



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

**ÖSTROJEN RESEPTÖRÜ POZİTİF MEME
KANSERİ HASTALARINDA
HORMONOTERAPİYE DİRENCİN
MOLEKÜLER GENETİK YÖNTEMLE (CYP2D6
GEN POLİMORFİZMLERİ AÇISINDAN)
İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Saniye Sevim TUNCER

Antalya, 2013



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

**ÖSTROJEN RESEPTÖRÜ POZİTİF MEME
KANSERİ HASTALARINDA
HORMONOTERAPİYE DİRENCİN MOLEKÜLER
GENETİK YÖNTEMLE (CYP2D6 GEN
POLİMORFİZMLERİ AÇISINDAN)
İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Saniye Sevim TUNCER

Tez Danışmanı: Prof.Dr. F. Şeyda KARAVELİ

“Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

Antalya, 2013

“Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2012.01.0103.006 No’lu araştırma projesi ile desteklenmiştir”

TEŞEKKÜR

Öncelikle uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, tezimin hazırlanmasından basımına kadar her aşamada bana büyük yardımları olan değerli hocam ve Anabilim Dalı başkanımız Sayın Prof.Dr. F. Şeyda Karaveli'ye, tıbbi patoloji uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve bakış açımın gelişmesinde gerekli desteği ve olanakları sağlayan tüm saygıdeğer hocalarıma, beraber çalışmaktan büyük zevk aldığım tüm asistan arkadaşlarıma, tezimin laboratuvar çalışmaları ve moleküler patoloji yönündeki katkılarından dolayı Uz.Dr. Mualla Özcan'a teşekkür ederim.

Bu yoğun çalışma temposu içerisinde bana her zaman enerji ve moral veren, destek olan sevgili eşim Dr. Osman Nuri Tuncer'e ve bugünlere ulaşmamda büyük katkısı olan, desteğini ve sevgisini hiç esirgemeyen kıymetli aileme ayrıca çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Kısaltmalar Dizini	iii
Şekiller Dizini	iv
Çizelgeler Dizini	vi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Meme Karsinomları	5
2.1.1. Epidemiyoloji	5
2.1.2. Etyoloji ve patogeneze	6
2.1.3. Risk faktörleri	11
2.1.4. Genetik predispozisyon	15
2.1.5. Lokalizasyon	17
2.1.6. Multisentrisite	17
2.1.7. Bilateralite	17
2.1.8. Meme tümörlerinin sınıflaması	17
2.1.9. Evreleme	20
2.1.10. Prognostik faktörler	23
2.1.11. Prediktif faktörler	24
3. TEDAVİ	25
3.1. Cerrahi Tedavi	25
3.1.1. Erken evre meme kanserinde cerrahi	25
3.1.2. Lokal ileri evre meme kanserinde cerrahi	27
3.2. Kemoterapi	28
3.2.1. Erken evre meme kanserinde kemoterapi	28
3.2.2. Lokal ileri evre meme kanserinde kemoterapi	28
3.3. Hedefe Yönelik Tedavi	29
3.4. Radyoterapi	30
3.5. Hormonal Tedavi	31
3.5.1. Hormonal tedavi tarihçesi	31
3.5.2. Hormonal tedavide kullanılan ilaçlar, farmakolojik özellikleri ve yan etkileri	32
4. MEME KANSERİ HASTALARINDA YAŞAM KALİTESİ TANIMI VE ÖLÇEKLERİ	41

5. HORMONOTERAPİYE DİRENÇ MEKANİZMALARI	43
5.1. Günümüze Kadar Tamoksifen Direnci İçin Öne Sürülmüş Mekanizmalar	44
5.1.1. Her-2 Neu(c-ErbB2) overekspresyonu	44
5.1.2. HOXB7 proteini overekspresyonu	44
5.1.3. Büyüme faktörü reseptörleri ve östrojen reseptörü arasındaki çapraz reksiyonlar	45
5.1.4. Epigenetik değişimler	46
5.1.5. Tamoksifen farmokogenetiğinde bireysel farklılıklar	46
5.2. Tamoksifen Metabolizması Ve Sitokrom P-450 Enzimleri	47
5.2.1. Sitokrom p450 enzimleri	47
5.2.2. Tamoksifen metabolizması	49
5.2.3. Tamoksifen metabolizmasına genetik etkiler	50
6. GEREÇ VE YÖNTEM	56
6.1. Olguların Seçilmesi	56
6.1.1. Çalışma grubunun seçilmesi	56
6.1.2. Kontrol grubunun seçilmesi	56
6.2. INFINITI™ Sistemi	56
6.2.1. INFINITI™ analizör	57
6.2.2. BioFilmChip™ Microarray (BioFilmÇip Mikrodizi)	57
6.2.3. Intellipac™ Reagent yönetim modülü (Intellipac reaktif modülü)	58
6.2.4. Qmatic™ işletim yazılımı	59
6.3. Parafine Gömülü Dokudan DNA İzolasyonu	59
6.4. Cihazın Çalıştırılması	61
6.5. CYP2D6 Gen Mutasyonlarının Belirlenmesi	61
6.6. Olguların Değerlendirilmesi	65
6.7. İstatistiksel Değerlendirme	66
7. BULGULAR	67
8. TARTIŞMA	78
9. SONUÇLAR	99
10. ÖZET	101
11. ABSTRACT	104
12. KAYNAKLAR	106

KISALTMALAR DİZİNİ

Aİ	Aromataz İnhibitörleri
AJCC	American Joint Comittee of Cancer
cerbB2	HER2/neu
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor (Epidermal büyüme faktörü reseptörü)
EM	İyi Metabolize Edici Grup
ER	Östrojen reseptörü
FFPE	Formalin ile fikse parafine gömülü
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
FISH	Flöresan in- situ hibridizasyon
HER2	Human epidermal growth faktör reseptör 2
IM	Orta düzey metabolize ediciler
MRM	Modifiye radikal mastektomi
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
PM	Zayıf metabolize edici grup
PR	Progesteron reseptörü
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
SERM	Selektif östrojen reseptör modülatörü
SHBG	Seks hormonu bağlayıcı globulin
SLNB	Sentinel lenf düğümü biyopsisi
TAM	Tamoksifen
TDLU	Terminal Duktal Lobüler Ünite
UM	Hızlı Metabolize Edici Grup
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. Premenapozal ve postmenapozal dönemde östrojen üretimi	32
3.2. Hormonoterapinin tarihçesi	33
5.1. CYP2D gen lokusu	48
5.2. CYP450 genlerinin adlandırılması	49
5.3. Tamoksifen metabolizması	51
5.4. CYP2D6 enzimini aktive ve inhibe eden ilaçlar	53
6.1. BioFilmChip™ Microarray dizaynının ayrıntılı görüntüsü	57
6.2. Analizde kullanılan spotların dizilimi	58
6.3. Intellipac™ Reagent yönetim modülü (Intellipac reaktif modülü)	59
8.1. CYP2D6 enzimi genotip – fenotip ilişkisi	80

TABLOLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Meme kanserinde TNM evreleme sistemi	23
3.1. Her-neu İHK'sal boyamasının skorlanması	29
3.2. İHK'sal Her2-neu skorlarına göre olguların değerlendirilmesi	29
3.3. Her2-neu testi algoritması	30
3.4. Meme kanseri hastalarında endokrin tedavi seçenekleri	34
3.5. Aromataz inhibitörlerinin sınıflandırması	36
5.1. CYP2D6 gen polimorfizmleri	52
5.2. CYP2D6 gen polimorfizmlerine göre birlikte kullanılan ilaçlara bağlı CYP2D6 enzim inhibisyonu	55
6.1. Autogenomics Infinity CYP2D6I ile belirlenebilen gen polimorfizmleri	63
7.1. Çalışma grubundaki olguların tümör lokalizasyonuna göre dağılımı	68
7.2. Çalışma grubundaki hastaların evrelere göre dağılımı	69
7.3. Çalışma grubundaki hastaların metastaz bölgelerine göre dağılımı	70
7.4. Çalışma grubundaki olgularda evre ve metastaz ve/veya nüks gelişimine kadar geçen süre arasındaki ilişki	71
7.5. Tümör evresi ve metastaz dağılımı arasındaki ilişki	71
7.6. Tedavi tipi ile metastaz ve/veya nüks gelişimine kadar geçen süre arasındaki ilişki	72
7.7. Tümör tipi ve metastaz gelişimi arasındaki ilişki	72
7.8. Gen polimorfizmi ve metastaz ve/veya nüks gelişimine kadar geçen süre arasındaki ilişki	73
7.9. Polimorfizm gösteren olguların bazı özellikleri	74

7.10.	Çalışma grubundaki olguların endometrium küretaj tanılarının dağılımı	74
7.11.	Kontrol grubu hastalarının evrelere göre dağılımı	75
7.12.	CerbB2 ekspresyonu ve metastaz gelişim arasındaki ilişki	76
8.1.	CYP2D6 polimorfizminin klinik seyirde etkisiz olduğunu gösteren çalışmalar	82
8.2.	CYP2D6 polimorfizminin klinik seyirde etkili olduğunu gösteren çalışmalar	84
8.3.	Kombine CYP2D6 genotipi ile klinik seyir arasında anlamlı sonuç bulunan çalışmalar	85
8.4.	Meme kanseri tedavisinde kullanılan ilaçların metabolizmasında görevli sitokrom p450 enzimleri	89
8.5.	Bazı ülkelerde belirlenmiş olan CYP2D6 fenotip sıklıkları	94
8.6.	Güçlü CYP2D6 inhibitörü ilaçlar	95
8.7.	CYP2D6 enzimi ile metabolize olan ve enzime bağlanma gücüne göre enzim inhibisyonu yapan ilaçlar	96
8.8.	Tamoksifen ile CYP2D6 enzim inhibitörü ilaçların birlikte kullanımının klinik seyir üzerine etkisini araştıran çalışmalar	97

1. GİRİŞ

Meme kanseri, kadınlarda en sık görülen kanserdir. Kanser ile ilişkili ölümlerin %20'sinden sorumlu olup, kansere bağlı ölümlerde ise akciğer kanserinden sonra ikinci sırada gelmektedir. Sağlık Bakanlığının verilerine göre, Türkiye'de meme kanseri insidansının kadınlar arasında %35 oranında olduğu gözlenmektedir. Yine Sağlık Bakanlığı verilerine göre, ülkemizin batısında meme kanseri insidansının doğusuna oranla yaklaşık 2 kat daha fazla olduğu görülmektedir. Meme kanserli hastalarda 5 yıllık sağ kalım oranı, gelişmiş ülkelerde %73 iken gelişmekte olan ülkelere ise %53'dür. Bu oran farklılığı, gelişmiş olan ülkelere mamografi sayesinde erken tanının sağlanabilmesi ve daha iyi tedavi olanaklarının bulunması ile açıklanabilmektedir. Meme kanserinin etyolojisi tam olarak bilinmemekle beraber bazı risk faktörleri belirlenmiştir. Bunlar, cinsiyet, yaş ve etnik farklılıklar gibi demografik özellikler, reproduktif öykü (menarş yaşı, doğum yapma ve doğum sayısı, menopoz yaşı, kısa laktasyon süresi ve infertilite), ailesel/genetik faktörler (aile öyküsünün varlığı, BRCA-1/BRCA-2, p53, PTEN veya meme kanseri riski ile ilişkili diğer genlerde mutasyonun bulunması), çevresel faktörler (hormon replasman tedavisi, alkol kullanımı, sosyoekonomik düzey) sayılabilmektedir (1).

Meme kanseri, farklı gen ekspresyon paternlerine göre farklı alt grupları olan heterojen özellikteki bir kanserdir. Gen ekspresyon çalışmalarına göre meme kanseri intrinsik alt grup olarak da adlandırılan gruplara ayrılmaktadır. Bu alt gruplar; luminal A, luminal B, epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (Her2-neu) pozitif olan tümörler, bazal benzeri meme kanserleri ve normal meme benzeri meme kanserleri olarak adlandırılmaktadır. Bu alt tiplerin her biri farklı histopatolojik, moleküler ve klinik özelliklere sahip olmakla beraber tedavide farklı yaklaşımlar uygulanmaktadır. Östrojen ve progesteron reseptörü pozitif grup olan luminal A ve B alt gruplar hormonal terapilere duyarlı iken, Her2- neu pozitif alt gruplar ise trastuzumab, lapatinib ve diğer Her2-neu hedefli ilaçlara duyarlıdır (2, 3). Bu nedenle meme kanserinde tedaviyi yönlendirmesi açısından, tümör dokusu hormon reseptörleri (ER ve PR) ve Her2-neu ekspresyonunun varlığını belirlemek için analiz edilmektedir.

Meme kanserli olguların 2/3'ünden çoğu ER pozitif olup 5 yıllık sağkalım için hormonal terapi (ya tamoksifen ya da aromataz inhibitörleri) uygulanmaktadır (4). Selektif östrojen reseptör modülatörü (SERM) olan tamoksifen (TAM), vücuttaki birçok ilacın metabolizmasından sorumlu karaciğer enzimi olan sitokrom P450 (CYP) enzimleri tarafından metabolize edilmektedir. Tamoksifenin kendisi östrojen için zayıf afinite gösterdiği için ön-ilaç olarak tanımlanmaktadır. CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4 ve CYP3A5'i içeren birçok sitokrom P450 enzimi, tamoksifenin aktif ve inaktif metabolitlerine biotransformasyonunu katalizler. CYP2D6, TAM'a göre ER'ye 10 kat daha fazla afinite gösteren ve TAM'ın en aktif metabolitlerinden olan 4-Hidroksi tamoksifen ve endoksifen üretiminde önemli rol oynamaktadır. Endoksifen ve 4-Hidroksi-tamoksifen eşit antiöstrojenik etkiye sahiptirler (5).

