılan hücre popülasyonunun büyüyen bölümünü araştırmada kullanılan önemli bir belirteç olmuştur (36). Ki-67 çoğalan hücrelerde görülen bir çekirdek proteindir. Mitozun G1, S, M ve G2 fazında görülür. G0 fazında ise görülmez. Hücre proliferasyonunun morfolojik özelliklerini iyi bir şekilde gösteren proteindir. Mitotik indeks ve tümör derecelendirmesinde sıklıkla kullanılır (37). Meme tümörlerinde Ki-67 artışı tespiti, prognoz ile yakın ilişki içindedir (38). Diğer yandan proliferasyon oranı ile p53 geni anomalileri arasında aynı yönde güçlü bir ilişki bulunduğu, bunun yanında meme, prostat, kolon, akciğer, karaciğer ve gastrik karsinomlarda, bazı lenfoma ve sarkomalarda olduğu gibi artmış proliferasyonu olduğu ve bu vakalarda Ki-67 veya PCNA kullanılmak suretiyle yapılan immünohistokimyasal yöntemlerle kolayca tanı konulabildiği ve prognoz hakkında fikir sahibi olunabildiği bilinmektedir (39-41).

2.3.14. Lenfatik ve Kan Damar İnvazyonu: İnvaziv karsinomlar etrafında vasküler invazyonun gösterilmesi erken lokal nüks ve uzak metastazlar açısından önemlidir. Lenfatik vasküler invazyon gösteren meme kanserli hastalarda hastalıksız yaşam % 83, lenfatik vasküler invazyon göstermeyen hastalarda ise % 98' dir (42).

2.3.15. BRCA1 ve BRCA2 geni: BRCA1 geni 17q 12-q21' de lokalizedir. Bir tümör baskılayıcı gen olduğu kabul edilen BRCA1'in allellerinden biri gen dizisi mutasyonu ile kaybolur ve geriye kalan allelin sonraki kaybı somatik meme dokusunda ortaya çıkar. 70 yaş civarında BRCA1'e bağlı meme kanseri gelişim riski %85'dir. BRCA1 ile ilgili meme kanserleri daha genç yaş gruplarında görülmektedir. Bu tümörler yüksek proliferasyon oranlarına sahiptir ve yüksek derecelidirler. BRCA1 mutasyonlu kadınlarda medüller ve atipik medüller karsinomlara kontrol gruplarına oranla daha sık rastlanır. BRCA2 geni, 13q 12-q13'de lokalizedir. Herditer kanserlerin %35-40'ından sorumludur. 70 yaş civarında meme kanseri riski

% 60-70, 80'li yaşlarda ise %83-97'dir. Tubulolobüler kanserlerin büyük bir bölümünün BRCA2'ye bağlı kanserli hastalar arasında geliştiği bilinmektedir (43).

2.4. HİSTOPATOLOJİ

Memedeki kitle benign ya da malign olabilir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), proliferatif durumları ve memenin tümörlerini benign mammarial displaziler, benign ya da bariz benign tümörler, karsinoma, sarkoma, karsinosarkoma ve sınıflandırılmayan tümörler olarak sınıflandırmıştır (17). The American Joint Committee on Cancer (AJCC), meme tümörlerini gösteren alternatif bir histolojik sınıflandırma gerçekleştirmiştir (Tablo 2).

Tablo 2: AJCC Meme Tümörleri Histopatolojik Klasifikasyonu

Kanser, *NOS
Duktal
İntraduktal (in situ)
İnvaziv (intraduktal komponenti baskın olan tip)
İnvaziv, NOS
Komodo
İnflamatuvar
Medüller (lenfositik infiltran)
Musinöz (kolloid)
Papiller
Sikirröz
Tübüler
Diğer
Lobüler
İn situ
İnvaziv(in situ komponenti baskın olan tip)
İnvaziv
Meme başı (nipple)
Paget hastalığı, NOS
Paget hastalığı (intraduktal karsinoma ile birlikte)
Paget hastalığı (invaziv duktal karsinoma ile birlikte)

*NOS : Başka şekilde sınıflandırılmayan

2.4.1. MEME KANSERLERİNİN SUBTİPLERİ

2.4.1.1. Duktal ve lobüler karsinoma in situ: Premalign in situ karsinoma, lobüllerde meydana gelirse lobüler karsinoma in situ (LKIS), duktuslarda meydana gelirse duktal karsinoma in situ (DKIS) adını alır (44).

2.4.1.1.1. DKIS: Sadece eksizyonel biyopsi ile tedavi edilebilen, hastaların % 30-35'inde 10 yıl içinde rekürrens ya da invaziv duktal karsinoma'ya progresyon potansiyeli taşıyan invaziv olmayan bir lezyondur. “İnvaziv intraduktal karsinoma” terimi çelişkili bir ifade olup kullanılması tavsiye edilmemektedir (17). Noninvaziv duktal meme kanserinin histolojik subtiplerinin prognozu hususunda araştırmacılar arasında fikir ayrılıkları vardır. Fakat netice itibariyle yüksek nükleer grade, yüksek timidin işaretleme indeksi (TLI), mikroinvazyon kapasitesine ve yalnız tyelektomi (geniş tümör eksizyonu) yapıldığında en sık lokal rekürrense komedokarsinomada rastlanır. Üstelik en sık rastlanan subtiptir. Diğer subtipler ise sıklık sırasına göre papiller, mikropapiller (multisentrisitesi en yüksek ve memenin büyük bir bölümünü işgal edebilecek kadar diffüz olabilen tip), kribriform ve solid tip intraduktal kanserlerdir (46).

2.4.1.1.2. LKIS: Memenin lobüllerindeki epitel hücrelerinin noninvaziv, anormal proliferasyonudur. Menapoz sonrası lobüllerin atrofiye uğraması nedeniyle LKIS genellikle premenapozal eğilimlidir. Çoğu nonpalpabl olup, mamografik olarak da gözden kaçma ihtimali yüksektir. Bu yüzden genellikle tesadüfen tanı konur. Multisentrik ve sıklıkla bilateralidir (17).

2.4.1.2. İnfiltratif duktal karsinom: Meme kanserinin en sık subtipi olup vakaların % 50'sinden fazlasını oluşturur. Nekroz nadir olmakla beraber, lenfatik invazyon mevcut olabilir. Bir in situ komponent sıklıkla eşlik eder (17).

2.4.1.3. Tubüler karsinom: Tek kat iyi diferansiye epitel hücreleri tarafından tubüler yapıların tipik olarak sıralanması esastır. Tubüler hücreler, normal duktus ya da duktulusları taklit eder. Multiglandüler, kribriform ya da adenokistik konfigürasyonlara rastlanır. Perinöral invazyon görülebilir. Bu tümörler nonagresif bir büyüme paternine sahip olup aksiller lenf nodu tutulumu % 10 vakada bildirilmiştir (17).

2.4.1.4. Medüller karsinom: Az oranda fibröz stroması olmasına karşın lenfoid infiltrasyon barizdir. Bazı sikiröz karsinomalar, invaziv lobüler lezyonlara eşlik edebilir ki bu durumda daha agresif ve multisentrik olmaya eğilimlidirler ve uzak metastaz gelişme ihtimali de yükselir. Diğer tümörlerden genelde daha iyi bir prognoza sahiptir, özellikle tubülo-lobüler subtipinde, prognoz daha iyidir (17).

2.4.1.5. Müsinöz karsinom: Mukoid ya da kolloid karsinom olarak da isimlendirilir. Daha ziyade uzun süredir semptomu olan yaşlı bayanlarda görülür. Yavaş büyür ve aksiller lenf nodu metastaz insidansı düşüktür. Nekroz ve lenfatik invazyon nadirdir. Genel sağkalım, infiltratif duktal karsinomdan oldukça iyidir (17).

2.4.1.6. Adenokistik karsinom: Memede nadir görülür. Histolojik özellikleri ve klinik davranışı, tükrük bezi ve üst solunum yolundaki benzerleri gibidir (17).

2.4.1.7. Papiller karsinom: Nadirdir, invazyon ve regional lenfatiklere yayılma insidansı düşüktür (17).

2.4.1.8. Paget hastalığı: Meme başının tümörle infiltrasyonudur diye tanımlanır. Çoğu araştırmacı buradaki olayın, meme başı gerisindeki duktuslarda mevcut tümörün dışarıya taşması olduğunda birleşirler. Bazı araştırmacılara göre primeri belli olmayan bir karsinomun metastazı olarak tanımlanır. Multisentrik ve subareoler tümörle birlikte olabilir (17).

2.4.1.9. Karsinosarkom: Nadir görülür. Nodüler, irregüler, kapsülsüz tümördür. Aksiller lenf nodu tutulumu % 50 gibidir. Sıklıkla malign fibröz histiyositoma ve

fibrosarkomatöz neoplazilere benzer ve beş yıllık genel sağkalım oranı % 49'dur (17).

2.4.1.10. Sistosarkoma filloides: Geniş, genellikle kapsüllü ve bitişik meme dokusuna invazyon yapmayan tümörlerdir. Genellikle önceden var olan fibromalardan gelişirler. Uzun süren ve yavaş ilerleyen bir latent periyoddan sonra hızlı bir büyüme gösterirler. Mitotik indeks ve cerrahi sınırlar prognostik öneme sahiptir. Treves ve Sunderland yaptıkları bir çalışmada 77 vakanın 18'i malign, 18'i borderline ve 41 tanesi de benign olarak değerlendirilmiş, malign olanların 9 tanesi uzak metastaz yapmıştır (17). Bu sayılanların dışında memede nadir görülen tümörlere de rastlanır. Sarkom, pür skuamöz hücreli karsinom, bazal hücreli karsinom ve malign lenfoma bunlardan bazılarıdır. İnvaziv karsinomaların büyük bir çoğunluğu başka şekilde sınıflandırılmayan gruba dahildir. Sikirroz ve komedokarsinom tipleri de dahil edilirse tüm meme kanserlerinin % 60'ını oluştururlar (45).

2.5. MEME KANSERİNDE KARSİNOGENEZ

Normal meme dokusunun yapı ve fonksiyonu luminal hücreler, myoepitelyal hücreler ve stromal hücreler arasındaki etkileşime bağlıdır. Karsinom gelişimi sürecindeki ilk morfolojik değişiklik, epitelyal hücrelerin sayıca artmasıdır. Bu erken değişiklik apoptozun baskılanması, büyümeyi baskılayan sinyallerin yetersiz kalması ile bağlantılıdır. Anormal hormon reseptör ekspresyonu da görülmektedir (48,49).

Meme kanserinin gelişiminde, çok basamaklı karsinogenez teorilerine uygun olarak aktif veya inaktif duruma gelen bir dizi genin sorumlu tutulduğu genotipik değişiklikler izlenir (Tablo 3). En çok karşılaşılan genetik değişiklikler, genellikle p53, BRCA1-2, Rb-1, CDKN2 ve CDH1 lokuslarında saptanan, ancak çok sayıda farklı lokusda da gelişebilen heterozigozite kaybıdır. Heterozigozite kaybında, genetik instabilite geç dönemde rastlanan bir değişikliktir. Genetik instabilite benign proliferatif değişikliklerde nadiren bulunurken, atipik epitelyal hiperplazilerde daha siktir; in situ karsinomda ise daima izlenir (47,48).

Tablo 3. Meme kanseri oluşumunda ve progresyonunda etkili olan genotipik ve fenotipik değişiklikler. (48)

Predispozan genetik risk	▪ BRCA1 ▪ BRCA2 ▪ PTEN ▪ p53
Hiperplazi	▪ Östrojen, progesteron ve büyüme faktörleri ile proliferasyonun uyarılması ve apoptozun baskılanması ▪ Telomeraz ekspresyonu ile immortal hücre oluşumu
Karsinoma in situ	▪ Proliferasyonu etkileyen genlerde mutasyon: - c-erbB2 - c-myc - ccdn-1 - ccdn-2 - rb-1 ▪ Apoptozun inhibisyonu: - p53 - bcl-2 ▪ Sonuç: Kromozomal instabilite
İnvaziv kanser	▪ Hücre siklusunda fenotipik değişiklikler ▪ Hücre ölümü ve tedaviye yanıtta değişimler ▪ Anjiogenez ve metastatik yayılımı etkileyen faktörler ▪ İnvazyonu etkileyen faktörlerde mutasyon ▪ DNA onarımında defekt

Gen amplifikasyonlarının genomik instabilite kazanmış tümör hücrelerinde bulunması nedeniyle tümör gelişiminin geç evrelerinde ortaya çıktığı düşünülmektedir. Meme kanserlerinde c-erbB2 ve c-myc genlerinde amplifikasyonlara sık rastlanır. Benign meme hastalıklarında ise, amplifiye olmuş kromozom bölgesinde yer alan hiçbir onkogen tanımlanmamıştır. Onkogen amplifikasyonları in situ duktal karsinom evresinde ortaya çıkar. Tümör supresör genlerin, özellikle kalıtsal meme kanserlerinin başlangıcında (p53, BRCA1-2) ve gelişiminde (p53, Rb-1, PTEN, MSH2/MLH1) önemli olduğu belirtilmektedir. (48,50,51)

2.6. METASTAZ PATOGENEZİ:

Kanser hastalarında metastaz gelişmesi hayatı tehdit eden en önemli durumlardan biridir. Neoplazm ilk geliştiği bölgede invaziv hale geldiğinde vasküler veya lenfatik yolla hızla yayılmaktadır. İnvazyon ve metastaz, bası ve yıkım ile normal organ fonksiyonlarını bozmaktadır. Bu nedenle kanser hastasında, metastazın saptanması önemlidir. Metastatik hastalığı olanlar, genellikle kanserin yayılmasına ve daha az oranda da sitotoksik ilaçların yan etkilerine bağlı olarak kansere yenik düşmektedir (52).

Metastaz oluşumu için gerekli basamaklar birbirine benzerdir (53). Metastaz oluşumu için gerekli basamaklar özetle şu şekildedir.

A. Ekstrasellüler matriks invazyonu,

1. Tümör hücrelerinin birbirinden ayrılması
2. Matriks komponentlerine tutunma
3. Ekstrasellüler matriksin yıkımı
4. Tümör hücrelerinin göçü

B. Vasküler yayılım ve sekonder odağa yerleşim

2.7. TÜMÖR ANJİOGENEZİ:

Yeni damar oluşumunda vaskülogenez ve anjiogenez olmak üzere iki tip sistem söz konusudur. Embriyonun major kan damar ağını oluşturan ve anjioblastların farklılaşması ile ortaya çıkan primordial vasküler ağ oluşumuna vaskülogenez denir (54). Anjiogenez ise, varolan damar ağından yeni kan

damarlarının oluşturulması sürecidir (55). Angiogenez oluşumu, angiogenezi uyaran VEGF, asidik ve bazik fibroblast büyüme faktörleri (aFGF bFGF), anjiopoetin-1, tümör nekrozis faktör (TNF), hepatosit growth faktörü (HGF) gibi proteinler ile, angiogenezisi baskılayan faktör VIII kollajen, trombospondin, fibronektin, α , β , γ interferon (IFN) gibi faktörler arasındaki denge ile düzenlenmektedir (56,57) Kanser dokusunun birkaç milimetrelik büyüklüğe ulaşmasını takiben daha da büyümesi için yeni damar desteğine ihtiyacı vardır. Angiogenez bu nedenle tümör büyümesi ve yayılımı için şarttır (58,59). Tümör büyümesi ve metastaz angiogeneze bağımlıdır. Tümör hücreleri angiogenik fenotipe dönüşümü başlattıklarında transformasyon meydana gelmekte, TNF, VEGF, TGF- β ve bFGF gibi neovaskülarizasyonu uyaran faktörler üretilmektedir. Bu faktörler, aynı zamanda, matriksin kendisinde bulunmakta ve tümör hücreleri yoluyla mobilize olabilmektedirler. Bir tümör, büyümesi için yeni kapillerlerin oluşumunu sürekli uyarmak durumundadır. Böylece, tümörün içinde gömülü bulunan yeni kan damarları, tümör hücreleri için kapı oluşturmakta, bunlar da kan dolaşımına girip karaciğer, akciğer veya kemik gibi uzak organlara metastaz yapmaktadır (60).

2.8. TÜMÖR BELİRLEYİCİLER

Serumda bulunan tümöre bağlı antijenler tümörün biyolojisini ve tümör yükünü göstermesi açısından önem taşırlar. Tümör belirleyicilerini dokuda belirlemek dokunun elde edilmesindeki zorluktan dolayı daha güçtür. Tümör belirleyicilerinin yardımcı parametre olarak klinikte kullanılmaları gereklidir. Meme kanseriyle ilişkili pek çok tümör belirleyici mevcuttur. Genel anlamda en çok kullanılan belirleyiciler karsinoembriyonik antijen (CEA), doku polipeptit antijen (TPA), müsin benzer yüksek molekül ağırlıklı glikoprotein ailesi ve bu ailenin ürünleri (CA 15-3, CA 549), meme kanseri müsin antijeni (BCM), memeli serum antijen (MSA), müsinöz karsinoma antijen (MCA) ve CA 27.29'dur (62-63). Son yıllarda bu belirleyicilere peptit büyüme faktörü ve onkogen ürünlerini de eklemek mümkün olmuştur. Kanseri hastalarda serumda bulunan tümör belirleyicilerin düzeyleri normal ve sağlıklı insanlara oranla daha yüksektir. Belirleyicilerin tayini tedavi kararının verilmesinde

yardımcı olurken tüm yaşam süresi, hastalıksız yaşam süresi, hayat kalitesi açısından da klinikte önemlidir (61, 62).

2.8.1. Tarama

Meme kanseri tarama sonucu ölüm oranı düşürülebilen pek az hastalıktan biridir (63-65). Mamografi ile yapılan taramalar mortaliteyi yani ölüm oranını 10 yılda % 30'dan % 20'ye düşürmüştür. Mamografi en yüksek sensitivite ve spesifisiteye sahip radyolojik bir testtir. Serumda bulunan tümör belirleyicilerden hiçbirisi bu hassasiyete sahip değildir. Örneğin, MSA'nın sensitivitesi erken evre meme kanserinde en yüksek % 68 olarak bulunmuştur (66). Buna karşılık MSA'nın spesifisitesi çok düşüktür ve yalancı pozitiflik oranı çok yüksektir (67). Serumdaki antikorların tümöre bağlı antijenlere cevabını belirlemek mümkün olmasına rağmen, rutin tarama testi olarak kullanılması için daha özgün belirleyicilere ihtiyaç vardır. Çünkü bilinen belirleyiciler dokuya spesifik değildir ve selim durumlarda da artış gösterirler (61).