ER ve PR pozitif olan metastatik meme kanserli olguların yaklaşık %80'i, anti-hormonal terapiye yanıt oluştururken, ER pozitif olguların bir kısmı da tamoksifene karşı direnç göstermektedir. Adjuvan tedavi olarak tamoksifen alan meme kanserli olguların çoğunda, tamoksifene direnç nedeniyle rekürrens gerçekleşmekte ve bu nedenle yaşamlarını yitirmektedirler. Ayrıca uzun süreli tedavi sırasında kazanılmış bir direncin ortaya çıktığı gösterilmiştir. Tamoksifene karşı ilaç direnci için üç olası mekanizma ileri sürülmektedir. Bunlardan birisi, hasta metabolizmasındaki veya genetik yapısındaki değişikliklerle tamoksifenin etkinliğinin değişmesi, diğeri ER-pozitif tümörün tedaviye dirençli olması veya sonradan dirençli hale gelmesidir. İntrinsik dirençlilik için de birkaç mekanizma ileri sürülmektedir. Büyüme faktörlerin rol oynadığı sinyal yolları ve ER koregülatör dengesi arasındaki etkileşimler, ER üretimi yokluğuna yol açan epigenetik regülasyonların etkili olabileceği düşünülmektedir (6,7). Epidermal büyüme faktörü, insülin benzeri büyüme faktörü I'in, fosfotidil inositol 3-kinaz/AKT yoluyla ER-alfa aktivitesini modüle ettiği gösterilmiştir. Bu yolağın sürekli olarak aktivasyonu, örneğin ER-alfanın fosforilasyonu yoluyla tamoksifene olan sensitivitenin azalmasına yol açabilmektedir. Dolayısıyla bu yollar üzerinden, kazanılan direncin nasıl geliştiğinin ve ilişkili olabilecek sinyal yollarının araştırılması gerekmektedir.

İlerleyen genetik çalışmalar sonucunda, bireysel genetik varyasyonların bir ilacın etkinliğini ve güvenilirliğini etkileyebileceği gösterilmiştir. Tamoksifenin metabolik aktivasyonunda primer rol oynayan CYP2D6'da meydana gelen değişikliklerin, ilaca karşı oluşturulan yanıtta önemli olabileceği gösterilmiştir. CYP2D6 geni 22q13.1 kromozomal bölgesinde lokalize olup, oldukça polimorfik bir genidir. Bazılarının enzim aktivitesinde değişime neden olduğu gösterilmiş 100'den fazla allelik varyantı bulunmaktadır. Wild tip (WT) CYP2D6 enzimi, CYP2D6 *1 olarak kabul edilir. Enzim aktivitesinde azalma veya yokluğa sebep olan değişiklikler de bulunmakta olup, bu varyantlar zayıf (poor metabolizers: PM), orta (intermediate metabolizers: IM), normal (extensive metabolizers: EM) veya hızlı (ultrarapid metabolizers: UM) metabolize ediciler şeklinde etkisini göstermektedir (8,9). Polimorfizm sıklığı etnik gruplar arasında farklılıklar göstermektedir. PM varyantı, Kafkaslarda %7-10, Afrikalılarda %2 ve Asyalılarda %1 sıklıkla görülmektedir. CYP2D6 *3 (2549A del), CYP2D6 *4 (1846 G>A), CYP2D6 *5 (gen delesyonları), CYP2D6 *6 (1707 T>del), CYP2D6 *7 (2935 A>C), CYP2D6 *8 (1758 G>T), CYP2D6 *11 (883 G>C), CYP2D6 *12 (124 G>A) değişimleri aktivite kaybına yol açan değişimler olup, PM fenotipe neden olmaktadır (10).

CYP2D6'da meydana gelen değişimler tüm olgulardaki direnci açıklamaya yetmemektedir. Direnç gösteren olgularda yeni tedavi protokollerinin geliştirilebilmesi için direnç mekanizmaları halen araştırılması gereken bir konudur (10). Antiöstrojen direncinin moleküler mekanizması oldukça karışık olup, östrojen varlığına yanıt olarak östrojen yolağının aktivasyonu, östrojen kofaktörleri, hücre siklusu regülatörleri, hücre sağ-kalım ve apoptoz araçları yoluyla bir seri hücre büyüme olayları başlamaktadır. Yapılan klinik ve deneysel çalışmalar, epidermal büyüme faktörü reseptör (EGFR) ailesinin aktivitesindeki artışın direnç ile ilişkili olabileceğini göstermiştir. PI3K/AKT (fosfotidilinositol 3-kinaz/protein kinaz B) ve MAPK/ERK (mitojence aktive olmuş tirozin kinaz/ekstraselüler sinyalle regüle edilen kinaz) yollarının aktivasyonu, östrojenin fosforilasyonuna yol açarak direnç gelişimine yol açabilmektedir (11). Diğer taraftan, Bcl-2 ve Bcl-xL gibi anti-apoptotik genlerin aşırı ekspresyonu da direnç gelişimine yol açmaktadır (12).

Bizim bu çalışmamızda, tamoksifen tedavisine direnç gösteren, ER pozitif meme kanserli 36 vakada ve kontrol grubu olarak ise tamoksifene iyi yanıt gösteren 36 vakada, mikroarray temelli sistem kullanarak (Autogenomics Infinity Analiz sistemi), *2 (2850 C>T), *3 (2549delA), *4(1846 G>A), *5 (delesyon), *6(1707delT), *7 (2935 A>C), *8 (1758 G>T), *9 (2615_2617 delAAG), *14 (1758 G>A), *29 (1659(G>A), *41 (2988 G>A) CYP2D6 varyantlarını belirlemek amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Meme Karsinomları

İnvaziv meme karsinomlarının çoğu adenokarsinom niteliğinde olup, meme parankim epitelinden özellikle terminal duktal-lobular üniteden köken aldığı düşünülmektedir. Meme karsinomları çok çeşitli morfolojik fenotiplere ve spesifik histopatolojik tiplere sahiptir. Bunların kendilerine özgü prognostik veya klinik karakteristik özellikleri vardır.

2.1.1. Epidemiyoloji

Meme kanseri kadınlarda en sık görülen malignitedir. Kansere bağlı ölümlerde ise ikinci sıradadır. Tüm kadınlar risk altında olmakla birlikte risk toplumlara göre farklılıklar göstermektedir. Yaşam boyu invaziv meme karsinomu geliştirme riski, risk faktörü taşımayan kadınlarda %3 iken, yüksek penetrans gösteren germline mutasyonuna sahip kadınlarda %80'lere ulaşmaktadır. Ortalama yaşam boyu risk ise yaklaşık %12'dir (her 8 kadından biri) (13).