2.8.2. Tanıda kullanım

Mamografi ile tarama esnasında bazı şüpheli anormallikler görülebilir ve bunların oranı % 25'dir (69). Böyle durumlarda meme sonografisiyle birlikte tümör belirleyiciler selim ve habis hastalığın ayrımında büyük önem taşır. Tümör belirteci dokuda yeri bilinmeyen habis durumlarda yardımcı olabilir; özellikle patolojik olarak bildirilen adenokarsinomalarda daha yararlıdır. Fakat meme kanserini diğer tip epitelyal tümörlerden ayıracak pek az tümör belirleteci vardır (11,61,70).

2.8.3. Prognozda kullanım

Adjuvan sistemik tedavi meme kanserinde nüks riskini tamamiyle ortadan kaldırmamakla birlikte % 25 oranında azaltmaktadır (72). Birçok çalışmada yüksek pre ve postoperatif CEA ve/veya CA 15-3 gibi müsin benzeri tümöre bağlı antijenlerin kötü prognoz göstergesi olduğu bildirilmektedir. Örneğin, Colomer ve ark. postoperatif CA 15-3 düzeyleri 40

U/mL olan hastalarda hastalıksız yaşam süresinin normal düzeyde CA 15-3 seviyeleri olan hastaların yarısı kadar olduğunu bildirmişlerdir. CA 15-3 düzeyleri üst sınır olan 35 U/mL'nin altındaki hastalarda hastalıksız yaşam süresi 25 ay iken, yüksek olanlarda bu süre 18.3 ay olarak bulunmuştur (71,73). CEA ile benzer çalışma yapılmış hem hastalıksız yaşam süresinin, hem de tüm yaşam süresinin düştüğü bildirilmiştir (74).

İleri evre primer meme kanserli ve metastatik meme kanserli hastalarda CA 15-3 serum seviyesi ile tümör yükü ve tümörün biyolojik davranışı arasında ilişki olduğu bilinmektedir. Halen uygulanan sistemik tedaviler metastatik meme kanserli hastaların yaşam sürelerini uzatabilmek için yeterli değildir (75). Tümör belirteçlerinden bazılarının, örneğin c-erbB2 (HER-2 / neu) geninin ürünü olan proteinin (Neu Related Protein=NRP) serumdaki yüksek değerleri metastatik meme kanserli hastaların % 40'ında mevcuttur (76,77). NRP'nin yüksek düzeyleri hormon tedavisi uygulanmış hastalarda kötü prognozla ilişkilidir (78-80). Bu veriler HER-2/neu/c-erbB2 geninin dokuda aşırı ekspresyonu ile hormon tedavisine direnç arasındaki bağlantıyı açıklayabilir (81,82).

Bazı anjiogenik faktörler [örneğin, temel fibroblast büyüme faktör (bFGF)] meme kanserli hastaların kan ve idrar örneklerinde yüksek düzeylerde bulunmaktadır (83-85). Tümörün anjiogenik durumunun belirlenmesi tümörün progresif olup olmadığının ayırımına yardımcı olabilir. Bu araştırmalar direkt etkili tedavi arayışlarındaki çalışmaları yoğunlaştırmaktadır ki anti HER-2 tedavisi veya angiogenesis inhibitörleri örnek olarak verilebilir (61).

2.8.4. Takipte kullanım

Primer invaziv meme kanserli hastalarda nüks riski tedaviden sonra en sık ilk 2-3 yıl içindedir (86,87). İnfiltratif meme kanserinde semptomların ortaya çıkmasından veya metastazın fiziksel veya radyolojik olarak belirlenmesinden önce CEA ve/veya CA 15-3 gibi serumda bulunan tümör belirleyicilerinin yüksek değerleri dikkat çekicidir (74,88-91). Genellikle meme kanserli hastaların % 40-50'sinde metastazın radyolojik olarak belirlenmesinden 3-18 ay öncesinden yüksek tümör belirleyici düzeyleri

gözlenmiştir. Toksik sistemik tedavi ile asemptomatik metastazların tedavisi artan yaşam süresi ile ilişkili değildir ve toksik tedavi palyatif tedavi olarak düşünülebilir (92).

Metastatik meme kanserli hastalara palyatif tedavi olarak operasyon, radyasyon, hormon tedavisi ve kemoterapi gibi tedaviler uygulanmaktadır (75). Bu tedavilerin yararı olduğu kadar toksik olması gibi riskleri de vardır. Hastanın genel durumuna ve tedaviye cevaba göre tedaviye devam edilebilir, tedavi rejimi değiştirilebilir veya tedaviye son verilebilir. Metastatik meme kanserli hastaların % 75–80'inde yüksek serum CA 15-3 düzeylerine rastlanmıştır. CA 15-3 diğer klinik parametrelerle birlikte hastaların takibinde yararlanılabilecek bir belirteçtir. CEA ile mukayese edildiğinde CA 15-3 sensitivitesi ve spesifisitesi açısından metastatik meme kanserli hastaların takibinde tercih edilmesi gereken bir belirteçtir. Bu görüş 1996 yılında yayınlanmış olan "American Society of Clinical Oncology (ASCO) Practice Guideliness of Tumor Marker"da da doğrulanmıştır (61,93).

2.8.5. Kanser Antijen 15-3 (CA 15-3, MUC1)

Bugüne kadar yapılmış çalışmaların verilerine dayanılarak CA 15-3'ün meme kanserinde tarama, tanı, evreleme veya primer tedavi takibinde yetersiz olduğu söylenebilir (93). Primer tedavi takibinde artan CA 15-3 değerleri "spike" adı verilen bir fenomeni göstermektedir (94,95). Eğer bu tedavi esnasındaki artış tedavi sonrasında da devam ederse hasta metastaz veya nüks yönünden detaylı araştırılmalıdır. Aynı zamanda yüksek kalan CA 15-3 değerleri tedavinin başarısızlığı yönünden de önem taşır. CA 15-3 tümör hücrelerinin periferik kana dökülmesi sonucu serumda artan müsin benzeri glikoprotein düzeylerinin belirlenmesiyle tayin edilebilir. CA 15-3'ün serum düzeyleri günümüzde daha yaygın olarak kullanılan kemilüminesans yöntemin yanında ELISA veya sandviç radyoimmunoassay (RIA) yöntemiyle de belirlenebilir. ELISA yönteminde DF3 ve 115-D8 antikorları kullanılır. Serum 115-D8 antikoruyla kaplı polisteran topucuklarla inkübasyona bırakılır. Bu antikor glikoproteinin antijenik bölgelerine bağlanır. Yıkama sonucu bağlanmamış antijen atılır. Enzimle işaretleme yapılır, substratla enzim

renklendirilir ve bu rengin yoğunluğu spektrofotometrede ölçülür. RIA yönteminde ise işaretleme iyot 125 ile yapılır. Bağlanan radyoaktivite miktarı gama sayacında okunarak CA 15-3'ün serumdaki konsantrasyonu belirlenir. ELISA yönteminde oluşan renk reaksiyonunun koyuluğuna, RIA yönteminde ise bağlanan radyoaktivitenin dozuna bağlı olarak serumda CA 15-3 düzeylerinin yüksek veya düşük olduğu bulunur.

CA 15-3 serum kanser antijenidir; daha çok meme kanserli hastalarda görülmekle beraber gastrointestinal, akciğer ve jinekolojik tümörlerde de yüksek değerleri bildirilmiştir (68). Erken evre meme kanserli hastalarda CA 15-3 düzeyleri düşüktür. Bu yüzden tarama ve tanıda yararlanılabilecek bir tümör belirteci değildir. En yaygın kullanım alanı metastatik kanserin tedavisini takip sürecindedir. CA 15-3 hiçbir zaman tek başına tedaviye cevabı belirleyecek bir belirleyici değildir. Sadece tedavinin başarısı veya başarısızlığı açısından ek parametre olarak değer taşımaktadır. Yapılmış çeşitli araştırmalar sonucunda yüksek CA 15-3 düzeylerinin hastalığın artan evresiyle ilişkili olduğu bildirilmiştir (74,75,89,91). Evre I hastaların % 9'unda, evre II meme kanserli hastaların % 19'unda yüksek CA 15-3 düzeyleri mevcuttur. Evre III'de bu oran % 38 iken evre IV' de % 75' e çıkmaktadır. Düşük CA 15-3 düzeyleri ise metastaz varlığını elimine etmez ve CA 15-3 düzeyi ile evreleme yapılamaz (96). Ameliyat öncesi yüksek olan CA 15-3 düzeyleri prognozla ilişkili değildir (97,98).

Çok yüksek CA 15-3 düzeyleri ileri evre hastalık göstergesi olarak kabul edilebilir ve üst sınırın 5-10 katı CA 15-3 düzeyleri klinisyene karaciğer veya kemik metastazlarını düşündürebilir (73,99,100). Ayrıca artan metastaz sayısı ile CA 15-3 düzeylerinin yüksekliği doğru orantılıdır. Bazı araştırmacılar kemik metastazlarının belirlenmesinde CA 15-3'ün hassas bir belirleyici olduğunu ileri sürmektedirler (73,99).

Asemptomatik bir toplumda kanser taraması yapabilmek için faydalanılacak tümör belirleyicilerden beklenen en önemli özellik erken evre de yükselmesi ve sağlıklı kişilerde yüksek düzeylerinin bulunmamasıdır. CA 15-3'ün sağlıklı kişilerde % 5-6, hepatik kökenli selim hastalıklarda % 30 oranında yalancı pozitiflik gösterdiği bilinmektedir (74). 1220 kişilik selim hastalığı olan

bir grupla yapılan çalışma sonucunda 38 hastada önemli düzeyde yüksek CA 15-3 değerine rastlanmıştır (74). Bu spesifik olmayan yüksek düzeyler yalancı pozitif sonuçlar verdiğinden CA 15-3'ü tarama ve tanıda kullanmak mümkün değildir. Meme kanseri operasyonundan sonra hastayı izlemek için CA 15-3'ün kullanılıp kullanılmayacağını belirlemek için pek çok çalışma yapılmıştır (74,90,91,99,101-103). Yapılan bir çalışmaya 1672 meme kanserli hasta dahil edilmiş, CA 15-3 düzeyleri belirlenmiş ve sonuçta 352 hastada yüksek CA 15-3 değeriyle birlikte nüks saptanmıştır. Nüks saptanan 352 hastanın 235 (% 67)'sinde nüksten önce ve sonra yüksek CA 15-3 düzeyleri mevcuttur. Nüksten önce 1320 hastayla yapılan çalışmada, 1218 (%90) meme kanserli hastada CA 15-3 düzeyleri normal sınırlar içindedir. Safi ve ark. 205 hastanın 149 (% 73)'unda nüksle birlikte yükselen CA 15-3 düzeyleri saptamışlardır. 466 hastada ise nüks saptanmadan önce % 6 oranında yalancı pozitiflik belirlenmiştir (91). Bu çalışmaların sonuçlarına göre nüksü olan hastaların % 67'sinde ve nüks saptanmayan hastaların % 8 'inde yüksek CA 15-3 düzeyleri mevcuttur. CA 15-3'ün serumda yükselmesiyle, nüksün klinik olarak saptanması arasında geçen süre 2-9 ay arasında değişmektedir.

Meme kanserli hastalarda CEA ile CA 15-3 karşılaştırılmasının sonucunda CA 15-3'ün hassasiyeti CEA'ya oranla daha yüksektir (104,105). CA 15-3 ileri evre hastalıkta daha da hassastır. Erken evre hastalıkta, lokal nükslerde ve tek metastazda hem CEA'nın, hem de CA 15-3'ün hassasiyeti düşüktür (73,91). Evre I'de CA 15-3'ün artış insidansı % 9, CEA'nın ise % 10'dur. Evre II'de ise bu oran her iki belirleyici için % 19'dur. Bütün araştırmaların benzeri evre yerine tümör büyüklüğü göz önüne alınarak yapıldığında yine aynı sonuçlar elde edilmiştir (106). Verilere dayanılarak nüksün saptanmasında, küçük hacimli metastazlarda CA 15-3 ve CEA'nın hassasiyetinin düşük olduğu ve erken nüksün belirlenmesinde doğru bir belirleyici olamayacağı görüşüne varılmıştır.

CA 15-3 tümör belirleyicisi yardımıyla postoperatif meme kanserli hastaların izlenmesinde üç büyük engel vardır. Bunlardan birincisi ve en önemlisi erken evre hastalıkta mikrometastazların belirlenmesinde yeterli oranda hassas olmamasıdır. Postoperatif periyotta belirleyici düzeyindeki artış

sadece tümör büyüklüğü ile ilişkilidir. Bu hastalarda nüksün erken belirlenmesi mümkün değildir. İkinci büyük engel, nüksün klinik olarak belirlenmesiyle belirleyicinin yükselmesi arasında geçen sürenin 2-9 ay gibi uzun bir süre olmasıdır. Bu süre zarfında tedavi kararında gecikmeler olabilir. Nüks belirlenmiş hastaların % 30'unda normal CA 15-3 düzeyleri bildirilmektedir. Buna karşılık nüksü olmayan hastaların % 8'inde ise yalancı pozitif olarak yüksek CA 15-3 düzeyleri mevcuttur. Meme kanserli hastaların nüks takibi her üç ayda bir ve median 51 ay olarak yapılmış, bu süre boyunca en az 17 adet CA 15-3 testi yaptırılmıştır. Bu yöntemle CA 15-3 artışının belirlendiği sürede her iki nüksten biri gözden kaçmıştır. Buna karşılık yalancı pozitif yüksek değerler elde edilmiştir. Bütün bu yalancı pozitif testlerin maliyeti de hastaya yansımıştır (91). Bu üç büyük engel gözönüne alındığında postoperatif hasta takibinde CA 15-3'den yararlanılması verimli bir yol değildir.

Metastatik meme kanserli hastaların takibinde ise en çok ihtiyaç duyulan parametre CA 15-3'dür. Bu konuda yapılan 11 çalışmadan elde edilen veriler özetlendiğinde, tedaviyi takip süresinde hastaların % 66'sında düşen CA 15-3 düzeyleri saptanmıştır. Hastalığı stabil kalan hastaların % 73'ünde stabil CA 15-3 düzeyleri ve ilerlemiş hastalıkta % 80 oranında yükselmiş CA 15-3 düzeyleri bulunmuştur (107-110). Bazı araştırmacılar CA 15-3'ün değerindeki % 25' lik artışı önemli bir değişiklik olarak kabul etmektedirler. Bütün bu görüşlere göre klinik bulgular gözardı edilmeksizin, CA 15-3'ün değişen değerleriyle metastatik kanserin tedaviye cevabı arasında ilişki mevcuttur. Pek çok araştırma CA 15-3'ün tedavi takibinde yararlı olduğunu bildirmesine karşın vakaların %34'ünde gözlemlendiği gibi yalancı negatiflik oranı yüksek olduğundan etkili tedavi seçiminde yanıltıcı rol oynar. CA 15-3 tedavi takibinde klinisyene fayda sağlamaz. Sadece klinik olarak değerlendirilmesi zor olan kemik metastazlarının varlığında hastanın genel durumunun değerlendirilmesinde yardımcıdır (93). Halen metastatik meme kanserli hastaların tedaviye cevabının takibinde yükselen CA 15-3 düzeyleri klinisyenlere yardımcı parametre değerini korumaktadır (61).

2.8.6. Kanda Dolaşan Tümör Hücreleri (Circulating tumor cell)

Kanda dolaşan serbest tümör hücrelerinin (KDTH) periferel kandaki varlığı yüz yıldır bilinmektedir. Buna rağmen KDTH'nin meme kanserindeki rolünü anlamak için yapılan çalışmalar son birkaç yıldır hız kazanmıştır (111). KDTH'nin kanda tespiti epitel kökenli olan metastatik kanserler için uygundur (112). FDA tarafından onay alan kanser türleri meme, prostat ve overdir. Fakat kolorektal ve mesane tümörlerindeki önemini tespit etmek için de yapılan çalışmalar vardır.(113,114)

KDTH'lerinin varlığı birkaç yöntemle tespit edilebilmektedir. En çok kullanılan epitel hücre yüzeyine veya kanser antijenlerine spesifik immunomanyetik boncuklarla kaplı antikorların KDTH yüzeyine bağlanmasıyla yapılan ayıklama metodudur. İşaretli hücreler ayıklandıktan sonra immunositokimyasal olarak veya sitokeratin ve tümör antijen varlığı, gen ekspresyon analizi kullanılarak KDTH'leri tespit edilebilir. Alternatif bir yol olarak, KDTH'lerinin pozitif seçimi yapılır. Lökositler ortamdan uzaklaştırılır. Kalan pozitif hücreler immunositokimyasal olarak veya RT-PCR (reverse transcriptase) metodu kullanılarak gen ekspresyon analizi ile tespit edilir (115). KDTH sayısını immunositokimyasal olarak tespit eden Onco-Quick ve Cellsearch System olarak bilinen benzer yöntemlerin duyarlılıklarını araştıran bir çalışmaya 61 metastatik karsinomlu, 15 sağlıklı gönüllü dahil edilmiş, Cellsearch System'in % 54, Onco-Quick ise % 23 duyarlılıkla KDTH'lerini tespit edebildiği gösterilmiştir (116).

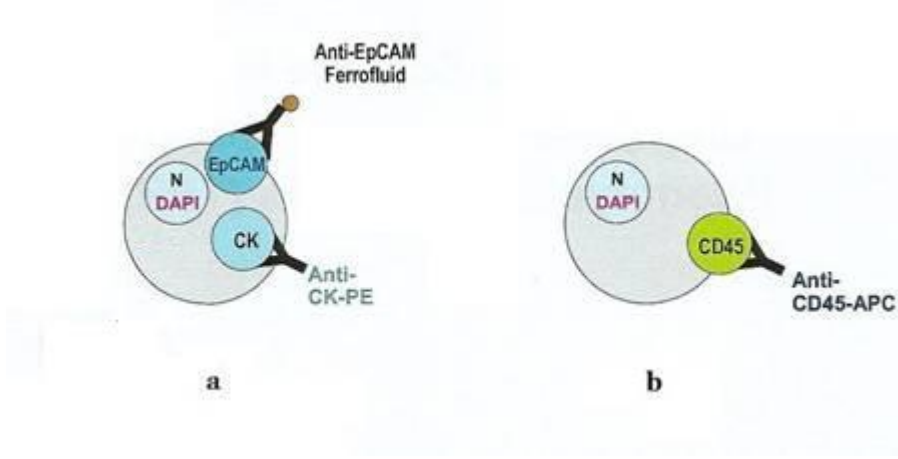
KDTH'lerinin immunositokimyasal işaretlenmesinde antikor bağlı ferromanyetik boncuklar kullanılır. Bu antikorlar EpCAM (epithelial cell adhesion molecule) denilen hücre yüzey moleküllerine bağlanır. EpCAM 'in primer ve metastatik meme kanserlerinde normal hücrelere göre 100 ila 1000 kat daha fazla eksprese edildiği gösterilmiştir (117). Bu yüzey molekülünün kanser hücrelerinde daha fazla bulunması, ferromanyetik antikorların bu hücrelere daha fazla affinite göstermesini sağlamakta ve tespitini kolaylaştırmaktadır.