Amerikan Kanser Birliği verilerine göre 2011 yılı içerisinde 232.620 (2140 erkek, 230.480 kadın) yeni olgu ve 39.970 (450 erkek, 35.520 kadın) kansere bağlı ölüm bildirilmiştir (14). Sağlık Bakanlığı'nın verilerine göre, Türkiye'de meme kanseri insidansının kadınlar arasında %35 oranında olduğu gözlenmektedir. Yine Sağlık Bakanlığı verilerine göre, ülkemizin batısında meme kanseri insidansının doğusuna oranla yaklaşık 2 kat daha fazla olduğu görülmektedir. Meme kanserli hastalarda 5 yıllık sağ kalım oranı, gelişmiş ülkelerde %73 iken, gelişmekte olan ülkelerde ise %53'tür (1).

Meme kanseri vakaları coğrafi olarak farklı dağılım göstermektedir. Kuzey Amerika, Kuzey Avrupa, Avusturalya yüksek riskli bölgeleri oluşturmaktadır. Bu ülkelerde yaşayan kadınların %6'sında 75 yaş öncesinde kanser gelişmektedir.

Güney Avrupa, Latin Amerika ülkeleri orta riskli bölgeleri oluşturmaktadır.

Az gelişmiş ülkelerde meme kanseri gelişme riski; zengin, gelişmiş ülkelere oranla 1/3 daha azdır. Japonya gelişmiş ülke kategorisinde olmasına rağmen 2000 yılında hala düşük meme kanseri riskine sahip olması nedeni ile bu saptamanın dışında kalmaktadır.

Geliştirilen yeni görüntüleme ve tarama yöntemleri sayesinde artık 2 cm'nin altındaki tümörler tanı alabilmektedir. Erken evrede tanı sayesinde hastaların prognozu daha iyi olmaktadır.

Meme kanseri hastalarında sağ kalım sürelerinde artış, 1970'lerden itibaren izlenmeye başlanmıştır. Görüntüleme yöntemlerindeki iyileşme ve bunun yanı sıra adjuvan hormonal tedavinin geliştirilmesi ile 1990'larda mortalite oranlarında özellikle Amerika, İngiltere ve Hollanda gibi gelişmiş ülkelerde dramatik azalma izlenmiştir.

Fakat hastalığa yakalanma riski hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde artmaktadır (15).

Riskin derecesini ölçmede yardımcı olan unsurlar:

- Riski azaltmak için yapılan bireysel seçimler (profilaktik kemoterapi veya profilaktik cerrahi)
- Optimal görüntüleme seçenekleri
- Tek gen mutasyonları testi sonuçları
- Meme kanseri nedenleri ve biyolojisi hakkındaki ipuçlarının geliştirilmesidir (13).

2.1.2. Etyoloji ve patogeneze

Meme kanseri gelişimi her adımda bir ya da daha fazla genin rol oynadığı çok adımlı bir süreç içinde oluşur. Kompleks bir hastalık olan meme kanserinin herediter ve sporadik formları vardır. Sporadik ve herediter meme kanseri etyopatogenezinde rol oynayan çeşitli genler vardır. Herediter tip meme kanseri tüm meme kanseri olgularının %10'unu teşkil eder. Postmenapozal meme kanserlerinin büyük çoğunluğu sporadiktir.

Herediter tip meme kanserlerinin %80-90'ından BRCA-1 ve BRCA-2 genleri sorumludur.

Sporadik meme kanserinde ise germline mutasyonlar yoktur. Bu tip kanser sonradan oluşan ve düzeltilemeyen mutasyonların birikimi ile uzun bir süreçte meydana gelir.

- **En Sık Görülen Germline Mutasyonları**

Meme kanseri ile ilişkili germline mutasyonların büyük çoğunluğu DNA tamir yolağını etkiler. Bu mutasyonların neden meme dokusuna spesifiklik gösterdiği henüz anlaşılamamıştır. Mutasyonlar otozomal dominant kalıtmı olup erkek ve kadını aynı oranda etkiler.

- ❖ **BRCA- 1 MUTASYONU (Ailesel Meme Ve Over Kanseri)**

BRCA-1 ve BRCA-2 genomik stabilitenin sağlanmasında önem taşır. DNA hasarına karşı cevabın, tamirin ve hücre döngüsü kontrol noktalarının düzenlenmesinde doğrudan görevlidirler. BRCA-1 ve BRCA-2 içermeyen hücreler (inaktivite edici mutasyona sahip olanlar) replikasyon hatası oluşturup genomik instabiliteye neden olurlar. Bu instabilite de tümör oluşumuna katkıda bulunur.

BRCA-1, östrojen reseptörü gen promoterinin transaktivasyonu için gereklidir. Bu da BRCA-1 ilişkili meme kanserlerinin %90'dan fazlasının neden östrojen reseptörü negatif olduğunu açıklayabilir.

BRCA-1 ilişkili kanserlerin %90'ı bazal benzeri kanser ile benzer gen ekspresyon profiline sahiptir.

30 yaşından genç, ER negatif, grade 3 meme kanseri olan hastaların %35'inde BRCA-1 mutasyonu vardır.

- ❖ **BRCA 2 MUTASYONU (Ailesel Meme Ve Over Karsinomu)**

BRCA-1 ile yapısal olarak benzerlik göstermese de fonksiyonları benzerdir. Askenazi Yahudilerinde ve İzlanda da sıktır. Yüksek penetrens gösterir. Yaşam boyu risk %40-60'dır. Genellikle luminal A tip meme kanseri benzeri gen ekspresyon profiline sahiptirler. BRCA-2 mutasyonu taşıyan ailelerdeki erkeklerde meme kanseri oluşma riski genel popülasyona göre 80 kez artmıştır (13).

❖ TP53 (Li Fraumeni Sendromu)

TP53 hücre döngüsünün kontrolü, DNA replikasyonu, DNA tamiri ve apoptozda ana rol oynayan bir genidir. Bu mutasyona sahip kadınların yaklaşık %55'inde 45 yaşına kadar meme kanserine gelişmiş olur. Li- Fraumeni sendromu otozomal dominant geçişli nadir gözlenen bir hastalıktır. TP53 geninin heterozigot germline mutasyonu sonucu, meme kanseri, beyin tümörü, yumuşak doku sarkomları, kemik sarkomu gibi değişik organları kapsayan malignitelere yatkınlık görülür. Çocukluk çağı tümörlerinin insidansı yüksektir ve %100'e yaklaşan penetrans oranları bildirilmiştir (16).

❖ CDH1 (Ailesel Gastrik Kanser ve Lobuler Meme Karsinomu Sendromu)

Kromozom 10q23'te lokalize olan Phosphatase and tensin homolog (PTEN) geni Cowden sendromunda mutasyona uğramıştır. Cowden sendromu otozomal dominant geçiş gösteren nadir bir sendromdur. Multiple benign hamartomoz lezyonların yanı sıra tiroid, meme ve endometrium gibi organ kanserlerinde artış gözlenir (13).

❖ ATM (Ataksi- Telenjektazi Taşıyıcıları)

DNA çift zincir kırılımında görevli TP53 ve BRCA'yı fosforilleyen enzim olan serin-treonin kinazın inaktivasyonunda görülür. Homozigotesinde Ataksi-Telenjektazi sendromu, heterozigotesinde meme kanseri riskinde artış görülür.

❖ CHEK2 (Li Fraumeni Sendromu Varyantı)

Hücre döngüsü kontrol genidir. Düşük penetrans gösterir. Yaşam boyu meme kanseri geliştirme riski %10-20'dir

❖ STK11/LKB1 (Peutz-Jeghers Sendromu)

Tümör supresör geni olan serin treonin kinazı kodlar. Hamartomatöz gastrointestinal poliplerin yanı sıra kolon, meme, mide, pankreas, ince bağırsak, tiroid, akciğer, uterus, over ve serviks kanseri için artmış riske sahiptirler.

❖ BRIP1 (FANCF veya BACH1)

BRCA-1'in fonksiyonlarına yardımcı olan DNA helikazı kodlar. Mutasyonları DNA tamir hasarına neden olur. Homozigotesinde Fanconi anemisi, heterozigotesinde meme kanserine karşı artmış risk görülür. Düşük veya orta derecede penetrans gösterir (13).

● Onkogenler

Farklı fonksiyonlarda ve hücresel lokalizasyonlarda bulunan pek çok onkogenin meme kanseri gelişmesinde rolü vardır. Sporadik meme kanserinde, FGF ve reseptörleri, BCL2/BAX, CCNE, HTERT, MYC, EMS1, CCND1, HER2/neu ve hRAS gibi onkogenlerde amplifikasyon sıklıkla görülür (17).

● Tümör Baskılayıcı Genler

Bu grupta daha önce sözü geçen BRCA-1, BRCA-2, TP53, CDH1 ile kromozom 10q23'de lokalize olan Phosphatase and tensin homolog (PTEN) geni yer almaktadır. PTEN geni Cowden sendromunda mutasyona uğramıştır (18).

● Steroid Reseptörler

Östrojen Reseptörü *alfa* (ER α) kromozom 6q25.1'de bulunan, hormon bağımlı meme karsinogenezinde en önemli büyüme faktörü reseptörüdür. Östrojen, DNA hasarına neden olarak tümör başlatıcı olarak davranır. Östrojen reseptörleri gen transkripsiyon aktivasyonuna yol açarak hem östrojen bağımlı hem östrojen bağımsız mekanizmalar ile gen ekspresyon düzenlenmesi yaparlar. Bu da hücre proliferasyonu ile sonuçlanır. ER α gen overekspresyonu meme kanserinin erken evrelerinde sıklıkla saptanır (19).

● İnvazyon ve Hücre Adezyon Genleri

Tümör oluşumu ve metastaz gelişimi arasında bazı aşamalar vardır. Bunlar başlıca kontrolsüz hücre büyümesi, hücreler arası bağlantıların kaybı, tümör hücrelerinin kan damarları ve lenfatikler içine migrasyonudur. Başlıca dört grup hücre adezyon molekül ailesi vardır. Bunlar invazyon ve metastaz gelişiminde rol oynarlar:

➤ **Selektinler:** Transmural proteinlerdir. Başlıca 3 tipi vardır.

1. E (endotelyal) selektin,
2. P (platelet) selektin,
3. L (lökosit) selektin

➤ **İmmunglobulin Benzeri Süperaile:** Membran proteinleridir.

ICAM-1 (İntersellüler Adezyon Molekülü – 1) ve

VCAM-1 (Vasküler Hücre Adezyon Molekülü) bilinen iki üyesidir

➤ **İntegrinler:** Transmembran proteinleridir, alfa ve beta subüniteleri vardır.

➤ **Kaderinler:** Kalsiyum bağımlı transmembran proteinleridir.

Bunlara ilaveten sialomusin ailesi ve CD44 molekülü de, adezyonda rol oynayan moleküllerdir.

Bu moleküller genellikle yangıda aktive olurlar, ancak tümör progresyonunda da rol oynadıkları düşünülmektedir. Özellikle E-selektin, ICAM-1 ve VCAM-1'in tümör hücrelerinin vasküler endotele adezyonunda ve ekstrasvaze olup metastaz geliştirmelerinde rol oynadığı gösterilmiştir (20).

● Anjiogenezis genleri

Tümörün büyümesi ve ilerlemesi için yeni kan damarlarının oluşması gerekir. Stromadaki tümör hücreleri Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), Fibroblast Growth Factor (FGF) ve Platelet-Derived Growth Factor (PDGF) gibi diğer anjiogenik faktörlerin artmasına katkıda bulunur (21,22).

Meme kanserinde hücrelerin preneoplastik dönemden, hematojen ve lenfatik invazyon yapabilme özelliğine sahip invaziv karsinomlar haline gelebilmesi için hücresel büyüme (mitojenite), migrasyon (motojenite) ve differansiasyonu kapsayan birçok basamaktan geçmesi gerekmektedir. Bu basamakları etkileyen faktörler meme kanserlerinin etyolojisinde yer almaktadır. Meme kanseri gelişimi

açısından birçok risk faktörü tanımlanmıştır. Fakat bunların büyük kısmı (yaş, cinsiyet, etnik köken ve aile öyküsü), henüz aydınlatılamamıştır. Bir kısmını (ilk gebelik yaşı, menapoz yaşı) ise aydınlatmak çok zordur (13).

2.1.3. Risk faktörleri

A. Etnik Köken

Meme kanseri tipi ve insidansı etnik gruplara göre farklılık göstermektedir.

- Amerika’da yaşayan beyaz kadınlarda meme kanseri 100.000’de 132 olarak bildirilmiş olup, bunların %11’i triple negatiftir.
- Afrikan-Amerikan kadınlarda bu oran 100.000’de 118 olup, bunların %25’i triple negatiftir. Ölüm oranı beyaz kadınların yaklaşık iki katıdır.
- Amerika’da yaşayan hispanik kadınlarda meme kanseri insidansı 100.000’de 89 iken, bunların yaklaşık %17’si triple negatiftir. Ölüm oranı ise beyaz kadınlara göre daha düşüktür.
- Asya ve Pasifik Adası kadınlarında ise oran 100.000’de 89 iken, %11’i triple negatiftir. Her2-neu pozitif kanser insidansı bu kadınlarda daha yüksektir (%25-35) ve en düşük ölüm oranlarına sahiptirler.
- Nativ Amerikan kadınlar en düşük meme kanseri insidansına sahiptir (100.000’de 79) ve ölüm oranı beyaz kadınlara göre daha düşüktür (13).