KDTH'lerinin hücre morfolojisini ortaya çıkarmada sitokeratin boyalardan faydalanılır. Sitokeratin 8, 18 ve 19'un meme kanseri hücrelerinin dış yüzeyine eksprese edildiği hücre kültür çalışmalarıyla gösterilmiştir. Normal meme hücrelerinde ise bu sitokeratinlerin varlığı saptanamamıştır (118).

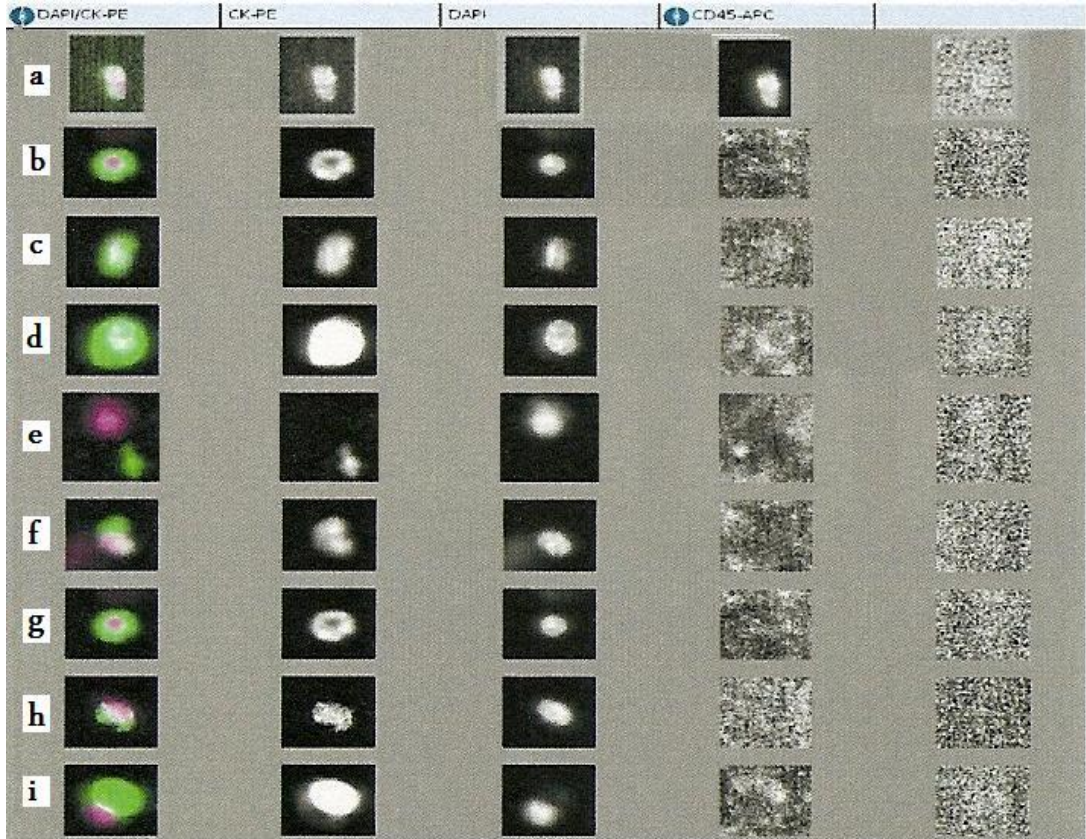
İmmunositokimyasal olarak bu sitokeratinlere spesifik floresan boyalar kullanılarak immunofloresan mikroskopta kanserli hücrelerin morfolojileri ortaya konabilmektedir. EpCAM ve sitokeratin antikorlarının birlikte kullanımı KDTH tespitindeki duyarlılığı arttırmıştır (119).

KDTH'lerinin tespitinde apoptotik hücrelerin varlığı herhangi bir değer arz etmemektedir. Bu yüzden hücre çekirdeğinin bozulmamış hücre morfolojisiyle birlikte gösterilmesi gerekmektedir. Hücre çekirdeğini boyamada DAPI (4'6-diamino 2 phenylindole 2) denilen özel çekirdek boyası kullanılmaktadır. Boyama sırasında lökositler, KDTH'leri ile benzer boyanarak karışabilmektedir. Lökositlerin dışlanması için lökosit ortak antijen (LCA) olarak da bilinen CD45 yüzey spesifik antijenine karşı geliştirilmiş antikor kullanılarak boyama yapılır. Boyama işlemlerinin sonunda KDTH'leri sitokeratin (CK 8,18,19) ve DAPI ile pozitif boyanan CD45 ile boyanmayan hücrelerden otomatize immunfloresan mikroskopla seçilir (Şekil 1-2).

Budd ve arkadaşlarının çalışmasında, metastatik meme kanserli hastalarda progresyonsuz sağkalım süresi (progression free survival) ile genel sağkalım (overall survival) sürelerini değerlendirmede CellSearch sistem ile tespit edilen KDTH sayısının görüntüleme yöntemlerinden daha değerli olduğu ortaya konmuştur (4). KDTH'lerinin tespit edilmesi radyolojik görüntüleme yöntemlere göre (direk grafi, bilgisayarlı tomografi, manyetik rezonans) daha erken sonuç veren, daha güvenilir ve tekrarlanabilir bir yöntemdir (120). Cristofanilli ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada metastatik meme kanserli hastalarda KDTH sayısı 5 ve üzeri olan hastalar ile 5'in altında olan hastaların progresyonsuz sağkalım süresi (progression free survival) ile genel sağkalım (overall survival) süreleri karşılaştırılmış. KDTH sayısı 5 ve üzeri olan hastaların düşük olanlardan anlamlı derecede düşük sağkalım sürelerine sahip olduğu görülmüş (121). KDTH'leri metastatik meme kanserlerinde kuvvetli bir prognostik belirteçtir. Kanda kısa sürelerde apoptozisle parçalanmaları ve ölçüm duyarlılığının düşük olması bu parametrenin kullanımında dezavantaj oluşturabilir (116,124). KDTH sayısı yüksek hastaların prognozunun kötüye gideceği yönünde öngörü sağlanması, bu hastaların tedavi protokollerini yönlendirmekle beraber hastaların sağkalım sürelerini de uzatmada önemli bir tümör takip belirteci olabileceğini düşündürmektedir.



Şekil 1. a) Kanda dolaşan tümör hücresi; anti-EpCAM (epithelial cell adhesion molecule antikor), anti-CK (sitokeratin 8,18,19 antikor), DAPI (hücre çekirdeği boyası)



Şekil 2. İmmunfloresan mikroskopta lökosit (a) ve KDTH (b.c.d.f.g.h.i) görünümü

3. GEREÇLER VE YÖNTEM

3.1. GEREÇLER

Bu çalışmaya İzmir Atatürk ve Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Onkoloji Polikliniğinde ayaktan takip edilen ve son 1 aydır kemoterapi tedavisi almamış 30 metastatik meme kanserli hasta dahil edilmiştir.

Bu çalışmada metastatik meme kanserli olan hastaların metastazda rolü olduğu düşünülen kanda dolaşan serbest tümör hücre sayısı ile CA 15-3 düzeylerinin belirlenmesi ve birbirleriyle kıyaslanması amaçlandı.

Hastaların poliklinikte kayıtlı dosyaları tarandı. Demografik verileri(yaş,aile öyküsü,sigara), patolojik tanı, tümör lokalizasyonu, östrojen resptörü(ER), progesteron reseptörü(PR), p-53, c-erbB2, Ki-67, histolojik derece, aldıkları tedavi ve metastaz yerlerine ait bilgiler kaydedildi.

Kreatinin klirensi <50 ml/dk olan hastalar, enfeksiyonu kesin ispat edilmiş hastalar, son 1 hafta içinde kan transfüzyonu yapılan hastalar, gebelik ve meme kanseri dışı ek hastalığı olan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Dışlama kriteri bulunmayan ve araştırmaya katılmayı kabul eden kişilere etik kurul raporuna uygun olarak çalışma hakkında bilgi verildi ve onayları alınarak çalışmaya dahil edildi.

3.2. ARAÇLAR

3.2.1. Cihaz ve Aletler

10 ml ‘ lik vakumlu sitratlı tüp: CellSave® Preservative Tube, Immunicon, USA

8.5 ml’ lik vakumlu jelli tüp: BD Vacutainer, UK

Santrifüj: Hettich Rotina 35, Sigma Ultrasantrifüj

Otomatik pipetler: Eppendorff, Gilson, Rainin

Otoanalizör: Advia Centaur, Bayer firması, Almanya

İmmunositokimyasal boyama sistemi: CellTracks® AutoPrep System, Immunicon, USA

İmmunofloresans görüntüleme sistemi: CellTracks® Analyzer II, Immunicon, USA

3.2.2. TİCARİ KİTLER

Circulating Tumor Cell Kiti

Kit: CellSearch™ Circulating Tumor Cell Kit, Immunicon, USA

Kontrol: CellSearch™ Circulating Tumor Cell Control Kit, Immunicon, USA

CA 15-3 (MUC-1) kiti

Kit: ADVIA Centaur BR kit, Bayer firması, Almanya

Kalibratör: Calibrator G, Siemens, USA

Kontrol: Tumor Marker Plus, Siemens, Australia

3.2.3. HİSTOKİMYASAL BOYALAR

Progesteron reseptörü (PR)

Kit: Progesterone Receptor SR2, Thermo Scientific, USA

Tampon: Sitrata

Dilüsyon miktarı: 1/400

Östrojen reseptörü (ER)

Kit: Estrogen Receptor Ab11, Thermo Scientific, USA

Tampon: Sitrata

Dilüsyon miktarı: 1/500

P 53 süpresör gen

Kit: p53 AB5, Thermo Scientific, USA

Tampon: Sitrata

Dilüsyon miktarı: 1/200

c-erbB2 onkogeni

Kit: c-erbB2/Her-2/neu AB-17, Neomarkers, USA

Tampon: Sitrata

Dilüsyon miktarı: 1/300

Ki-67 proliferasyon belirleyicisi

Kit: Monoclonal Mouse Anti-Human Ki-67 Antigen Clone MIB-1, DAKO, USA

Tampon: Sitrat

Dilüsyon miktarı: 1/150

3.3. Gruplar: Gruplar östrojen reseptörü, progesteron reseptörü, c-erbB2 onkogen, p53 tümör süpresör gen, pozitif ve negatif olanlar şeklinde oluşturuldu. Histolojik derecelendirmelerine göre 2 ve 3 olarak ikiye ayrıldı. Ki-67 proliferasyon belirteci gruplandırması ise % >10 ve % ≤10 şeklinde yapıldı. KDTH'nin prognostik faktörlerle anlamlılık testi değerlendirilmesinde de hücre sayısı >5 ve ≤5 olacak şekilde gruplandırma yapıldı.

3.4. Numunelerin toplanması:

En son bir ay öncesinde kemoterapi almış hastaların kanları kanda dolaşan tümör hücrelerinin sayımı için 10 ml'lik CellSave Preservative Tube denilen özel tüplere alındı. 7.5 ml tam kan 6.5 ml buffer ile karıştırılıp, 2450 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj edilen kanlardan KDTH sayımı 72 saat içinde immunofloresans yöntemle yapıldı. Serum CA 15-3 düzeyleri için kanlar 8.5 ml'lik vakumlu jelli düz kan tüplerine alındı. 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Advia Centaur cihazında kemilüminesans yöntemle çalışıldı.

3.5. KDTH ölçümü test prensibi:

Santrifüj edilmiş numuneler CellTracks® AutoPrep cihazına uygun şekilde yerleştirilir. Üstte kalan plazma ve buffer tabakası aspire edilir. Anti-EPCAM ferrofluidler eklenir. Belli bir inkübasyondan sonra ferrofluidle kaplanmış hücreler manyetik alan içinde tutulur. Antikorla bağlanmamış hücreler ve kalan plazma aspire edilir. Daha sonra nükleik asit boyası olan 4',6-diamidino-2-fenylindole (DAPI), hücre çeperini boyayan anti-sitokeratin ve lökositlerin boyanmasını sağlayan anti-CD45-APC permeabilizasyon buffer ile birlikte immunomanyetik işaretleme için eklenir. İnkübasyondan sonra fazla boya ve işaretlenmemiş hücreler aspire edilir.

Son örneğe hücre fiksativ eklenir ve hücreler fiks edilir. Boyama işlemleri bitiminde elde edilen numune CellTracks® MagNest Cell Presentation Device içine alınır. Elde edilen numune en az 20 dakika en fazla 24 saat karanlık ortamda inkübe edilir. Son olarak numune otomatize immunofloresans mikroskop olan CellTracks® Analyzer II cihazında okutulur ve görüntülenen hücrelerin ayrımı yapılır. Kanda dolaşan tümör hücre seçiminde dikkat edilecek hususlar, hücrenin en az 4 µm çapında yuvarlak veya oval morfolojili, görünebilir nükleuslu, sitokeratinle pozitif boyanmış, CD45 ile negatif boyanmış olmasıdır.

3.6. CA 15-3 ölçümü test prensibi:

Santrifüj edilmiş numuneler ADVIA Centaur hormon otoanalizörüne yarışmalı kemilüminesans immünölçüm yöntemi ile çalışılmak üzere raklara dizilerek yüklenir. Cihazda kullanılan kit (Lite Reagent) akrininum ester ile işaretlenmiş CA 15-3'e özgül monoklonal fare antikoru içermektedir. Mab 27.29 olarak adlandırılan antikor MUC-1 gen ürününün tekrar dizilerinde bulunan peptit epitoplarına spesifik olarak bağlanma özelliğine sahiptir. Katı faz paramanyetik partiküllerle kovalent bağlı pürifiye CA 15-3 içermektedir. Serum eklendikten sonra akrininum ester kaplı antikorlar, serum CA 15-3'ü ile katı faz yüzeyinde bulunan pürifiye 15-3'e bağlanmak için yarışır. Reaksiyon inkübasyonu 37°C'de 7.5 dakika sürer. İnkübasyon sonrası yapılan yıkama işlemlerinden sonra asit ve baz reaktiflerinden eklenir ve kemilüminesans reaksiyonun başlatılması sağlanmış olur. Lüminesans ışık katı faza bağlı pürifiye CA 15-3 ile akrininum ester kaplı antikor birleşmesi sonucu oluşmaktadır. Oluşan ışık miktarı ile CA 15-3 konsantrasyonu ters orantılıdır. Reaksiyonun sonlandırılmasıyla okuma işlemi ile miktar tayini yapılır.

3.7. İmmünohistokimyasal Yöntem:

İHK yöntem, monoklonal özgül antijenik saptama özelliğine sahip bir belirleyicinin, hücrelerin yüzeyine bağlanması temeline dayanmaktadır. Çalışmamızda tümör hücrelerinde östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR), c-erbB2 onkogen, p-53 supresör gen, Ki-67 proliferasyon belirteci varlığı İHK yöntemle gösterildi. ER için Estrogen Receptor Ab11 (Thermo Scientific, USA) 1/500 dilüsyonda, PR için Progesterone Receptor SR2 (Thermo Scientific, USA)

1/400 dilüsyonda, p53 supresör gen için p53 AB5 (Thermo Scientific, USA) 1/200 dilüsyonda, c-erbB2 onkogen için c-erbB2/Her-2/neu AB-17 (Neomarkers, USA) 1/300 dilüsyonda, Ki-67 proliferasyon belirteci için Monoclonal Mouse Anti-Human Ki-67 Antigen Clone MIB-1 (DAKO, USA) 1/150 dilüsyonda kullanıldı. Bu yöntemde % 10'luk tamponlanmış formalinde tespit edilmiş ve parafine gömülmüş doku örneklerinden 5 mikrometre kalınlığında hazırlanan kesitler polilizin kaplanmış lamalar üzerine alındı. Boyasız kesitler 60°C'lik etüvde bir gece bekletildi. İHK boyanma Strept-Avidin-Biotin-Peroksidaz boyanma yöntemiyle yapıldı. Uygulamada şu aşamalar izlendi: Kesitler ksilolde 20 dakika bekletilerek deparafinize edildi. Daha sonra %96'lık alkolden başlayarak % 70'lik alkole kadar olan serilerden geçirilerek rehidrate edildi. Kesitler pH 7.2 olan TRİS (Hyromethyl-amino methan) solüsyonunda 5 dakika yıkandı. Lamlar antijeni açığa çıkaran özel kaplar içine mikrodalga fırında sitrat solüsyonu içinde 20 dakika süre ile kaynatıldı. Kesitler soğutulduktan sonra TRİS ile yıkandı ve dokuların çevresi sınırlayıcı kalemle işaretlendi. Lamlara %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) damlatılarak 5 dakika bekletildi. Bu uygulama ile endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. Lamlar TRİS ile yıkanarak ve üzerine bloke edici (nonimmün serum) (Blocking Solution, 30979693R, Califomia. USA) solüsyon damlatılıp 10 dakika bekletildi. Kesitler TRİS ile tekrar yıkandıktan sonra üzerine ER, PR, c-erbB2, p-53 ve Ki-67'nin her birinin protein solüsyonları damlatıldı ve oda sıcaklığında bekletildi. Kesitler TRİS solüsyonunda 5 dakika yıkandı. Kesitlere bağlayıcı biotinize sekonder antikor damlatıldı ve 15 dakika bekletildi. Kesitler TRİS solüsyonunda 5 dakika yıkandı. Kesitlere streptovidin peroksidaz solüsyonu damlatılarak 15 dakika bekletildi. Kesitler TRİS solüsyonunda 5 dakika yıkandı. Tüm kesitler zıt boyama sağlamak için Mayer's hematoksilende 5 dakika süreyle bekletildi. Çeşme suyunda yıkanan kesitler % 70'lik etil alkolden %96'lık alkol ve izopropil alkole kadar yükselen alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edilip ve şeffaflanma sağlamak amacı ile 20 dakika ksilolde bekletildikten sonra entellan (Merck) ile kapatıldı.