B. Yaş

Meme kanseri riski yaşla birlikte artmaktadır. Puberteden önce meme kanseri hemen hemen hiç görülmemektedir. 35 yaşın altında görülme oranı %1-3 iken bu yaştan itibaren gittikçe artmaya başlar. 45-55 yaşları arasında görülme oranı sabit kalırken 55 yaşından sonra süratle görülme sıklığı artar. En sık 50-60 yaşları arasında görülür.

Yaşla birlikte insidans artışı genelde ER pozitif kanserlerdedir.

Yaşam boyu meme kanseri riski 30 yaşında %12,5; 50 yaşında %11,1; 70 yaşında %6,6 olarak bildirilmektedir (13).

C. Aile Öyküsü

Meme kanserlerinde ailesel geçiş diğer kanserlere oranla daha sık görülmektedir. Birinci derecede akrabalarında meme kanseri olan kadınlarda normal popülasyona göre meme kanseri gelişme riski 2-3 kat artmaktadır. Özellikle aile bireyi genç yaşta meme kanseri tanısı almış veya bilateral her iki memesinde kanser gelişmiş ise diğer aile fertlerinde risk daha da artmaktadır (23).

D. Menstrüel ve Reprodüktif Öykü

Meme kanseri riski özellikle erken menarş, nulliparite, geç yaşta ve az çocuk sahibi olmuşlarda, infertilite ve geç yaşta menapoza giren kadınlarda östrojen maruziyetinin artmasına bağlı olarak artmaktadır.

Meme karsinomu görülme sıklığı 35 yaş öncesinde ooferektomi olmuş kişilerde 1/3 oranında azalmaktadır.

Premenapozal ve postmenapozal kadınlarda yapılan bazı çalışmalarda uzun süreli emzirmenin meme kanseri riskini premenapozal dönemde azalttığı gösterilmiştir. Fakat postmenapozal dönemde kadınlarda herhangi bir etkisi izlenmemiştir (23).

E. Eksojen Hormonlar

Hormon replasman tedavisi alan menopozal kadınlar üzerinde yapılan çalışmalarda hormon replasman tedavisi almayanlara göre meme kanseri gelişme riskinde 2,5 kat artış saptanmıştır. Zeminde memenin fibrokistik hastalığı varsa bu artış 2-9 kat arasında değişmektedir.

Uzun süreli kullanımda risk daha da artmaktadır. Bazı çalışmalarda kombine kullanılan preparatlarda tek başına östrojen bulunan preparatlara göre kanser görülme riskinin daha da arttığı gösterilmiştir (23).

F. Kontraseptif Ajanlar

Birçok epidemiyolojik çalışmada kontraseptif ajanlar ile meme kanseri artışı arasında belirgin ilişki bulunamamıştır.

Kombine kontraseptif ajan kullanan bireyler arasında meme kanseri gelişme riskinde rölatif bir artış izlenmiştir. Bu artış kullanım süresi, doz veya hormon tipine bağımlı değildir.

Saf progesteron içeren kontraseptifler ile rölatif riskin 1-1.3 oranında arttığı saptanmıştır. Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlılık ifade etmemektedir (24).

G. Beslenme

Yüksek oranda sebze ve meyve tüketimi hafif derecede azalmış meme kanseri riski ile ilişkilidir.

Artmış vücut ağırlığı ve yüksek kalorili diyet ile postmenapozal kadınlarda meme karsinomu riski artmaktadır.

Puberte ve adölesan dönemde yüksek kalorili beslenme meme bezlerinin çoğalmasında ve prekanseröz lezyonların gelişiminde rol oynamaktadır. Hayvan modellerinde de bu gösterilmiştir. İsviçre Kanser Birliği'nin anoreksia nervosa'lı 40 yaş altı kadınlarda yaptığı bir çalışmada, bu kadınların meme kanseri açısından düşük risk taşıdığı görülmüştür.

Et ve et ürünlerine dayalı beslenme özellikle kırmızı etin fazla tüketilmesi artmış risk ile koreledir (25).

H. Alkol

Alkol kullanımı ile meme kanseri riski açısından iki farklı görüş vardır. İlk görüş ve çalışma sonuçlarına göre alkolde bulunan etanol ve asetaldehid metabolizması sonucu oluşan oksijen radikallerinin DNA hasarına yol açtığı ve sonuç olarak meme ve diğer sistem tümörlerinin gelişiminde mutajen ve karsinojen rol oynadığı yönündedir.

Diğer görüş ise alkol alan kadınlarda beslenme alışkanlıklarına bağlı olarak beden – kitle indeksinin düşük olma eğiliminde olduğu ve bununda meme kanseri açısından koruyucu olduğu yönündedir. Alkole ek olarak hormon kullanımı, diğer risk faktörlerinin varlığı ve genetik yatkınlık, riski daha da arttırmaktadır (26,27).

I. Sigara

Sigara ile meme kanseri riski arasındaki ilişki net değildir. Tütünün antiöstrojenik etkileri nedeni ile potansiyel koruyucu faktör olduğu bazı çalışmalarda gösterilmiştir (23).

J. Vücut Ağırlığı

Beden kitle indeksinin dolayısıyla vücut yağ oranının artışı östrojen, insülin, leptin ve pro- inflamatuvar sitokinlerin artışına, seks hormonu bağlayıcı globulin üretiminde ise azalmaya neden olur. Bu nedenle meme kanseri rekürrensi ve progresyonunda artışa neden olur (28).

K. Fiziksel Aktivite

Fiziksel olarak aktif kadınlarda meme kanseri riskinde hafif azalma izlenmektedir (29).

L. Endojen Hormonlar

Meme kanseri gelişiminde östrojen, progesteron ve androjen gibi seks steroidlerinin büyük önemi vardır. Postmenapozal kadınlarda plazma testesteron ve androstenedion seviyelerinin yüksek, seks hormon bağlayıcı globulin (SHBG) seviyelerinin düşük olması ve artmış östron, östrodiol ve SHBG'ne bağlı olmayan biyolojik olarak aktif östradiol düzeyleri bulunması nedeniyle meme kanseri gelişme riski daha yüksektir.

Yüksek vücut ağırlığı ve fiziksel aktivite yokluğu insülin direncinin gelişmesine yol açar. Artmış insülin seviyeleri ovaryan ve/veya adrenal seks steroidlerinin özellikle androjenlerin düzeylerini arttırır. SHBG'in karaciğerdeki sentezini azaltır. Artmış plazma androjen seviyeleri özellikle postmenapozal kadınlarda yağ dokuda östrojen oluşumunu arttırır. Böylece kanda ve dokularda östron ve östradiol oranını arttırır.

M. İonize Radyasyon

Meme gelişimi esnasında, yani pubertede maruz kalınan ionize radyasyona bağlı olarak meme kanseri riski artmaktadır (23).

N. Önceden Geçirilmiş Meme Cerrahi Girişimi

Bazı çalışmalarda daha önce mammaplasti geçiren olgularda daha çok in situ aşamasında meme kanserleri bildirilmiştir. Fakat çoğu çalışmada bağlantılı risk olmadığı vurgulanmıştır (23).

O. Önceden Var Olan Benign Meme Lezyonları

Benign meme hastalıkları özellikle de fibrokistik değişikliğin meme kanseri risk faktörleri arasında sayılması halen tartışmalıdır. Ancak çalışmalar göstermiştir ki fibrokistik değişikliği bulunan kadınların %70'inde meme kanseri ile ilişki bulunmamaktadır. Kadınların %30'unda özellikle fibrokistik değişiklik ile birlikte atipik hiperplazi bulunan olgularda ve aile öyküsü olanlarda meme kanseri riski artmaktadır.

Fibroadenomlar üzerinde malign transformasyon %0,1 oranında izlenmektedir. Genellikle epitelyal komponentte sınırlı ve in situ karsinom niteliğindedir.

Atipik duktal veya lobular hiperplazili olgularda yapılan retrospektif çalışmalarda normal popülasyona göre 4-5 kat daha fazla invaziv meme karsinomu gelişme riski vardır. Orta veya florid tipte hiperplazilerde risk 1.5-2 kat artarken, atipik duktal veya lobuler hiperplazilerde risk 5 kata kadar çıkmaktadır (23).

2.1.4. Genetik predispozisyon

BRCA-1 kromozom 17q, BRCA-2 ise kromozom 13q-12'de yer almaktadır. BRCA-1 ve BRCA-2'deki mutasyonlar ve BRCA proteinlerinin inaktivasyonu tümör baskılayıcı proteinlerin ve diğer "genom koruyucu" rolü olan proteinlerin de inaktivasyonuna neden olarak hücreyi tümör oluşumuna götürürler. Meme dokusunda alveoler ve duktal epitel hücrelerinde BRCA-1'in ekspresyonu

gözlenir. Bu gen hamilelik ve emzirme dönemlerinde belirgin olarak aktif çalışırken, laktasyon sonrası ekspresyonu azalır. BRCA-1 mutasyonuna sahip kadınlarda puberteden sonra meme ve/veya over tümörlerinin gelişme riski %5-10 kat artar. BRCA-1 ve BRCA-2 genleri insan meme kanseri hücrelerinde östrojene uyarlıdır ve cevap olarak da her iki gene ait m-RNA seviyeleri artar.

BRCA-1 geninin bir allelindeki mutasyon erken dönem meme kanserlerinde yüksek risk oluşturur. BRCA-2 genindeki mutasyonlar ise erken dönem erkek meme kanserleri açısından yüksek bir risk taşır.

Ailesel mutasyonların, özellikle erken yaşta önemli morbidite ve mortaliteye sebep olanları, popülasyonlarda oldukça nadir gözlenir. Bu nedenle, kanserle ilişkili ailesel mutasyonların testi genel popülasyonda kullanılmaz. Soy ağacına göre artan genetik risk gösteren kadınlar genetik test yapılması için seçilir. Mutasyon taraması yapılacak hastaların seçimi için: teşhis yaşına, 1. ve 2. dereceden akrabalarda etkilenenlerin sayısına ve her aile üyesinin şimdiki veya ölüm yaşına dayalı tek tip kriterler kullanılır.

- Kırk yaşın altında meme kanseri,
- Elli yaşın altında, iki taraf tutulumlu meme kanseri,
- Erkek meme kanseri,
- Herhangi bir yaşta over kanseri teşhisi konmuş veya
- Üç ya da daha fazla sayıda 1. ve 2. dereceden akrabaları etkilenmiş olan hastalar test için adaydır.

BRCA-1 ve BRCA-2 genleri ailesel meme karsinomu olgularının yaklaşık 2/3'ünden, tüm meme karsinomlarının da %5'inden sorumludur.

BRCA-1'deki genetik mutasyonlar aynı zamanda over ve tuba kökenli malignitelere de yol açmaktadır. Bu genlerdeki mutasyonlar Askenazi Yahudilerinde %2 oranındadır. Bu geni taşıyanlarda 70 yaşında kanser gelişme riski yaklaşık %56'dır.

BRCA-1 geninde mutasyon taşıyanlarda gelişen meme karsinomlarında medüller karsinom bulguları (yüksek grade, mitotik olarak aktif, sinsisyal büyüme paterni, itici tarzda kenarlar, konfluen nekroz, negatif östrojen reseptör durumu) daha yüksek oranda izlenir.

Bu hastalarda ana sorun sık aralıklarda takip veya proflaktik mastektomi arasında seçim yapmaktır (13,23).

2.1.5. Lokalizasyon

Meme karsinomları meme epitelinden sıklıkla terminal duktal lobuler üniteden köken alır.

Sol meme de sağ memeye göre yaklaşık 1-1.7 oranında daha fazla görülmektedir.

%50'si üst dış kadranda, %15'i üst iç kadranda, %10'u alt dış kadranda, %5'i alt iç kadranda, %17'si de santral bölgede (areolanın 1 cm yakınında) yerleşim göstermektedir. %3 olguda ise diffüz (masif veya multifokal) yerleşim izlenmektedir (23).

2.1.6. Multisentrisite

Aynı zamanda iki ayrı kadranda tümör varlığı şeklinde tanımlanmıştır. Lobuler karsinomlarda duktal karsinoma göre daha sık görülür. Multisentrik tümörlerde unisentriklerle göre yaşam süreleri daha azdır (23).

2.1.7. Bilateralite

Meme karsinomu tanısı almış hastalarda diğer memede kanser gelişme riski normal popülasyona göre 5 kat daha fazladır. Buna aile öyküsü varlığı eklenince risk daha da artmaktadır. Lobuler karsinomlarda risk %25-50'lere çıkmaktadır.

Adjuvan kemoterapi uygulaması metakron kontralateral meme karsinomu oluşumunu engellemektedir (23).

2.1.8. Meme tümörlerinin sınıflaması

Meme tümörlerinin Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2003 yılına göre sınıflamasına göre sınıflaması aşağıda belirtilmiştir (30).