3.8. Histokimyasal sonuçların değerlendirilmesi:

Östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR), p-53 supresör gen, Ki-67 proliferasyon belirteci değerlendirilirken nükleer boyanma, c-erbB2

değerlendirilirken invaziv alanlarda sitoplazmik membran boyanması dikkate alındı. ER ve PR değerlendirilmesinde invaziv alanlar incelendi. Boyanmanın şiddeti (1+ zayıf, 2+ orta, 3+ kuvvetli) ve yüzdesi belirtildi. Az sayıda hücrede immün boyanma saptandığı zaman (% 5 ve altı değer) “negatif” deyimini yerine boyanma yüzdesi verildi. Bunun nedeni negatiflik sınırının değişken ve ne olduğu konusunun tartışmalı oluşudur. p-53’de boyanma şiddeti ve yüzdesi belirtildi. Ki-67 proliferasyon indeksini belirtmek için nükleer boyanmanın en fazla olduğu alanlar seçildi. Toplam 1000 hücre sayılarak boyanma yüzdesi hesaplandı ve raporda belirtildi. c-erbB2’nin değerlendirilmesinde 3+, 2+, 1+ ve negatif olarak skorlama yapıldı.

Skor 3: İnvaziv karsinom hücrelerinin en az % 30’unda tüm sitoplazmik membranı çevreleyen tarzda kuvvetli immün boyanma olması durumunda 3+ olarak değerlendirildi.

Skor 2: Benzer şekilde invaziv karsinom hücrelerinin en az % 10’unda sitoplazmik membranı tümüyle çevreleyen ancak orta şiddette boyanma var ise ya da % 30’undan daha az ama kuvvetli membranöz boyanma varlığında 2+ olarak değerlendirildi.

Skor 1: Hücre membranını çevrelemeyen, varlığı zor saptanan, tam membranöz olmayan boyanmalarda 1+ olarak değerlendirildi.

Skor 0: Hücrelerde immün boyanma negatif olarak değerlendirildi.

Skor 0 ve 1 immunohistokimyasal negatif anlamına gelmektedir. Skor 3 immunohistokimyasal olarak kuvvetli pozitifdir. Skor 2 immunohistokimyasal olarak şüpheli pozitif demektir. İn situ hibridizasyon ile doğrulaması gerekmektedir. Bu çalışmamızda skor 2’yi negatif sınıfında değerlendirdik.

3.9. Histolojik derecelendirmenin değerlendirilmesi:

Scarff-Bloom-Richardson derecelendirme sistemi kullanıldı. Histolojik derecesiyi saptarken, dikkat edilen üç ana özellik, hücrelerin bölünme hızı, borusal yapılar oluşturmuş kanser hücrelerinin yüzdesi, ve hücre büyüklüğünde, düzensizliğinde görülen değişimlerdi. Belirleme aşamasında, bu özelliklerin her birine 1 ile 3 arasında değer verildi (1 yavaş hücre çoğalmasını – 3 hızlı hücre çoğalmasını belirtir). Sonuç derecelendirmenin yapılabilmesi amacı ile bu üç kategoride alınan puanlar toplandı ve 3 ile 9 arasında değişen bir rakam elde edildi.

Borusal yapılar içinde bulunan kanser hücrelerinin yüzdesi	Puan
%75 ten daha fazla	1
%10 ile %70 arasında	2
%10 dan daha az	3
Hücre yapısında ve şeklinde olan değişiklikler	Puan
Küçük Düzgün Hücreler	1
Normal hücrelerden boy ve yapıda orta ölçekli farklılaşma	2
Belirgin farklılaşma	3
Hücre Bölünmesi (Mitosis Sayısı)	Puan
7 ye kadar	1
8 ile 14 arası	2
15 ya da daha fazla	3

Toplam sonucu 3, 4 ya da 5 olan tümörler birinci derece yada iyi farklılaşmış toplam sonucu 6 ya da 7 olan tümörler ikinci derece yada orta farklılaşmış, toplam sonucu 8 ya da 9 olan tümörler üçüncü derece ya da kötü farklılaşmış tümörler olarak adlandırıldı.

4. İstatistiksel Analizler

Araştırma verileri kodlanarak, bilgisayarda değerlendirildi ve istatistiksel analizleri SPSS ver. 16 programından elde edildi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma ($X \pm SS$) olarak kaydedildi. p değeri 0.05'den küçük olanlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

5. BULGULAR

Çalışma kriterlerine uygun olan 30 metastatik meme kanserli hasta çalışmaya dahil edildi. Hastaların tamamı kadındı ve yaş ortalamaları 50.8 ± 11.7 idi. Sigara alışkanlığı olan hasta sayısı 3 (%10), aile öyküsü olan hasta sayısı 5 (%16) idi.

Hastaların patolojik tanıları kaydedildi. 21 hasta invaziv duktal karsinom, 2 hasta invaziv lobuler karsinom, 1 hasta müsinöz karsinom, 1 hasta inflamatuvar karsinomdu. 5 hastanın ise miks tip (invaziv duktal, invaziv lobuler, mikropapiller karsinom) patolojisi vardı. 20 hastanın primer tümör lokalizasyonu sol meme, 9

hastanın sağ meme, 1 hastanın bilateral. Östrojen reseptörü(ER) pozitif olan 16 hastada vardı. 14 hasta ER negatifdi. Progesteron reseptörü(PR) 18 hastada pozitif iken 12 hastada negatifdi. p53 pozitif olan 14 hasta mevcuttu. c-erbB2 pozitif olan 15 hasta vardı. Hastaların 15'inde Ki-67 bakılmıştı. Bunların 7'sin de %1-10 pozitiflik varken 8 tanesi %11-67 arasında değişmekteydi. Prognostik olarak kötü seyredeceği kabul edilen kanda dolaşan tümör hücre sayı (KDTH) değeri $\geq 5/7.5$ cc olan hasta sayısı 17 idi. Bu hastaların KDTH sayısı 5-111/7.5 cc arasında değişmekteydi. Ortalama değer $25.94 \pm 31.44/7.5$ cc olarak kaydedildi. 13 hastanın KDTH sayısı 0-4/7.5 cc arasında değişmekteydi. Bu grubun ortalama KDTH değeri $0.84 \pm 0.98/7.5$ cc olarak tespit edildi. 5 olguda KDTH tespit edilemedi. Hastaların serum CA 15-3 düzeylerine bakıldı. Tüm olguların CA 15-3 düzeyleri 8.21-1748 ng/dl (ort. 239.51 ± 363.21) arasında değişmekteydi. 5 hastanın CA 15-3 düzeyi normal sınırlar (<38 ng/dL) içindeydi. Patolojik değerlerde tespit edilen geri kalan 25 hastanın ise CA 15-3 düzeyleri 40-1748 ng/dl (ort. 284 ± 383.44) olarak tespit edildi.

KDTH sayısı ile serum CA 15-3 düzeyleri arasında ve bu iki parametre ile hastaların immunohistokimyasal östrojen, progesteron reseptör pozitifliği, c-erbB2, p53, Ki-67 pozitifliği, histolojik derece ve primer tümör lokalizasyonları arasındaki korelasyon analizi için nonparametrik spearman korelasyon testi uygulandı. Korelasyon analizi sonucu KDTH sayısı ile CA 15-3 arasında anlamlı korelasyon tespit edildi ($p=0.006$, $r=0.490$). Östrojen reseptör pozitifliği ile histolojik derece arasında ($p=0.006$, $r= -0.494$) ve progesteron reseptör pozitifliği ile c-erbB2 arasında ($p=0.006$, $r= -0.494$) anlamlı korelasyon bulundu (Tablo 5).

Tablo 4. Demografik veriler ve yüzdeleri

Hasta sayısı / Cinsiyet	30 / Kadın	
Tanı		
invazif duktal karsinom	21	%70
mix(inv duk /inv.lobüler /müsinöz /mikropapiller)	5	%16
invaziv lobüler karsinom	2	%6
inflatuvar karsinom	1	%3
müsinöz karsinom	1	%3
Lokalizasyon		
Sağ	9	%30
Sol	20	%66
Bilateral	1	%3
Yaş ortalamaları	50.8±11.7	
Aile anamnezi	5	%16.6
Sigara kullanımı	3	%10
p53		
Pozitif	14	%46
Negatif	16	%54
ER		
Pozitif	16	%54
Negatif	14	%46
PR		
Pozitif	18	%60
Negatif	12	%40
c-erbB2		
Pozitif	15	%50
Negatif	15	%50
Ki-67		
%1-10	7	%46
%11-100	8	%54
Histolojik derece		
grade 2	22	%73
grade 3	8	%27

Demografik veriler devamı	Hasta sayısı	Yüzde
Metastaz yeri		
Visseral	12	%40
Kemik	15	%50
Visseral+kemik	3	%10
Tedavi		
KT/HT/RT	7	%23
KT/HT	2	%6
KT/RT	15	%50
KT	6	%21

Tablo 5. Veriler arası korelasyon analiz sonuçları

Spearman korelasyon analizi	p değeri	r değeri
KDTH - CA 15-3	0.006*	0.490
ER – PR	0.312	0.191
ER – p53	0.298	- 0.196
ER – c-erbB2	0.481	- 0.134
ER – Ki-67	0.234	0.327
ER – histolojik derece	0.006*	-0.494
PR – p53	0.247	0.218
PR – c-erbB2	0.025*	-0.408
PR – Ki-67	0.063	0.491
PR – histolojik derece	0.517	- 0.123
p53 – c-erbB2	0.153	0.267
p53 – Ki-67	0.435	0.218
c-erbB2 - Ki-67	0.435	0.218

* p <0.05

Östrojen reseptör durumuna göre hastaların KDTH sayısı ve CA 15-3 seviyelerindeki değişimin tespiti için Mann Whitney-U anlamlılık testi kullanıldı. Anlamlı fark saptanmadı (Tablo 6).

Tablo 6. ER ile KDTH ve CA 15-3'ün karşılaştırılması

	ER (n)		p değeri
KDTH	negatif	pozitif	0.544
	14	16	
CA15-3	negatif	pozitif	0.506
	14	16	

Progesteron reseptör durumuna göre hastaların KDTH sayısı ve CA 15-3 seviyelerindeki değişimin tespiti için Mann Whitney-U anlamlılık testi kullanıldı. Anlamlı fark saptanmadı (Tablo 7).

Tablo 7. PR ile KDTH ve CA 15-3 ‘ün karşılaştırılması

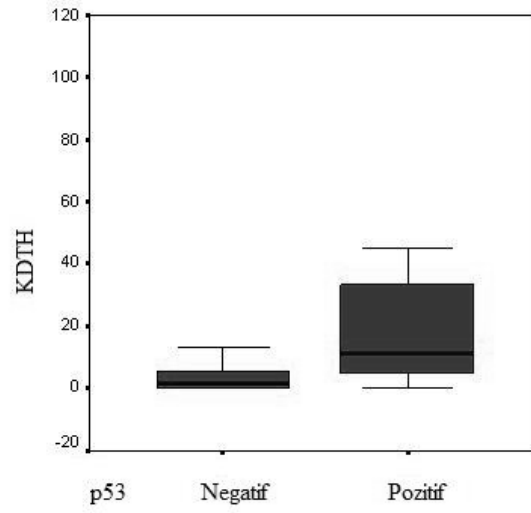
	PR (n)		p değeri
KDTH	negatif	pozitif	0.882
	12	18	
CA15-3	negatif	pozitif	0.162
	12	18	

p53 pozitifliği ile KDTH sayısı ve CA 15-3 seviyelerindeki değişimin tespiti için Mann Whitney-U anlamlılık testi kullanıldı. KDTH sayısı ile p53 pozitifliği arasında anlamlı fark bulundu ($p < 0.05$) (Tablo 8).

Tablo 8. p53 ile KDTH ve CA 15-3‘ün karşılaştırılması

	p53 (n)		p değeri
KDTH	negatif	pozitif	0.013*
	16	14	
CA15-3	negatif	pozitif	0.618
	16	14	

* $p < 0.05$



Şekil 3. p53 ile KDTL ve CA 15-3'ün karşılaştırılması

c-erbB2 pozitifliği ile KDTL sayısı ve CA 15-3 seviyelerindeki değişimin tespiti için Mann Whitney-U anlamlılık testi kullanıldı. Anlamlı fark saptanmadı (Tablo 9).

Tablo 9. c-erbB2 ile KDTL ve CA 15-3'ün karşılaştırılması

	c-erbB2 (n)		p değeri
KDTL	negatif	pozitif	0.617
	15	15	
CA15-3	negatif	pozitif	0.917
	15	15	

İmmunohistokimyasal Ki-67 boyaması yapılmış hastalar % ≤ 10 ve % > 10 olarak iki gruba ayrıldı. İki grup arası KDTH sayısı ve CA 15-3 seviyelerindeki değişimin tespiti için Mann Whitney-U anlamlılık testi kullanıldı. Anlamlı fark saptanmadı (Tablo 10).

Tablo 10. Ki-67 ile KDTH ve CA 15-3'ün karşılaştırılması

	Ki-67 (n)		p değeri
KDTH	% ≤ 10	% > 10	0.320
	8	7	
CA15-3	% ≤ 10	% > 10	0.105
	8	7	

Primer tümör lokalizasyonu (sol/sağ meme) ile KDTH sayısı ve CA 15-3 seviyelerindeki değişimin tespiti için Mann Whitney-U anlamlılık testi kullanıldı. Anlamlı fark saptanmadı (Tablo 11).

Tablo 11. Primer tümör lokalizasyonu ile KDTH ve CA 15-3'ün karşılaştırılması

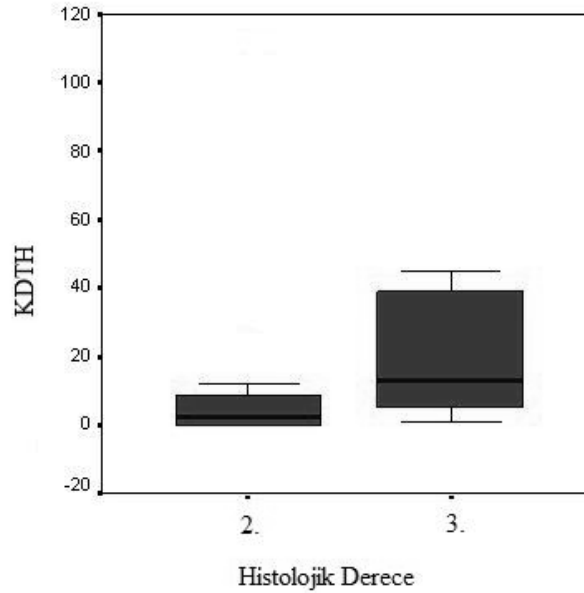
	Primer tümör lokalizasyonu (n)		p değeri
KDTH	Sol	sağ	0.297
	20	9	
CA15-3	Sol	sağ	0.370
	20	9	

Histolojik derece ile KDTH sayısı ve CA 15-3 seviyelerindeki değişimin tespiti için Mann Whitney-U anlamlılık testi kullanıldı. KDTH sayısı ile histolojik derece 2 ve 3 arasında anlamlı ilişki saptandı ($p < 0.05$). CA 15-3 ile histolojik derece arasında anlamlı fark bulunmadı (Tablo 12).

Tablo 12. Histolojik derece ile KDTH ve CA 15-3'ün karşılaştırılması

	Histolojik derece (n)		p değeri
KDTH	2. derece	3. derece	0.027*
	22	8	
CA15-3	2. derece	3. derece	0.325
	22	8	

* $p < 0.05$



Şekil 4. KDTH sayısı ile histolojik derecenin karşılaştırılması

Hastaların metastaz lokalizasyonları visseral ve kemik olarak iki gruba ayrıldı. İki grup ile KDTH sayısı ve CA 15-3 seviyelerindeki değişimin tespiti için Mann Whitney-U anlamlılık testi kullanıldı. Anlamlı fark saptanmadı (Tablo 13).

Tablo 13. Metastaz yeri ile KDTH ve CA 15-3'ün karşılaştırılması

	Metastaz yeri (n)		p değeri
KDTH	Kemik	Visseral	0.980
	15	12	
CA15-3	Kemik	Visseral	0.262
	15	12	

Hastalar yaşlarına göre ≤ 50 ve > 50 olarak iki gruba ayrıldı. Hastaların yaşı ile KDTH sayısı ve CA 15-3 seviyelerindeki değişimin tespiti için Mann Whitney-U anlamlılık testi kullanıldı. Anlamlı fark saptanmadı (Tablo 14).

Tablo 14. Yaş ile KDTH ve CA 15-3'ün karşılaştırılması

	yaş (n)		p değeri
KDTH	≤ 50	> 50	0.983
	14	16	
CA15-3	≤ 50	> 50	0.430
	14	16	

Hastalar prognostik önemi olan KDTH sayısına göre < 5 ve ≥ 5 olarak iki gruba ayrıldı. Hastaların KDTH sayısı ile ER pozitifliği karşılaştırıldı. Kikare bağımsızlık testi kullanıldı. Aralarında anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 15).

Tablo 15. KDTH ile ER pozitifliğinin karşılaştırılması

		ER		Toplam	p
		negatif	pozitif		
KDTH	<5	6	7	13	0.961
		46.2%	53.8%	100.0%	
	≥5	8	9	17	
		47.1%	52.9%	100.0%	

Hastalar prognostik önemi olan KDTH sayısına göre <5 ve ≥5 olarak iki gruba ayrıldı. Hastaların KDTH sayısı ile PR pozitifliği karşılaştırıldı. Kikare bağımsızlık testi kullanıldı. Aralarında anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 16).

Tablo 16. KDTH ile PR pozitifliğinin karşılaştırılması

		PR		Toplam	p
		negatif	pozitif		
KDTH	<5	5	8	13	0.88
		38.5%	61.5%	100.0%	
	≥5	7	10	17	
		41.2%	58.8%	100.0%	

Hastalar prognostik önemi olan KDTH sayısına göre <5 ve ≥5 olarak iki gruba ayrıldı. Hastaların KDTH sayısı ile p53 pozitifliği karşılaştırıldı.. Kikare bağımsızlık testi kullanıldı. Aralarında anlamlı fark saptandı (Tablo 17).

Tablo 17. KDTH ile p53 pozitifliğinin karşılaştırılması

		p53		Toplam	p
		Negatif	pozitif		
KDTH	<5	10	3	13	0.024*
		76.9%	23.1%	100.0%	
	≥5	6	11	17	
		35.3%	64.7%	100.0%	

Hastalar prognostik önemi olan KDTH sayısına göre <5 ve ≥5 olarak iki gruba ayrıldı. Hastaların KDTH sayısı ile Ki-67'si karşılaştırıldı. Kikare bağımsızlık testi kullanıldı. Aralarında anlamlı fark saptanmadı. (Tablo 18).

Tablo 18. KDTH ile Ki-67'nin karşılaştırılması

		Ki-67		Toplam	p
		% ≤10	% >10		
KDTH	<5	2	4	6	0.205
		33.3%	66.7%	100.0%	
	≥5	6	3	9	
		66.7%	33.3%	100.0%	

Hastalar prognostik önemi olan KDTH sayısına göre <5 ve ≥5 olarak iki gruba ayrıldı. Hastaların KDTH sayısı ile c-erbB2 karşılaştırıldı. Kikare bağımsızlık testi kullanıldı. Aralarında anlamlı fark saptanmadı. (Tablo 19).

Tablo 19. KDTH ile c-erbB2'nin karşılaştırılması

		c-erbB2		Toplam	p
		negatif	pozitif		
KDTH	<5	7	6	13	0.713
		53.8%	46.2%	100.0%	
	≥5	8	9	17	
		47.1%	52.9%	100.0%	

Hastalar prognostik önemi olan KDTH sayısına göre <5 ve ≥5 olarak iki gruba ayrıldı. Hastaların KDTH sayısı ile histolojik derecesi karşılaştırıldı. Kikare bağımsızlık testi kullanıldı. Aralarında anlamlı fark saptandı (Tablo 20).

Tablo 20. KDTH ile histolojik derecenin karşılaştırılması

		Histolojik derece		Toplam	p
		2. derece	3. derece		
KDTH	<5	12	1	13	0.040*
		92.3%	7.7%	100.0%	
	≥5	10	7	17	
		58.8%	41.2%	100.0%	

KDTH sayısına göre <5 ve ≥5 olarak ayrılan iki grup patolojik ve normal düzeydeki CA 15-3 düzeyleri kikare bağımsızlık testi ile karşılaştırıldı. Aralarında anlamlı fark saptandı (Tablo 21).

Tablo 21. KDTH ile CA 15-3 patolojik ve normal düzeylerinin karşılaştırılması

		CA 15-3		Toplam	p
		≤ 38	> 38		
KDTH	< 5	5	8	13	0.005*
		38.5%	61.5%	100.0%	
	≥ 5	0	17	17	
		0%	100%	100.0%	

Hastaların östrojen reseptör pozitifliği ile progesteron reseptör pozitifliği kikare bağımsızlık testi ile karşılaştırıldı. Aralarında anlamlı fark saptanmadı (Tablo 22).

Tablo 22. ER pozitifliği ile PR pozitifliğinin karşılaştırılması

		PR		Toplam	p
		negatif	pozitif		
ER	negatif	7	7	14	0.296
		50%	50%	100.0%	
	pozitif	5	11	16	
		31.2%	68.8%	100.0%	

Hastaların östrojen reseptör pozitifliği ile c-erbB2 pozitifliği kikare bağımsızlık testi ile karşılaştırıldı. Aralarında anlamlı fark saptanmadı (Tablo 23).

Tablo 23. ER pozitifliği ile c-erbB2 pozitifliğinin karşılaştırılması

		c-erbB2		Toplam	p
		negatif	pozitif		
ER	negatif	6	8	14	0.464
		42.9%	57.1%	100.0%	
	pozitif	9	7	16	
		56.2%	43.8%	100.0%	

Hastaların östrojen reseptör pozitifliği ile Ki-67 ekspresyonu kikare bağımsızlık testi ile karşılaştırıldı. Aralarında anlamlı fark saptanmadı. (Tablo 24).

Tablo 24. ER pozitifliği ile Ki-67 ekspresyonunun karşılaştırılması

		Ki-67		Toplam	p
		≤10 %	>10 %		
ER	negatif	6	3	9	0.205
		66.7%	33.3%	100.0%	
	pozitif	2	4	6	
		33.3%	66.7%	100.0%	

Hastaların östrojen reseptör pozitifliği ile p53 tümör baskılayıcı gen pozitifliği kikare bağımsızlık testi ile karşılaştırıldı. Aralarında anlamlı fark saptanmadı.(Tablo25)

Tablo 25. ER pozitifliği ile p53 ekspresyonun karşılaştırılması

		p53		Toplam	p
		negatif	pozitif		
ER	negatif	6	8	14	0.282
		42.9%	57.1%	100.0%	
	pozitif	10	6	16	
		62.5%	37.5%	100.0%	

Hastaların östrojen reseptör pozitifliği ile serum CA 15-3 patolojik düzeyleri kıkare bağımsızlık testi ile karşılaştırıldı. Aralarında anlamlı fark saptanmadı (Tablo 26).

Tablo 26. ER pozitifliği ile CA 15-3 arasındaki ilişki

		CA 15-3		Toplam	p
		≤38	>38		
ER	negatif	3	11	14	0.513
		21.4%	78.6%	100.0%	
	pozitif	2	14	16	
		12.5%	87.5%	100.0%	

Hastaların östrojen reseptör pozitifliği ile histolojik dereceleri arasındaki ilişki kıkare bağımsızlık testi ile bakıldı. Aralarında anlamlı fark saptandı. ($p < 0.05$) (Tablo 27).

Tablo 27. ER pozitifliği ile histolojik derecenin karşılaştırılması

		Histolojik derece		Toplam	P
		2.derece	3.derece		
ER	negatif	7	7	14	0.007*
		50%	50%	100.0%	
	pozitif	15	1	16	
		93.8%	6.2%	100.0%	

Hastaların progesteron reseptör pozitifliği ile c-erbB2 pozitifliği kıkare bağımsızlık testi ile karşılaştırıldı. Aralarında anlamlı fark saptandı. ($p < 0.05$) (Tablo 28).

Tablo 28. PR pozitifliği ile c-erbB2'nin karşılaştırılması

		c-erbB2		Toplam	p
		negatif	Pozitif		
PR	negatif	3	9	12	0.025*
		25%	75%	100.0%	
	pozitif	12	6	18	
		66.7%	33.3%	100.0%	

Hastaların progesteron reseptör pozitifliği ile histolojik dereceleri kıkare bağımsızlık testi ile karşılaştırıldı. Aralarında anlamlı fark saptanmadı (Tablo 29).

Tablo 29. PR pozitifliği ile histolojik derecenin karşılaştırılması

		Histolojik derece		Toplam	p
		2 derece	3 derece		
PR	negatif	8	4	12	0.50
		66.7%	33.3%	100.0%	
	pozitif	14	4	18	
		77.8%	22.2%	100.0%	

Hastaların progesteron reseptör pozitifliği ile serum CA 15-3 patolojik düzeyleri kıkare bağımsızlık testi ile karşılaştırıldı. Aralarında anlamlı fark saptanmadı. (Tablo 30).

Tablo 30. PR pozitifliği ile CA 15-3'ün karşılaştırılması

		CA 15-3		Toplam	p
		≤38	>38		
PR	Negatif	2	10	12	1
		16.7%	83.3%	100.0%	
	Pozitif	3	15	18	
		16.7%	83.3%	100.0%	

Hastaların progesteron reseptör pozitifliği ile p53 pozitifliği kıkare bağımsızlık testi ile karşılaştırıldı. Aralarında anlamlı fark saptanmadı. (Tablo 31).

Tablo 31. PR pozitifliği ile p53 pozitifliğinin karşılaştırılması

		p53		Toplam	p
		negatif	pozitif		
PR	negatif	8	4	12	0.232
		66.7%	33.3%	100.0%	
	pozitif	8	10	18	
		44.4%	55.6%	100.0%	

Hastaların progesteron reseptör pozitifliği ile Ki-67 ekspresyonu kıkare bağımsızlık testi ile karşılaştırıldı. Aralarında anlamlı fark saptanmadı. (Tablo 32).

Tablo 32. PR pozitifliği ile Ki-67 ekspresyonu arasındaki ilişki

		Ki-67		Toplam	p
		≤10 %	>10 %		
PR	Negatif	5	1	6	0.057
		83.3%	16.7%	100.0%	
	Pozitif	3	6	9	
		33.3%	66.7%	100.0%	

Hastaların p53 pozitifliği ile serum CA 15-3 patolojik düzeyleri arasındaki ilişki kıkare bağımsızlık testi ile bakıldı. Aralarında anlamlı fark saptanmadı. (Tablo 33).

Tablo 33. p53 pozitifliği ile CA 15-3 arasındaki ilişki

		CA 15-3		Toplam	P
		≤38	>38		
p53	negatif	4	12	16	0.190
		25%	75%	100.0%	
	pozitif	1	13	14	
		7.1%	92.9%	100.0%	

Hastaların p53 pozitifliği ile c-erbB2 pozitifliği arasındaki ilişki kikare bağımsızlık testi ile bakıldı. Aralarında anlamlı fark saptanmadı. (Tablo 34).

Tablo 34. p53 pozitifliği ile c-erbB2 arasındaki ilişki

		c-erbB2		Toplam	p
		negatif	pozitif		
p53	negatif	10	6	16	0.143
		62.5%	37.5%	100.0%	
	pozitif	5	9	14	
		35.7%	64.3%	100.0%	

Hastaların p53 pozitifliği ile histolojik dereceleri arasındaki ilişki kikare bağımsızlık testi ile bakıldı. Aralarında anlamlı fark saptanmadı. (Tablo 35).

Tablo 35. p53 pozitifliği ile histolojik dereceleri arasındaki ilişki

		Histolojik derece		Toplam	p
		2.derece	3.derece		
p53	negatif	13	3	16	0.295
		81.2%	18.8%	100.0%	
	pozitif	9	5	14	
		64.3%	35.7%	100.0%	

Hastaların p53 pozitifliği ile Ki-67 ekspresyonu arasındaki ilişki kıkare bağımsızlık testi ile bakıldı. Aralarında anlamlı fark saptanmadı. (Tablo 36).

Tablo 36. p53 pozitifliği ile Ki-67 ekspresyonu arasındaki ilişki

		Ki-67		Toplam	p
		≤10 %	>10 %		
p53	negatif	4	2	6	0.39
		66.7%	33.3%	100.0%	
	pozitif	4	5	9	
		44.4%	55.6 %	100.0%	

Hastaların Ki-67 ekspresyonu ile histolojik dereceleri arasındaki ilişki kıkare bağımsızlık testi ile bakıldı. Aralarında anlamlı fark saptanmadı. (Tablo 37).

Tablo 37. Ki-67 ile histolojik dereceleri arasındaki ilişki

		Histolojik derece		Toplam	P
		2.derece	3.derece		
Ki-67	negatif	4	4	8	0.398
		50%	50%	100.0%	
	pozitif	5	2	7	
		71.4%	28.6%	100.0%	

Hastaların c-erbB2 pozitifliği ile serum CA 15-3 düzeyleri arasındaki ilişki kıkare bağımsızlık testi ile bakıldı. Aralarında anlamlı fark saptanmadı. (Tablo 38).

Tablo 38. c-erbB2 ekspresyonu ile CA 15-3 arasındaki ilişki

		CA 15-3		Toplam	p
		≤38	>38		
c-erbB2	negatif	2	13	15	0.624
		13.3%	86.7%	100.0%	
	pozitif	3	12	15	
		20%	80%	100.0%	

Hastaların c-erbB2 pozitifliği ile histolojik dereceleri arasındaki ilişki kıkare bağımsızlık testi ile bakıldı. Aralarında anlamlı fark saptanmadı. (Tablo 39).

Tablo 39. c-erbB2 pozitifliği ile histolojik dereceleri arasındaki ilişki

		Histolojik derece		Toplam	p
		2.derece	3.derece		
c-erbB2	negatif	12	3	15	0.409
		80%	20%	100.0%	
	pozitif	10	5	15	
		66.7%	33.3%	100.0%	

Hastaların c-erbB2 pozitifliği ile Ki-67 ekspresyonu arasındaki ilişki kıkare bağımsızlık testi ile bakıldı. Aralarında anlamlı fark saptanmadı. (Tablo 40).

Tablo 40. c-erbB2 pozitifliği ile Ki-67 arasındaki ilişki

		Ki-67		Toplam	p
		≤10 %	>10 %		
c-erbB2	negatif	4	2	6	0.398
		66.7%	33.3%	100.0%	
	pozitif	4	5	9	
		44.4%	55.6%	100.0%	

6. TARTIŞMA VE SONUÇ:

Kanser hastalarında metastaz gelişmesi hayatı tehdit eden en önemli durumlardan biridir. Neoplazm ilk geliştiği bölgede invaziv hale geldiğinde vasküler veya lenfatik yolla hızla yayılmaktadır. Tümör dokusundan kopan hücreler yerleştikleri organda neovaskülarizasyon ile büyür ve yeni bir tümör dokusu oluştururlar (52). Meme kanserinde en sık uzak metastaz bölgeleri kemik (%51), akciğer (%17), beyin (%16) ve karaciğer (%6)'dır (123).

Her kanserde olduğu gibi meme kanserlerinde de metastazı erken dönemde saptamak, hastanın sağkalım süresi için önemlidir. Bunun saptanması için çeşitli çalışmalar yürütülmektedir. Kanser hastalarında, tedaviye yanıtı erkenden belirleyebilecek, tedavi protokolünü daha erken değiştirmeye olanak sağlayacak, metastaz olduğunda erken dönemde tanı ve tedavi olanağı sağlayacak, böylece yaşam kalitesi ve süresini artıracak tümör belirteçlerine gereksinim duyulmaktadır.

KDTH'leri epitel kökenli kanserlerde primer veya metastatik safhada saptanan hücrelerdir. Bu hücreler bir çok kanser türünde araştırma konusu olmuş fakat sadece meme, prostat ve over kanserlerinde FDA (Food and Drug Administration) onayı alabilmiştir. KDTH'leri primer veya metastatik tümör dokularından koparak yeni metastatik odakların primerlerini oluştururlar. Bu yüzden kandaki sayılarının kontrol altında tutulması yeni metastatik odakların oluşmasını engellemede klinisyene yardımcı bir parametre olarak kullanılabilir (115).

Allard ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada farklı türden metastatik kanserli olan hastalar ile benign tümörlü hastaların KDTH sayıları karşılaştırılmış. 199 kişiden oluşan benign tümörlü hastadan sadece 1'nde ≥ 2 adet KDTH'sine rastlanmıştır, 145 Sağlıklı gönüllüde KDTH'ne rastlanmamıştır. Farklı kanser türlerinden 964 metastatik karsinomali hastadan alınan 7.5 cc kanda 0 ila 23.618 (ort. 60 ± 693) arasında değişen KDTH sayısına rastlanmıştır. Tamamı metastatik olan 964 adet hasta içinde prostat kanserli olanlarda %57 (107/188), meme kanserlilerde %37 (489/1316), over kanserlilerde %37 (20/53), kolorektal kanserlilerde %30 (99/333), akciğer kanserlilerde %20 (34/168) oranlarında ≥ 2 sayıda KDTH'sine rastlanmıştır. Çalışmada KDTH'lerinin duyarlılığı % 36, özgüllüğü % 99.7 olarak bulunmuştur.

Meng ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 7 ila 22 yıl öncesinden mastektomi yapılmış, herhangi bir klinik bulgusu olmayan, kanser dokusu için uyku

dönemine girmiş kabul edilen 36 meme kanserli hastanın kanlarında KDTH sayısına bakılmış. 13 hastada 1 veya 2 adet KDTH'sine rastlanmıştır. Çalışmada KDTH'lerinin yarı ömürlerinin 1 ila 2.4 saat arasında değiştiği saptanmıştır. Bu hücrelerin kanda belli sayıda saptanması hücrelerin replikasyon ve ölümü arasındaki dengeden kaynaklandığı sanılmaktadır. Uyku safhasına girmiş kanser dokusundan kaynaklanan KDTH'lerinin yarı ömürlerinin uyku safhasından çıkan kanser dokusundan köken alan hücrelerden daha kısa olduğu ve daha çabuk apoptozise girdiği düşünülmektedir. Bu hastalarda kanserin rekürrense girdiğine dair herhangi bir klinik bulgunun olmamasından dolayı hastalarda rekürrens riski %1 olarak hesaplanırken, KDTH'lerinin varlığı bu hastalarda %36 gibi daha yüksek bir risk değeri ortaya çıkarmıştır. 7-22 yıl sonrasında bile KDTH'lerinin kısa yarı ömürlerde saptanıyor olması henüz replikasyon safhasına geçmemiş mikrometastatik odakların varlığını düşündürmektedir. KDTH bu hastaların rekürrense girme risklerini önceden tahmin etmede yararlı bir öngörü aracı olabilir (124).

Müller ve arkadaşları, metastatik olmayan primer meme kanserli hastalardan cerrahi eksizyonu sonrası ve adjuvan kemoterapi öncesinde alınan kan örneklerinden yapılan immunositokimyasal incelemede 60 hastanın 5'inde (%8.3) KDTH'si tespit etmiş. Bu hastaların kemik iliği incelemesinde mikrometastazlara rastlanmıştır. Kemik iliği mikrometastaz varlığı ile KDTH sayısı arasında istatistiksel korelasyon bulunmuştur. Metastatik olmayan 60 hastanın 16'sında tekrar KDTH'ne bakılmış ve 16 hastadan 7'sinde kemoterapi sonrası KDTH'lerinin negatifleştiği tespit edilmiştir. Metastatik olan hastaların kanlarında, metastazı olmayanlara göre daha fazla KDTH'sine rastlanmıştır ($p<0.05$). Bu hastaların serum CA 15-3 düzeyleri ile KDTH sayıları arasında anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır ($p<0.05$). Metastatik 25 hastanın tekrarlayan subgrup analizleri yapılmış, progresif seyreden hastaların kanında, remisyona girmiş veya stabil seyreden hastalara göre anlamlı derecede yüksek KDTH'lerine rastlanılmıştır ($p<0.05$). Primer ve metastatik hastaların kanlarındaki Ki-67 proliferasyon belirteci ile KDTH arasında herhangi bir istatistiksel anlamlılık saptanmamıştır (125).

Bizim çalışmamızda metastatik meme kanserli hastalarda rutinde takipte kullanılan CA 15-3 tümör belirteci ile KDTH düzeyleri arasındaki korelasyon ile prognostik değeri bulunan parametrelerle (ER, PR, p53, c-erbB2, Ki-67, histolojik

derece) ilişkisi araştırıldı. CA 15-3 düzeyleri ile KDTH sayısı arasında pozitif korelasyon saptandı ($p<0.05$). KDTH düzeylerinin immunohistokimyasal boyama ile bakılan p53 tümör baskılayıcı gen mutasyonu olanlarda daha yüksek düzeylerde olduğu gözlemlendi. ($p<0.05$). Ayrıca histolojik derecesi 3 olan hastaların histolojik derecesi 2 olanlara göre daha yüksek düzeylerde KDTH düzeylerine sahip oldukları tespit edildi ($p<0.05$). CA 15-3 düzeyleri ile prognostik faktörler arasında yapılan anlamlılık testinde herhangi bir istatistiksel anlamlılık saptanamadı. Metastaz lokalizasyonlarına göre visseral ve kemik olarak ayrılan hasta gruplarında KDTH sayısı ve CA 15-3 açısından herhangi bir ilişki saptanamadı. Primer tümör lokalizasyonuna göre tümörün sağ veya sol meme kaynaklı olması KDTH ve CA 15-3 üzerinde herhangi bir anlamlı ilişki oluşturmadı.

Wülfing ve arkadaşlarının 42 meme kanseri tanısı almış hasta üzerinde yaptıkları çalışmada HER-2 ile işaretli KDTH'lerinin varlığı araştırılmış. 7'si metastatik olan hastaların tamamında HER-2 ile işaretli KDTH'si saptanırken, metastaz saptanmamış 35 hastanın da 17'sinde (%48.6) HER-2 ile işaretli KDTH'sine rastlanmıştır. 32 sağlıklı gönüllü ve benign hastalığı olan kontrol grubunda ise herhangi bir KDTH'ne rastlanmamıştır. Prognostik faktörlerle KDTH sayısı arasındaki korelasyon analizinde ER negatif olan meme kanserlilerde pozitif olanlara göre anlamlı derecede yüksek KDTH'ne rastlanmıştır. Histolojik derecelerine göre yapılan korelasyon analizinde II. ve III. derece histolojisi olan hastalarda I. derece histolojisi olanlara göre anlamlı derecede yüksek KDTH tespit edilmiştir. Histolojik derece arttıkça KDTH sayılarının artması çalışmamızla benzerlik gösteren bulgudur. Ayrıca prognostik faktörlerden progesteron reseptörü, EGFR ekspresyonu, Ki-67 proliferasyon belirteci, HER-2 onkogeni, bcl-2 ekspresyonu, p-53 mutasyon durumu ile KDTH sayısı arasında korelasyon analizi yapılmış ve herhangi bir istatistiksel anlamlılık saptanmamıştır. Kanında HER-2 işaretli KDTH saptanan hastaların olaysız sağkalım ve genel sağkalım sürelerinin anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır (126). Bu bulgular arasında KDTH ile p53 onkogeni arasında korelasyon saptanmaması yaptığımız çalışmayla örtüşmemektedir. Meme kanserlerinde yapılan çalışmalar, p53 ekspresyonu ile yüksek tümör derecesi, yüksek proliferasyon indeksi, aneploidi ayrıca ER ve PR yokluğu arasında yakın ilişki olduğunu göstermiştir Bu parametreler kısa sağkalım

ile ilişkili olduğundan p53 pozitifliği kötü prognoz ile de yakın ilişkilidir (26). Meme kanserlerinin %20-30'unda p53 inaktivasyonu gözlenir. p53 mutasyonlarının tespiti in situ'dan invazif karsinomaya geçiş için bir belirteç olarak kullanılabilir. Cattoretti ve arkadaşlarının çalışmasında meme kanserli hastalarda p53 mutasyonu ile ER negatifliği, büyüme faktör reseptör pozitifliği, yüksek tümör derecesi ile ilişki saptanmıştır (27). Çalışmamızda ise p53 mutasyonu saptanan hastalarda anlamlı derecede yüksek KDTH tespit edildi. p53 ile CA 15-3 ve diğer prognostik faktörler arasında herhangi bir ilişki saptanmadı. p53 geninin hücrelerde diferensiasyonunu durdurma ve hasarlı hücreleri apoptozise uğratma görevleri vardır (133,134). p53 pozitif hastalarda kanda daha fazla tümör hücresi görülmesi primer tümör dokusundan veya metastatik odaklardan kopan hücrelerin apoptozise gidememesi ve daha hızlı replike potansiyeline sahip olmalarıyla açıklanabilir.

Park ve arkadaşları 740 preoperatif evre I-III invaziv meme kanserli hasta üzerinde yaptıkları çalışmada serum CA 15-3 ve CEA seviyelerini değerlendirmiş. CA 15-3 ve CEA seviyeleri sırasıyla 92 (%12.4) ve 79 (%10.7) hastada yüksek olarak bulunmuş. Tümör boyutu (>5) ile lenf nodu (≥ 4) metastaz durumları ile iki tümör belirtecinin seviyeleri karşılaştırıldığında anlamlı derecede korelasyon saptanmış. Yaş, histolojik derece, östrojen ve progesteron reseptör durumu, HER-2 ile serum CA 15-3 ve CEA seviyeleri arasında herhangi bir korelasyon saptanmamıştır. Hastaların olaysız sağkalım ve genel sağkalım süreleri ile yüksek CA 15-3 ve CEA seviyeleri arasında anlamlı derecede korelasyon saptanmıştır (127).

Metastatik meme kanserli hastalarda yapılan başka bir çalışmada 566 hastanın serum HER-2 ve CA 15-3 seviyeleri karşılaştırılmış. 168 (%30) hastada serum HER-2 düzeyi yüksek bulunurken, 337 (%60) hastada CA 15-3 düzeyleri yüksek tespit edilmiş. Korelasyon analizinde istatistiksel olarak anlamlılık bulunmuştur. CA 15-3 ve HER-2 seviyeleri ile hastaların sağkalım süreleri arasında istatistiksel anlamlılık tespit edilmiş. CA 15-3 ve HER-2 düzeylerinin birlikte yüksek tespit edilen hastaların her bir parametrenin tek başına yüksek bulunduğu hastalardan daha kötü prognoz gösterdiği bulunmuştur (128). HER-2 ve CA 15-3 arası korelasyon çalışmalarında HER-2'nin reseptör düzeyindeki durumu ile CA 15-3 arasında herhangi bir ilişki saptanamamasına rağmen kanda bulunan düzeyleri ile anlamlı ilişki gösterdiği bulunmuştur.

Atalay ve arkadaşlarının çalışmasında, 233 meme kanserli hastanın retrospektif verileri değerlendirilmiş. Tümör boyutu yüksek olan hastaların serum CA 15-3 ve CEA seviyeleri anlamlı derecede yüksek bulunmuş. Aksillada lenf bezi tutulan hastaların lenf bezi tutulmayanlara göre daha yüksek seviyede CA 15-3 ve CA 125 düzeylerine sahip oldukları tespit edilmiştir. Çalışmamızda ki bulgulara benzer olarak yaş, östrojen, progesteron reseptörü, p53, c-erbB2 (HER-2) durumları ile CA 15-3 ve CEA düzeyleri arasındaki korelasyon analizinde istatistiksel herhangi bir anlamlılık bulunamamıştır (129).

Karabulut ve arkadaşları meme kanserli hastalarda yaptıkları çalışmada c-erbB2 ile östrojen reseptörü, progesteron reseptörü, p53, yaş, tümör çapı, metastaz durumu arasındaki ilişkiyi araştırmışlar. Herhangi bir ilişki saptayamamışlar. Biz çalışmamızda c-erbB2 pozitifliği ile progesteron negatifliği arasında anlamlı ilişki saptadık. Östrojen reseptörü pozitif olan hastaların anlamlı derecede düşük histolojik dereceye sahip olduğunu tespit ettik. c-erbB2 ile progesteron reseptörü arasındaki ilişkiyi açıklayacak herhangi bir çalışma yoktur. Yapılan çalışmalarda anlamlı ilişki saptanmamıştır. Bu iki parametre arasındaki ilişkiyi açıklayacak patofizyolojik mekanizma ortaya konamamıştır. Östrojen reseptörü ile histolojik derece arasındaki ilişki histolojik derece arttıkça hücrelerin yüksek diferansiyasyon göstererek reseptör kaybına uğramasıyla açıklanabilir (130, 131).

Histolojik derecelendirmede patologlar Scarff Bloom Richardson derecelendirme sistemini kullanır. Hücre yapısında ve şeklinde olan değişiklikler, borusal yapılar içinde bulunan kanser hücrelerinin yüzdesi, hücre farklılaşması gibi kriterlere göre yapılan puanlama ile kanserli doku 1'den 3'e kadar derece alır. 1. derece kanserli doku normal hücre yapısına sahip iken 3. derece olanlar ileri derecede farklılaşma gösterirler (132). Çalışmamızdaki hastalar 2. ve 3. derece histolojiye sahipti. 3. derece histolojisi olan hastaların KDTH sayısı 2. derece histolojisi olanlara göre anlamlı düzeyde yüksekti. ER negatif olan hastalar anlamlı derecede yüksek histolojik dereceye sahipti. CA 15-3 düzeyleri ve diğer prognostik faktörler ile histolojik derece arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki saptanmadı. Prognostik önemi olan histolojik derecenin yüksek olduğu tümör dokusunun dolaşıma daha fazla hücre salınımı yapması hücrelerin ileri derece farklılaşması ile hücre adezyon moleküllerini kaybetmesine bağlanabilir. Bu bilgiyi destekleyici

Çalışmaların yapılması tam aydınlatılamamış histopatolojik mekanizmalarının anlaşılmasını kolaylaştırabilir.

CA 15-3'ün duyarlılığı meme tümörlerinin benign ve malign oluşuna, evresine, metastaz durumuna göre % 16-91 arasında değişmektedir. Kronik böbrek yetmezliği, hepatik, pankreatik ve romatizmal hastalıklar ve tüberkülozda da yüksek değerleri bildirilmiştir. Bu yüzden erken teşhis, tarama, ve evre belirleme amaçlı kullanımı önerilmez. Tedaviye cevabı izlemede tek başına kullanımı tavsiye edilmemekle beraber, yüksek seviyelerinin tedaviye yanıtızlığın göstergesi olduğu kabul edilmektedir. En yaygın kullanım alanı metastatik meme kanserinin tedavisini takip sürecindedir. Fakat tedaviyi takipte tek başına bir belirleyici değildir (98,135). Bu tür hastaların takibinde radyolojik görüntüleme yöntemleri de klinisyene yol gösterici olmaktadır. Budd ve arkadaşlarının çalışmasında, metastatik meme kanserli hastalarda KDTH sayısının genel sağkalımı önceden tahmin etmede görüntüleme yöntemlerinden daha değerli olduğu ve prognostik açıdan daha yol gösterici olduğu ortaya konmuştur (4,122). KDTH'lerinin tespit edilmesi radyolojik görüntüleme yöntemlere göre (direk grafi, bilgisayarlı tomografi, manyetik rezonans) daha erken sonuç veren, daha güvenilir ve tekrarlanabilir bir yöntemdir (120). Daha öncede bahsettiğimiz gibi malign olmayan hastalıklarda da yüksek CA 15-3 düzeylerinin saptanması bu tür sekonder hastalığı bulunan metastatik hastalarda takip açısından klinisyeni yanıtılabilir. Bu tür hastalıkların CA 15-3'  ne kadar interfere ettiği bir araştırma konusudur. 1984'den beri bu konuda yapılan yoğun çalışmalara rağmen meme kanserleri için CA 15-3'den başka bir takip parametresinin rutine kazandırılammış olması, faydalı bir tümör belirtecinin bulunabilmesinin ne kadar zor olduğunun bir göstergesi olmuştur. Metastatik meme kanserlerinin prognozunun kötü olması ve sağkalım şansının düşük olmasından dolayı bu hastaların sağkalım sürelerini uzatmada prognozun önceden tahmin edilebilmesi ve verilen tedavinin faydalı olup olmadığının değerlendirilebilmesi önem arz etmektedir. Biz bu açıdan daha önce yapılan çalışmalar ışığında metastatik meme kanserlerinde CA 15-3 ve KDTH sayısının korelasyonunu ve prognostik faktörlerle ilişkisini araştırdık. Çalışmamızda KDTH sayısı ile CA 15-3 arasında pozitif korelasyon saptandı. Prognostik faktörlerden p53 pozitif hastaların daha yüksek KDTH sayısına sahip olduğu tespit edildi. Histolojik derecesi 3 olan hastalarda 2 olanlara göre daha yüksek

KDTH tespit edildi. Fakat CA 15-3 düzeyleri ile prognostik faktörler arasında herhangi bir ilişki saptanmadı. Cristofanilli ve arkadaşları KDTH sayısının 5 ve üzeri olan metastatik meme kanserli hastaların daha kötü prognoz gösterdiklerini ortaya koymuştur (5). Bu bilgiye dayanarak çalışmamızdaki KDTH sayısı <5 ve ≥ 5 olarak iki grup oluşturduk. KDTH sayısı ≥ 5 olan hastaların <5 olanlara göre anlamlı derecede yüksek histolojik derece ve p53 pozitifliğine sahip olduğunu tespit ettik (<0.05). KDTH sayısının ≥ 5 olanlarının CA 15-3'ün patolojik düzeyleri ile ilişki gösterdiğini saptadık. Prognostik değeri olan histolojik derece ve p53 mutasyonunun metastatik hastalarda KDTH ile anlamlı ilişki göstermesi KDTH'nin CA 15-3'e göre prognozu değerlendirmede daha yararlı bir öngörü aracı olabileceğini düşündürmektedir. KDTH sayısının CA 15-3 ile korelasyon göstermesi CA 15-3'ün yerine kullanılabilirliğini göstermez. Korelasyon saptanmış olmasına rağmen normal CA 15-3 düzeyi tespit edilen hastalarda yüksek düzeyde KDTH tespit edilebilmekte veya yüksek düzeyde CA 15-3 tespit edilen hastalarda hiç KDTH tespit edilememektedir. Bu çalışmayı kısıtlayan faktörler hasta sayısının az olması ve kemoterapi kürleri arası CA 15-3 ve KDTH sayısı takibinin yapılmamış olmasıdır.

Sonuç olarak çalışmamızda CA 15-3 ve KDTH sayısı arasında korelasyon tespit edilmiştir. Meme kanserlerinde tedaviyi izleme, nüksleri belirleme amaçlarıyla kullandığımız rutin biyokimyasal parametrelerden olan CA 15-3, duyarlılığının ve özgüllüğünün düşüklüğü nedeniyle klinisyeni yönlendirmede yetersiz kalabilmektedir. Meme tümörünün malign veya benign oluşuna, evresine ve metastaz durumuna göre metastatik olmayan meme kanserli hastalarda yüksek düzeylerde olabilirken metastazı olduğu halde normal düzeylerde olan olgular da saptanmaktadır. KDTH'lerinin prognozu değerlendirmede görüntüleme sistemlerine göre daha objektif ve nicel veriler sunması, ölçüm başarısızlıklarında tekrarlanabilirliğinin olması CA 15-3'e göre üstünlüğüdür. Ayrıca CA 15-3 düzeyleri benign hastalıklarda bile yükselebilen yapılan çalışmalarda benign hastalarda KDTH'ne rastlanmamıştır. Buna rağmen KDTH tespit edilemeyen bir hastada yüksek CA 15-3 düzeyleri tespit edilebilmektedir. Bu KDTH ölçümünde ki düşük duyarlılığa bağlanabilir. KDTH'nin metastatik meme kanserlerinde kuvvetli prognostik bir faktör olduğu ortadadır. Fakat metastatik hastaları takipte kullanılabilir bir parametre olabileceğini göstermek için kürler arası serum

düzeylerinde ki değişimi tespit edecek çalışmaların yapılması yararlı olacaktır. Bunun yanında ölçüm maliyetinin yüksek olması bu testin kullanılabilirliğinde kısıtlamaktadır. Gelecekte, KDTH tespitinde duyarlılığı daha yüksek, daha düşük maliyetli ölçüm sistemlerinin oluşturulması bu testi daha kullanışlı hale getirebilir.



7. ÖZET

Tüm kanserlerde olduğu gibi meme kanserinde de kötü prognozda en önemli unsur uzak organ metastazının olmasıdır. Solid tümörlerin periferik kana serbest dolaşan tümör hücre salınımı yaparak metastaza yol açması uzun zamandan beri bilinmektedir. Tümör dokusundan kopan hücreler yerleştikleri organda neovaskülarizasyon ile büyür ve yeni bir tümör dokusu oluştururlar.

Circulating tumor cell (CTC) olarak bilinen kanda dolaşan serbest tümör hücreleri meme kanserlerinde prognozun değerlendirilmesinde kullanılan epitelyal kökenli hücrelerdir. Son yıllarda geliştirilmiş olan immunositokimyasal özel boyama teknikleri kullanılarak otomatize edilmiş immunfloresan yöntemle kandaki sayıları tespit edilebilmektedir. 7.5 cc tam kanda serbest dolaşan tümör hücre sayısının ≥ 5 olan metastatik meme kanserli hastalarda genel sağkalım süreleri (overall survival) daha düşük bulunmuş ve bu hastalar kötü prognoz göstermiştir.

Bu çalışmada İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesine başvuran metastatik meme kanserli olan hastaların metastazda rolü olduğu düşünülen kanda dolaşan serbest tümör hücre sayısı ile CA 15-3 düzeylerinin belirlenmesi ve prognostik patolojik verilerle (ER, PR, p53, c-erbB2, Ki-67, histolojik derece) kıyaslanması amaçlandı.

En son bir ay öncesinde kemoterapi almış 30 hastanın kanı kanda dolaşan tümör hücrelerinin (KDTH) sayımı için CellTracks® Analyzer II cihazında immunositokimyasal yöntemle çalışıldı. Serum CA 15-3 düzeyleri Advia Centaur cihazında kemilüminesans yöntemle çalışıldı.

CA 15-3 düzeyleri ile KDTH sayısı arasında pozitif korelasyon saptandı ($p<0.05$). KDTH düzeylerinin immunohistokimyasal boyama ile bakılan p53 mutasyonu olanlarda daha yüksek düzeylerde olduğu gözlemlendi. ($p<0.05$). Ayrıca histolojik derecesi 3 olan hastaların histolojik derecesi 2 olanlara göre daha yüksek düzeylerde KDTH düzeylerine sahip oldukları tespit edildi ($p<0.05$).

KDTH'lerinin prognozu değerlendirmede görüntüleme sistemlerine göre daha objektif ve nicel veriler sunması CA 15-3'den daha üstün bir parametre olduğunun bir göstergesidir. Ayrıca CA 15-3 düzeyleri benign hastalıklarda bile yükselebilirken yapılan çalışmalarda benign hastalarda KDTH'ne rastlanmamıştır. Buna rağmen KDTH tespit edilemeyen bir hastada yüksek CA 15-3 düzeyleri tespit

edilebilmektedir. Bu KDTH ölçümünde ki düşük duyarlılığa bağlanabilir. KDTH'nin metastatik meme kanserlerinde kuvvetli prognostik bir faktör olduğu ortadadır ve CA 15-3'e yardımcı bir parametre olarak kullanılabilir. Fakat takipte kullanılabilir bir parametre olabileceğini göstermek için kürler arası serum düzeylerinde ki değişimi tespit edecek çalışmaların yapılması yararlı olacaktır.

8. İNGİLİZCE ÖZET

As with all cancers, distant organ metastasis is the most important element of bad prognosis in breast cancer. It has been long known that solid tumors cause metastasis by secreting free circulating tumor cells into peripheral blood. Cells, detached from tumor tissue, grow with neovascularization and form a new tumor tissue in the organ they settled.

These free circulating tumor cells, which are also known as circulating tumor cells (CTC), are of epithelial origin and used in the evaluation of breast cancer prognosis. Their numbers in blood can be identified with recently developed special immunohistochemical dying techniques and automated immunofluorescent methods. It has been shown in metastatic breast cancer patients that overall survival is lower and prognosis is worse if CTC is greater than 5 (7.5 mL whole blood).

In this study, we planned to identify CTC and CA 15-3 levels and compare these parameters with prognostic pathological values (ER, PR, p53, c-erbB2, Ki-67, histological grade) in metastatic breast cancer patients who are admitted to Izmir Atatürk Training and Research Hospital.

30 patients who received their last chemotherapy in the previous month were enrolled in the study. CTC were detected in CellTracks® Analyzer II with immunocytochemical methods. Serum CA 15-3 levels were measured in Advia Centaur analyzer using chemiluminacence technique.

Positive correlation were found to be existing between CTC and CA 15-3 ($p<0.05$). CTC levels were significantly higher in patients with p53 mutations ($p<0.05$). Additionally CTC levels were significantly increased in patients with histological grade 3 compared to patients with histological grade 2.

CTC provide more objective and quantitative data than imaging systems in evaluating the prognosis of breast cancer which indicates that it is a superior

parameter. Additionally, CA 15-3 levels may also increase in some benign disorders, whereas CTC are not detected in patients with benign disorders. Despite this, high CA 15-3 levels can be detected in patients who are CTC negative. This can be associated with low sensitivity of CTC. It is clear that CTC is a strong prognostic factor in metastatic breast cancers and can be used as an adjunct parameter. However, to validate CTC as a follow-up parameter, further studies are needed to investigate the alterations in CTC levels between therapies.



9. KAYNAKLAR

1. WHO: Induced abortion dose not increase the risk of breast cancer. WHO Information Fact Sheets, Geneva, 2000 n:240
2. Henderson IC. Risk factors for breast cancer development. Cancer 1993; 71:2127-140.
3. Anderson DE. Badzioch MD. Risk of familial breast cancer. Cancer 1985; 56:383-87.
4. Budd GT, Cristofanilli M, Ellis MJ, et al. Circulating tumor cells versus imaging predicting overall survival in metastatic breast cancer. Clin Cancer Res 2006; 12:6403-6409.
5. Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, et al. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer. N Engl J Med 2004; 351:781-91.
6. Hossfeld DK, Sherman CD, Love RR, et al. Manuel of Clinical Oncology. 5 th ed. UICC, Genova 1990; 236-248.
7. [Http://seer.cancer.gov/statfacts/html/breast.html#ref10](http://seer.cancer.gov/statfacts/html/breast.html#ref10)
8. Vinay Kumar, Ramzi S. Cotran, Stanley L. Robbins. Basic Pathology 6 th ed. Nobel Tıp Kitabevleri, 2000; 629-630
9. Ramaswamy, Md. Govindan, Matthew A. MD Arquette. The washington manual of oncology. Lippincott Williams & Wilkins, 2002; 67
10. Tavassoli FA. Normal development and anomalies. In: Tavassoli FA ed. Patholology of the Breast 1st ed. Appleton&Lange. 1992; 1-24.
11. Tolunay S. Meme Kanserinde Patolojik ve Prognostik Faktorler. in: Kayıhan E, Kahraman Cetintas S (eds). Meme Kanserleri. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi. 2005; 201
12. Epstein AH, Conolly JL, Gelman R, et al. The predictors of distant relapse following conservative surgery and radiotherapy for early breast cancer are similar to those following mastectomy. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1989; 17:755-760.
13. Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, et al. Meeting highlights: International Consensus Panel on the Treatment of Primary Breast Cancer. J Clin. Oncol 2001;19:3817-27.

14. ESMO. Minimal Clinical Recommendation for diagnosis, adjuvant treatment and follow-up of primary breast cancer. Ann.Oncol 2001;12:1047-8.
15. Engin K, Çetintaş SK. Meme kanserlerinde klinik prognostik faktörler. içinde:Egehan İ. (yazar). Meme kanserleri. Bursa: Nobel Tıp Kitapevleri, 2005; 207-211
16. Sayek İ. Meme Kanserinde Prognostik Faktörler. İçinde : Çam R.(yazar). Temel Cerrahi. 3. baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitabevi, 2004; 953-958
17. Fisher B. Malignancies of the Breast. In: Cameron RB (eds), Practical Oncology. Appleton & Lange, Connecticut 1994; 417-434
18. Nixon AJ, Neuberg D, Hayes DF et al. Relationship of patient age to pathologic features of the tumor and prognosis for patients with stage I or II breast cancer. J Clin Oncol 1994;12(5): 888-94.
19. Elledge RM, Clark GM, Chamness GC, Osborne CK. Tumor biologic factors and breast cancer prognosis among white, Hispanic, and black women in the United States. J Natl Cancer Inst. 1994; 86(9):705-12.
20. Değerli Ü. Meme Kanseri. İn: Değerli Ü. (eds). Genel Cerrahi. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 1998. 288-96.
21. Knight WA, Livingston RB, Gregory EJ, McGuire WL. Estrogen receptor as an independent prognostic factor for early recurrence in breast cancer. Cancer Res. 1977;37(12):4669-71.
22. Jeng MH, Shupnik MA, Bender TP, Westin EH, Bandyopadhyay D, Kumar R, Masamura S, Santen RJ. Estrogen receptor expression and function in long-term estrogen-deprived human breast cancer cells. Endocrinology 1998;139 (10):4164-4174.
23. Walker RA. Estrogen receptor and its potential role in breast cancer development. J Pathol. 1999; 188:229-230.
24. Yamamoto T, Ikawa S, Akiyama T, Semba K, Nomura N, Miyajima N, Saito T, Toyoshima K. Similarity of protein encoded by the human c-erbB2 gene to epidermal growth factor receptor. Nature 319,230-234,1986.

25. JR Harris, M Morrow, L Norton. Malignant tumours of the breast cancer. In: DeVita, Hellman S, Rosenberg SA(eds). Cancer. Principles & Practice of Oncology (5th ed), Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1997, pp.1557-1616.
26. Sirvent JJ, Fortunato Mar A, Olona M, Orti A. Prognostic value of p53 protein expression and clinicopathological factors in infiltrating ductal carcinoma of the breast. A study of 192 patients Histology Histopathology 16 (1):99-106,2001
27. Cattoretti G, Rilke F, Andreda S, Mato LDA, Delia D. p53 expression in breast cancer. Int J Cancer 41:178-183,1998
28. DaWkins HJ, Robbins PD, Smith KLSarna M, Harvey JM, Sernet GF, Papadimitriou JM. What's new breast cancer ? Molecular perspectives of cancer development and the role of the oncogene c-erbB2 in prognosis and disease. Pathol Res Pract 1993; 189:10, 1233-52.
29. Boring CC, Squires TS, Tong T. Cancer statistics 1993. C.A. Cancer J Clin 1993; 43:4-26.
30. Barnes DM, Bartkova J, Campeljohr RS, Gullick WJ, Smith PJ, Millis RR. Overexpression of the c-erbB2 oncoprotein: why does this occur more frequently in ductal carcinoma in situ than in invasive mammary carcinoma and is this of prognostic significance? Eur J Cancer 1992; 28: 2-3, 644-8.
31. O'Mailey FP, Saad Z, Kerkvliet N, Doig G, Stitt L, Ainsworth P, Hundal H, Chambers AF, Turnbull DI, Bramwell V. The predictive power of semiquantitative immunohistochemical assessment of p53 and c-erbB2 in lymph node-negative breast cancer. Hum Pathol 1996; 27: 9, 955-63.
32. Perin T, Canzonieri V, Massarut S, Bidoli E, Rossi C, Roncadin M, Carbone A. Immunohistochemical evaluation of multiple biological markers in ductal carcinoma in situ of the breast cancer. Eur J Cancer 1996; 32 A:7: 1148-55.
33. Lagios MD. Classification of duct carcinoma in situ (DCIS) with a characterization of high grade lesions: defining cohorts for chemoprevention trials. J Cell Biochem 1996; Suppl 25: 108-11.
34. Rudas M, Neumayer R, Gnant MF, Mittelböck M, Jakesz R, Reiner A. p53 protein expression, cell proliferation and steroid hormone receptors in ductal and lobular in situ carcinomas of the breast. Eur J Cancer 1997; 33: 1, 39-44.

35. Ferrero-Pous M, Hacene K, Bouchet C, Le Doussal V, Tubiana-Hulin, Spyrtos F. Relationship between c-erbB2 and other tumor characteristics in breast cancer prognosis. *Clin Cancer Res.* 2000; 6 (12) : 4745-54.
36. Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer.* 1983 Jan 15;31:13-20.10. Trihia H, Murray S, Price K et al. Ki-67 expression in breast carcinoma. *Cancer* 2003; 97: 1321-31.
37. Huisman MA, De Heer E, Grote JJ. Cholesteatoma epithelium is characterized by increased expression of Ki-67, p53 and p21, with minimal apoptosis. *Acta Otolaryngol* 2003;123:377-82.
38. Koda M, Sulkowski S, Kanczuga-Koda L, Surmacz E, Sulkowska M. Expression of ERalpha, ERbeta and Ki-67 in primary tumors and lymph node metastases in breast cancer. *Oncol Rep.* 2004;11:753-9.
39. Hashimoto K, Araki K, Osaki M, Nakamura H, Tomita K, Shimizu E, Ito H. MCM2 and Ki-67 expression in human lung adenocarcinoma: prognostic implications. *Pathobiology* 2004;71:193-200.
40. Ohta G, Sakai H, Kachi S, Hirata A, Yonemaru K, Kitajima A, Yanai T, Masegi T. Assessment of proliferative potentials of canine osteosarcomas and chondrosarcomas by MIB-1 immunohistochemistry and bromodeoxyuridine incorporation. *J Comp Pathol.* 2004;131:18-27.
41. Bantis A, Giannopoulos A, Gonidi M, Liossi A, Aggelonidou E, Petrakakou E, Athanassiades P, Athanassiadou P. Expression of p120, Ki-67 and PCNA as proliferation biomarkers in imprint smears of prostate carcinoma and their prognostic value. *Cytopathology* 2004;15:25-31.
42. Leitner SP, Swern AS, Weinberger D, Duncan LJ: Predictors of recurrence for patients with small (one centimeter or less) localized breast cancer (T1a,b NO MO). *Cancer* 1995; 76(11): 2266-2273.
43. Brouillet JP, Theillet C, Maudelonde T, Defrenne A, Lafontaine JS, Sertour J, Pujol H, Jeanteur P, Rochefort H. Cathepsin D assay in primary breast cancer and Lymph nodes: Relationship with c-myc, c-erbB2 and int-2 oncogene amplification and node invasiveness. *Eur J Cancer.* 1990; 26(4):437-441.

44. Moyak D. Breast: Locally Advanced (T3 and T4) and Recurrent Tumors. in: Perez CA, Brady LW (eds), Principles and Practice of Radiation Oncology. 2 nd ed. J.B Lippincrott Company, Philadelphia 1992, 877-969.
45. Harris JR, Morrow M, Bonadonna G. Cancer of the Breast. in: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA (eds), Cancer, Principles and Practice of Oncology. J. B. Lippincrott Company, Philadelphia 1993, 1264-1265.
46. Patchefsky AS, Schwartz GF, Finkelstein SD, et al. Heterogeneity of intraductal carcinoma of the breast. Cancer 1989; 63: 731-741.
47. Lester, S.C., The Breast, Kumar, V., Abbas, A.K., Fausto, N., Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, VII. Baski, Philadelphia, Elsevier Saunders, 2005, 1129-1149.
48. Winner, E.P., Morrow, M., Osborne, C.K., Harris, J.R., Malignant tumors of the breast. VT De Vita, Hellman, S., Rosenberg, S.A., Cancer principles and practice of oncology. VI. Baski, Philedelphia, Lippincott Williams&Wilkins, 2001, 1651-1716.
49. Iqbal, M., Davies, M.P., Shoker, B.S., Jarvis, C., Sibson, D.R., Sloane, J.P., Subgroups of non-atypical hyperplasia of breast defined by proliferation of oestrogen receptor-positive cells. J Pathol., 193 (2001), 333-338.
50. Brody, L.C., Biesecker, B.B., Breast cancer susceptibility genes. BRCA1 and BRCA2. Medicine (Baltimore), 77 (1998), 208-226.
51. Struewing, J.P., Hartge, P., Wacholder, S. The risk of cancer associated with spesific mutations of BRCA-1 and BRCA-2 among Ashkenazi Jews. N Eng J Med., 336 (1997), 1401-1408.
52. Liotta L, Kohn E. Invasion and Metastases. In: Bast R (ed). Cancer Medicine. 5th edition. London: B. C. Decker Inc; 2000.122-32.
53. Fidler J. Molecular Biology of Cancer: Invasion and Metastasis. In: DeVita.VT (ed). Cancer Principle and Practice of Oncology. 5th edition. Lippincott-Raven; 1997.135-7.
54. Flamme I, Frolich T. and Risau W. Molecular mechanisms of vasculogenesis and embryonic angiogenesis.J Cell Physiol 1997;173:206-10.
55. Folkman J. Clinical applications of research on angiogenesis. N Engl J Med. 1995; 333:1757-63.

56. Galligioni E, Ferro A. Angiogenesis and antiangiogenic agents in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2001; 34: 3-7.
57. Bates DO, Hillman NJ, Neal CR, Pocock TM. Regulation of microvascular permeability by vascular endothelial growth factors. *J Anat* 2002; 200: 581-97.
58. Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent. *J Natl Cancer Inst.* 1990; 82:4-6.
59. Zetter BR. Angiogenesis and tumor metastasis. *Annu Rev Med.* 1998; 49: 407-24.
60. Grant DS, Rose RW, Kinsella JK et al. Angiogenesis as a component of endothelial mesenchymal interactions. In: *Epithelial-Mesenchymal interactions in Cancer*, ID Goldberg, Em Rosen, Birkhauser Verlag/Switzerland:Germany; 1995. 235-48
61. E. Topuz, A. Aydın, M. Dinçer, *Tümör Belirleyiciler, Meme Kanseri*, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2003 s:161-181
62. Hayes DF, Bast R, Desch CE, et al: A tumor marker utility grading system (TMUGS): A framework to evaluate clinical utility of tumor markers. *J Natl Cancer Inst* 88: 1456 - 1466, 1996
63. Eddy DM: Screening for breast cancer. *Ann Inter Med* 111: 389 - 399, 1989
64. Nyström L. Rutquist LE. Wall S, et al: Breast cancer screening ,with mammography : Overview of Swedish randomized trials. *Lancet* 341 : 973 - 978, 1993
65. Kaluzny AD, Rimer B, Harris R: The National Cancer Institute and guideline development: Lessons from the breast cancer screening controversy. *J Natl Cancer Inst* 86: 901 - 903, 1994
66. Sacks NP, Stacker SA, Thompson CH, et al: Comparison of mammary serum antigen (MSA) and CA 15-3 levels in the serum of patients with breast cancer. *Br J Cancer* 56: 820 - 824, 1987
67. Smart YC, Rogers KM, Brien JH, et al: Factors affecting MSA levels in normal women and women with breast cancer. *Aust NZ J Surg* 59: 805 - 809, 1989
68. Hayes DF: Serum (circulating) Tumor Markers for Breast Cancer. *Proceedings; 5 th Annual Conference, Adjuvant Therapy in Primary Breast*

Cancer, in Senn: Recent Results of Cancer Research. Heidelberg, Germany, Springer - Verlag, 1996;101- 113

69. Harris JR, Lippman ME, Veronesi U, et al: Breast cancer (part 1): N Engl J Med 327: 319 - 328, 1992

70. Sekine H, Hayes DF, Ohno T, et al: Circulating DF3 and CA 125 antigen levels in serum from patients with epithelial ovarian carcinoma. J Clin Oncol 3: 1355 - 1363, 1985

71. Perey L, Hayes DF, Tondini C. et al: Elevated CA 125 levels in patients with metastatic breast carcinoma. BR J Cancer 62: 668-670. 1990

72. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group T: Systemic treatment of early breast cancer by hormonal, cytotoxic, or immunotherapy: 133 randomised trials involving 31.000 recurrences and 24000 deaths among 75000 women. Lancet 339: 1-15, 71-85, 1992

73. Colomer R, Ruibal A, Salvador L: Circulating tumor marker levels in advanced breast carcinoma correlate with the extent of metastatic disease. Cancer 64: 1674 - 1681, 1989

74. Colomer R, Ruibal A, Genolla J, et al: Circulating CA 15-3 levels in the postsurgical follow-up of breast cancer patients and non-malignant disease. Breast Cancer Res Treat 13: 123 - 133, 1989

75. Hayes DF, Henderson IC, Shapiro CL: Treatment of metastatic breast cancer: Present and future prospects. Semin Oncol 22: 5-21, 1995

76. Carney W, Hamer P, Petit D, et al: Detection and quantitation of the neu oncoprotein. J Tumor Marker Oncol 6: 53-72, 1991

77. Leitzel K, Teramoto Y, Sampson E, et al: Elevated soluble c-erbB2 antigen levels in the serum and effusions of a proportion of breast cancer patients. J Clin Oncol 10: 1436-1443, 1992

78. Hayes DF, Cirincione C, Carney W. et al: Elevated circulating HER-2 / neu related protein (NRP) is associated with poor survival in patients with metastatic breast cancer. Proc Am Soc Clin Oncol 12:58a, 1993

79. Leitzel K, Teramoto Y, Konrad K, et al: Elevated serum c-erbB2 antigen levels and decreased response to hormone therapy of breast cancer. J Clin Oncol 13. 1129 - 1135, 1995

80. Yamauchi H, O'Neil A, Gelman R, et al: Elevated circulating HER-2 / neu related protein (NRP) is associated with low response rate (RR) to first-line hormone therapy (HT) in patients with estrogen and/or progesterone receptor positive (ER/PR Pos) advanced breast cancer (AdBrCA). *Proc Am Soc Clin Oncol* 15: 113a, 1996
81. Wright C, Nicholson S, Angus B. et al: Relationship between c-erbB2 protein product expression and response to endocrine therapy in advanced breast cancer. *Br J Cancer* 65: 118-121. 1992
82. Carlomagno C, Perrone F, Gallo C, et al: c-erbB2 overexpression decreases the benefit of adjuvant tamoxifen in early stage breast cancer without axillary lymph node metastases .*J Clin Oncol* 14: 2702-2708, 1996
83. Nguyen M, Watanabe H, Budson A, et al: Basic fibroblast growth factor (BFGF) is elevated in the urine of patients with a wide variety of neoplasms. *Mal Biol Cell* 3: 234A,1992
84. Nguyen M, Watanabe I-I, Boelson A, et al: Elevated levels of angiogenic peptide, basic fibroblast growth factor, in the urine with a wide spectrum of cancers . *J Natl Cancer Inst* 86: 356 - 361, 1994
85. Watanabe H, Nguyen M, Schizer M, et al: Basic fibroblast growth factor in human serum: a prognostic test for breast cancer. *Mol Biol Cell* 3: 324 A, 1992
86. Rosen PP, Groshen S, Kinne DW: Prognosis in T2NOMO stage I breast cancer: A 20 year follow up study .*J Clin Oncol* 9: 1650 - 1661, 1991
87. Rosen PP, Groshen S, Kinne DW: Survival and prognostic factors in node negative breast cancer: Results of long term follow up studies . *J Natl Cancer Inst Monogr* 11: 159 - 162, 1992
88. Yasasever V, Dinçer M, Çamlıca H, et al: Evaluation of phosphohexose isomerase as a metastasis in breast cancer patients. *Eur J Gynaec Oncol XVIII*: 397-399, 1997
89. Ruibal A, Colomer R, Genolla J: Prognostic value of CA 15-3 serum levels in patients having breast cancer. *Horm Metab* 1: 11-15, 1987
90. Kallioniemi O, Oksa H, Aaran R, et al: Serum CA 15 - 3 assay in the diagnosis and follow up of breast cancer. *Br J Cancer* 58: 213 - 215, 1988

91. Safi F, Kohler I, Rottinger E, et al: Comparison of CA 15 - 3 and CEA in diagnosis and monitoring of breast cancer. *Int J Biol Markers* 4: 207 - 214, 1989
92. Hayes DF, Kaplan W: Evaluation of patients af ter primary therapy, in Harris J, Lippman M, Morrow M, et al: *Disease of the Breast*. Philaelphia, Lippincott, 1996, s.627 - 645
93. ASCO Expert Panel T: Clinical practice guidelines for the use of tumor markers in breast and colorectal cancer: Report of the American Society of Clinical Oncology Expert Panel. *J Clin Oncol* 14: 2843-2877, 1996
94. Hayes DF, Kiang DT, Korzun A, et al: CA 15-3 and CEA spikes during chemotherapy for metastatic breast cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 7: 38a, 1988
95. Yasasever V, Dinçer M, Çamlıca H, et al: Utility of CA 15-3 and CEA in monitoring breast cancer patients with bone metastases: Special emphasis on "Spiking" phenomena. *Clin Biochem* 30: 153 - 156, 1997
96. Pirolo F, Pacini P, Borstti M, et al: The role of CA 15-3 and MCA monoclonal antibody assay in the detection of primary and recurrent breast cancer. *Anticancer Res* 11: 729 - 732, 1991
97. Eskelinen M, Hippelaine M, Carlsson L, et al: A decision support system for predicting a recurrent of breast cancer: A prospective study of serum tumour markers TAG 12, CA 15-3 and MCA. *Anticancer Res* 12: 1439-1442, 1992
98. Duncan JL, Price A, Rogers K: The use of CA 15 -3 as a serum tumour marker in breast carcinoma. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1991; 17:16–19.
99. O' Brien DP, Horgan PG, Gough DB, et al: CA 15-3: A reliable indicator of metastatic bone disease in breast cancer patients. *Ann Roy Coll Surg Eng* 74: 9 - 12, 1992
100. Pons Anicet DMF, Krebs BP, Mira R, et al: Value of CA 15-3 in the follow up breast cancer patients. *Br J Cancer* 55: 567 - 570, 1987
101. Crippa F, Bombardieri E, Seregini E, et al: Single determination of CA 15-3 and bone scintigraphy in the diagnosis of skeletal metastases of breast cancer. *J Nuc Biol Med* 36: 52 - 55, 1992

102. Nicolini A, Colombini C, Luicani L, et al: Evaluation of serum CA 15-3 determination with CEA and TPA in the post operative follow up of breast cancer patients. *Br J Cancer* 64: 154 -158, 1991
103. Markopoulos CJ, Gogas HJ, Alevizou Terzaki B, et al: CA 15-3 in the prediction of recurrence of breast cancer. *Breast Dis* 7: 1-5, 1994
104. Miserez AR, Gunes I, Müller Brand J, et al: Clinical value of a mucin like carcinoma associated in monitoring breast cancer patients in comparison with CA 15-3. *Eur J Cancer* 27: 126 - 131, 1991
105. Caponigro F, Iaffaioli RV, Pagliarulo C, et al: CA 15-3 in human breast cancer. Comparison with tissue polypeptide antigen (TPA) and carcinoembryonic antigen (CEA) *Int J Biol Markers* s: 73-76, 1990
106. Molina R, Filella X, Monqual P, et al: MCA in patients with breast cancer: Correlation with CEA and CA 15-3. *Int J Biol Markers* 5: 14 - 21, 1990
107. Fujino N, Haga Y, Sakamoto K, et al: Clinical evaluation of an immunoradiometric assay for CA 15-3 antigen associated with human mammary carcinomas comparison with carcinoembryonic antigen. *Jpn J Clin Oncol* 16: 335 -346, 1986
108. Dnistrian AM, Schwartz MK, Greenberg EL, et al: CA 15-3 and carcinoembryonic antigen in the clinical evaluation of breast cancer. *Clinica Chimica Acta* 200: 81 - 94, 1991
109. Robertson J, Pearson D, Price MR, et al: Objective measurement of therapeutic response in breast cancer using tumor markers. *J Clin Oncol* 7: 1057-1065, 1992
110. Van Dalen A, Van Der Linde DL, Heering KJ, et al: How can treatment response be measured in breast cancer patients? *Anticancer Res* 13: 1901 - 1904, 1993
111. Michail Ignitiadis, Vassilis Georgoulas, Dimitris Mavroudis, Circulating tumor cell in breast cancer, *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2007, 20:55-60
112. Cohen SJ, Alpaugh RK, Gross S et al. Isolation and characterization of circulating tumor cells in patients with metastatic colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2006; 6:125-132

113. Yih-Huei Uen, Shiu-Ru Lin et al. Prognostic significance of multiple molecular markers for patients with stage II colorectal cancer undergoing curative resection, *Ann Surg* 2007;246: 1040-46
114. Michio Naoe, Yoshio Ogawa, Jun Morita et al. Detection of circulating urothelial cancer cells in the blood using the cellsearch system, *American cancer society* 2007, 109:1439-45
115. Lyndsay Harris, Herbert Fritsche, Robert Mennel et al. American Society of Clinical Oncology 2007 Update of Recommendations for the Use of Tumor Markers in Breast Cancer, *Journal of Clinical Oncology*. 2007; 25(33) 5303-5304
116. Marija Balic, Nadia Dandachi, Günter Hofmann et al. Comparison of two methods enumerating circulating tumor cells in carcinoma patients, *Cytometry. Part B, Clinical cytometry*. 12/2005; 68(1):25-30.
117. Walid A. Osta, Yian Chen, Kaidi Mikhitarian et al. EpCAM Is Overexpressed in Breast Cancer and Is a Potential Target for Breast Cancer Gene Therapy. *Cancer Research* 2004;64:5818–5824.
118. Edmond Godfroid, Maurice Geuskens, Thierry Dupressoir et al. Cytokeratins are exposed on the outer surface of established human mammary carcinoma cells. *Journal of Cell Science* 1991;99:595-607.
119. Glenn Deng, Michael Herrler, David Burgess et al. Enrichment with anti-cytokeratin alone or combined with anti-EpCAM antibodies significantly increases the sensitivity for circulating tumor cell detection in metastatic breast cancer patients. *Breast Cancer Research* 2008, 10:69.
120. Hayes DF, Cristofanilli M, Budd GT et al. Circulating tumor cells at each follow-up time point during therapy of metastatic breast cancer patients predict progression-free and overall survival. *Clin Cancer Res* 2006; 12:4218-4224.
121. Massimo Cristofanilli, Daniel F. Hayes, G. Thomas Budd Circulating Tumor Cells: A Novel Prognostic Factor for Newly Diagnosed Metastatic Breast Cancer San antonio breast cancer symposium. *Journal of Clinical Oncology*. 2005. Vol:23 N:7 1420-29
122. G. Thomas Budd, Massimo Cristofanilli, Leon W.W.M Terstappen et al. Correlation of Changes in Circulating Tumor Cells and Radiographic Response to

Treatment in Patients with Metastatic Breast Cancer. San antonio breast cancer symposium 2004

123. Lanza LA, Natarajan G, Roth JA, Putnam JB Jr. Long term survival after resection of pulmonary metastases from carcinoma of the breast. Ann Thorac Surg 1992; 52: 244-7.

124. Songdong Meng, Debasish Tripathy, Eugene P. Frenkel et al. Circulating Tumor Cells in Patients with Breast Cancer Dormancy. Clinical Cancer Research 2004; 10: 8152-62

125. Volkmar Müller, Nicole Stahmann, Sabine Riethdorf et al. Circulating Tumor Cells in Breast Cancer: Correlation to Bone Marrow Micrometastases, Heterogeneous Response to Systemic Therapy and Low Proliferative Activity. Clin Cancer Res 2005;11 3678-85

126. Pia Wülfing, Julia Borchard, Horst Buerger et al. HER-2 Positive Circulating Tumor Cells Indicate Poor Clinical Outcome in Stage I to III Breast Cancer Patients. Clin Cancer Res 2006;12(6) 1715-20

127. B.W. Park, J.W. Oh, J.H. Kim et al. Preoperative CA 15-3 and CEA serum levels as predictor for breast cancer outcomes Annals of Oncology 2008 19: 675–681

128. Suhail M. Ali, Kim Leitzel, Vernon M. Chinchilli et al. Relationship of Serum HER-2/neu and Serum CA 15-3 in Patients with Metastatic Breast Cancer. Clinical Chemistry 2002;48:8 1314–1320

129. Can Atalay Are CA 15-3, CEA and CA 125 Predictors for Lymphatic and Vascular Spread In Breast Cancer? Erciyes Tıp Dergisi (Erciyes Medical Journal) 2008;30(4): 218-224

130. Bülent Karabulut, Veliddin Canfeza Sezgin, Ulus Ali Şanlı, Meme Kanserinde c-erbB2 Ekspresyonu İle Diğer Prognostik Faktörler Arasında İlişki Var Mı? Ege Tıp Dergisi 2003;42 (3): 161 -165

131. Hatice Toy, Salim Güngör Meme infiltratif duktal karsinomlarında histopatolojik grade ve proliferasyon belirleyicilerinin prognostik amaçlı kullanımı Genel Tıp Derg 2004;14(1):7-12

132. Sultan Eser. Kanser Kayıtlılığında Standartlar El Kitabı, dördüncü basım, Mart 2005; 51

133. Vousden KH, Lu X. Live or let die: the cell's response to p53. Nat Rev Cancer 2002;2:594-604.
134. Vogelstein B, Lane D, Levine AJ. Surfing the p53 network. Nature 2000;408:307-10.
135. Münire Hacibekiroğlu. Meme Kanserinde Tümör Markerlar ve Biyokimyasal Değişimler, Meme kanseri sempozyum dizisi, 2006; 54:35-41

10. ÖZGEÇMİŞ

Doğum tarihi ve yeri	: 19-10-1979 Denizli/Merkez
İlkokul	: 1986-1991 Denizli Hürriyet İlkokulu
Ortaokul	: 1991-1993 Denizli Merkez Ortaokulu
Lise	: 1994-1997 Denizli Endüstri Meslek Lisesi
Üniversite	: 1997-2004 Ege Ü. Tıp Fakültesi
Tıpta Uzmanlık Eğitimi	: 2005-2009 İzmir Atatürk Eğ. ve Ar. Hastanesi Tıbbi Biyokimya
Yabancı dil	: İngilizce

EK-1

Hasta	yaş	ctc(7,5cc)	CA 15-3	Patoloji	lokalizasyon	ER	PR	P 53	cerbB2	ki-67	histolojik derece	metastaz	terapi	Aile öyk.	sigara
D.U.	31	0	25,76	invaziv duktal karsinom	sol	neg	neg	neg	poz	40%	2	beyin	KT RT	yok	var
E.G.	50	0	298,87	invaziv duktal karsinom	sol	poz	neg	neg	poz	8%	2	kemik	KT RT	yok	yok
H.G.	75	0	74,4	invaziv duktal karsinom	sağ	neg	poz	poz	neg	15%	2	beyin,AC	KT RT	yok	yok
M.Y.	63	0	40,6	invaziv duktal karsinom	sol	poz	poz	neg	neg		2	KC	KT RT HT	var	yok
N.Ö.	51	0	18,39	invaziv duktal karsinom	sol	poz	poz	neg	neg	30%	2	KC	KT RT HT	yok	yok
E.B.	69	0	15,56	invaziv duktal karsinom	sol	neg	neg	neg	poz		2	kemik	KT	yok	yok
A.Ç.	68	1	19,58	invaziv duktal karsinom	sol	neg	poz	poz	poz	50%	3	kemik	KT	yok	yok
H.A.	53	1	107,13	invaziv duktal karsinom	sol	neg	neg	neg	neg	1%	2	kemik	KT RT	yok	yok
M.Ş.	43	1	309,6	invaziv duktal karsinom	sağ	neg	poz	neg	neg		2	kemik	KT RT	yok	yok
K.E.	56	1	65,11	invaziv duktal karsinom	sol	poz	poz	neg	poz		2	kemik	KT RT HT	yok	yok
H.Y.	49	2	45,98	miks (inv duktal inv mikropapiller)	sol	neg	neg	poz	poz		2	KC	KT	var	yok
K.S.	62	2	8,21	koloid karsinom	sol	poz	poz	neg	neg		2	AC	KT RT	yok	yok
A.Ç.	35	3	912,24	miks (duk lobüler müsnöz)	sol	poz	poz	neg	neg		2	kemik	KT HT	yok	yok
B.A.	38	5	73,32	invaziv duktal karsinom	sağ	poz	poz	neg	neg		2	kemik	KT RT HT	yok	yok
D.A.	51	5	1748,38	miks (inv duk mikropapiller kar)	sağ	poz	neg	neg	neg		3	KC, AC	KT RT	yok	yok
S.D.	40	5	173,09	invaziv duktal karsinom	sol	poz	neg	poz	poz	1%	2	kemik	KT RT	yok	yok
S.D.	43	6	115,66	invaziv lobuler karsinom	sol	neg	neg	neg	poz	8%	3	kemik	KT RT	yok	yok
V.S.	57	6	342,95	miks (inv. duktal, inv. lobuler)	sol	poz	poz	poz	poz	45%	2	KC, kemik, beyin	KT RT HT	yok	yok
F.Y.	50	7	109,28	invaziv duktal karsinom	sağ	neg	poz	poz	neg		2	kemik	KT RT	var	var
Ş.S.	47	9	104,51	invaziv duktal karsinom	sağ	poz	poz	neg	neg		2	KC	KT RT	yok	yok
S.Ç.	30	10	130,06	invaziv duktal karsinom	sağ	neg	poz	poz	neg	0%	2	kemik	KT RT	yok	yok
B.B.	41	12	116,19	mix(invaziv duk invaziv lob)	sol	poz	poz	poz	poz	60%	2	kemik, KC	KT	var	yok
E.A.	36	13	575,66	İnvaziv duktal karsinom	sol	neg	neg	neg	neg	1%	3	kemik	KT	yok	yok
M.G.	41	13	70	İnflamatuvar karsinom	sol	neg	poz	poz	poz	10%	3	AC	KT	yok	yok
M.K.	61	32	847,02	invaziv duktal karsinom	sol	poz	neg	poz	poz		2	KC kemik	KT RT	yok	yok
M.B.	71	33	147,26	invaziv duktal karsinom	sol	neg	neg	poz	poz		3	AC	KT RT	yok	yok
C.D.	52	36	83,4	invaziv lobuler karsinom	bilat	poz	poz	poz	neg		2	kemik	HT KT	yok	yok
G.Y.	55	45	170,13	invaziv duktal karsinom	sağ	neg	poz	poz	neg	3%	3	KC	KT RT HT	yok	yok
A.U.	56	93	125,77	invaziv duktal karsinom	sağ	neg	poz	poz	poz	67%	3	kemik	KT RT	yok	yok
G.İ.	51	111	323,21	invaziv duktal karsinom	Sol	poz	neg	neg	poz		2	KC	HT RT KT	var	var