A- Epitelyal tümörler

- ❖ İnvaziv duktal karsinom (özellik göstermeyen tip)
 - Mikst tipte karsinomlar
 - Pleomorfik karsinom
 - Osteoklastik dev hücreler içeren karsinom
 - Koryokarsinomatöz özellikler içeren karsinom
 - Melanositik özellikler içeren karsinom
- ❖ İnvaziv lobüler karsinom
- ❖ Tubuler karsinom
- ❖ İnvaziv kribriform karsinom
- ❖ Medüller karsinom
- ❖ Müsinöz karsinom ve belirgin müsin içeren diğer karsinomlar
 - Müsinöz karsinom
 - Kistadenokarsinom ve kolumnar hücreli müsinöz karsinom
 - Taşlı yüzük hücreli karsinom
- ❖ Nöroendokrin tümörler
 - Solid nöroendokrin karsinom
 - Atipik karsinoid tümör
 - Küçük hücreli / oat cell karsinom
 - Büyük hücreli nöroendokrin karsinom
- ❖ İnvaziv papiller karsinom
- ❖ İnvaziv mikroapiller karsinom
- ❖ Apokrin karsinom
- ❖ Metaplastik karsinomlar
 - Saf epitelyal metaplastik karsinomlar
 - Skuamöz hücreli karsinom
 - İğsi hücre metaplazili adenokarsinom
 - Adenoskuamöz karsinom
 - Mukoepidermoid karsinom
 - Mikst epitelyal/mezenkimal metaplastik karsinomlar

- ❖ Lipidden zengin karsinom (lipid-rich carcinoma)
- ❖ Sekretuar karsinom
- ❖ Onkositik karsinom
- ❖ Adenoid kistik karsinom
- ❖ Asinüs hücreli karsinom (acinic cell carcinoma)
- ❖ Glikojenden zengin berrak hücreli karsinom
- ❖ Sebaceöz karsinom
- ❖ İnflamatuvar karsinom
- ❖ Lobüler neoplazi
 - Lobüler karsinoma in situ
- ❖ İntraduktal proliferatif lezyonlar
 - Olağan duktal hiperplazi
 - Yassı epitelyal atipi (flat epithelial atypia)
 - Atipik duktal hiperplazi
 - İntraduktal karsinom
- ❖ Mikroinvaziv karsinom
- ❖ İntraduktal papiller neoplaziler
 - Santral papillom
 - Periferik papilom
 - Atipik papillom
 - İntraduktal papiller karsinom
 - İntrakistik papiller karsinom
- ❖ Benign epitel proliferasyonları
 - Adenozis ve varyantları
 - Sklerozan adenozis
 - Apokrin adenozis
 - Kör duktus adenozis (Blunt duct adenozis)
 - Mikroglandüler adenozis
 - Adenomyoepitelyal adenozis
 - Radyal skar / kompleks sklerozan lezyon

➤ Adenomlar

- Tubuler adenom
- Laktasyon adenom
- Apokrin adenom
- Pleomorfik adenoma
- Duktal adenoma

B- Myoepitelyal lezyonlar

C- Mezenkimal tümörler

D- Fibroepitelyal tümörler

E- Meme başı tümörleri

F- Malign lenfomalar

G- Metastatik tümörler

H- Erkek meme tümörleri

Memedeki malignitelerin neredeyse tamamı **adenokarsinom**dur. Yassı epitel hücreli karsinom, fillodes tümörler, sarkomlar ve lenfomalar malignitelerin %5'den azını oluştururlar.

Meme kanserleri; insitu karsinom ve invaziv (infiltratif) karsinom olmak üzere ikiye ayrılırlar (30,31).

2.1.9. Evreleme

Meme Kanserlerinin Patolojik Sınıflaması

Primer Tümör (pT)

pTx: Primer tümör değerlendirilemiyor

pT0: Primer tümör kanıtı mevcut değil

pTis: Karsinoma in situ

pTis (DCIS): Duktal karsinoma in situ

pTis(LCIS): Lobüler karsinoma in situ

pTis (Paget): Tümör olmaksızın meme başının Paget hastalığı

pT1: En büyük çapı 2 cm veya daha küçük olan tümör

pT1mic: En büyük çapı 0,1 cm veya daha küçük olan mikroinvazyon

- pT1a:** En büyük çapı 0,1 cm'den büyük ancak 0,5 cm'den küçük tümör
- pT1b:** En büyük çapı 0,5 cm'den büyük ancak 1 cm'den küçük tümör
- pT1c:** En büyük çapı 1 cm'den büyük ancak 2 cm'den küçük tümör
- pT2:** En büyük çapı 2 cm'den büyük ancak 5 cm'den küçük tümör
- pT3:** En büyük çapı 5 cm veya 5 cm'den büyük tümör
- pT4:** Herhangi bir boyutta göğüs duvarı (a) veya sadece cilde (b) doğrudan olarak yayılmış, aşağıda özellikleri belirtilen tümör
- pT4a:** Göğüs duvarına yayılım
- pT4b:** Ödem (peau d'orange dahil) veya meme cildinin ülserasyonu, veya aynı memeye sınırlı satellit cilt nodülleri
- pT4c:** T4a ve T4b'nin özelliklerini birlikte taşıyan tümör
- pT4d:** Memenin inflamatuvar karsinomu

Bölgesel Lenf Düğümlerinin Patolojik Olarak Sınıflaması

- pN:** Bölgesel lenf düğümleri
- pNx:** Bölgesel lenf düğümleri değerlendirilemiyor
- pN0:** Histolojik olarak bölgesel lenf düğümü metastazı mevcut değil
- pN1mi:** Mikrometastaz (0,2 mm'den büyük ancak 2 mm'den küçük metastaz)
- pN1:** Aynı taraf 1-3 aksiller lenf düğümünde metastaz ve/veya klinik olarak görülmeyen sentinel lenf nodu disseksiyonu ile saptanmış internal mamaryan lenf düğümlerinde mikroskopik hastalık
- pN1a:** 1-3 aksiller lenf düğümünde metastaz (en az bir metastazın boyutu 2 mm'den büyük)
- pN1b:** Klinik olarak görülmeyen ancak sentinel lenf düğümü disseksiyonu ile saptanmış internal lenf düğümlerinde mikroskopik metastaz
- pN1c:** 1-3 aksiller lenf düğümünde metastaz ve klinik olarak görülmeyen ancak sentinel lenf düğümü disseksiyonu ile saptanmış internal lenf düğümlerinde mikroskopik hastalık
- pN2:** Aynı taraf 4-9 aksiller lenf düğümünde metastaz ve/veya aksiller lenf düğümünde metastaz yokluğunda klinik olarak görülür internal mamaryan lenf düğümlerinde metastaz/metastazlar

pN2a: 4-9 aksiller lenf düğümünde metastaz (en az 1 metastaz 2 mm'den daha büyük)

pN2b: Aksiller lenf düğümünde metastaz yokluğunda klinik olarak görülür internal mammaryan lenf düğümlerinde metastaz

pN3: 10 veya daha fazla aksiller lenf düğümünde veya infraklavikuler lenf düğümlerinde veya 1 ya da daha fazla aksiller lenf düğümü pozitifliğinde klinik olarak görülür ipsilateral internal mamaryan lenf düğümlerinde veya internal lenf düğümlerinde klinik olarak negatif mikroskopik hastalıkla 3'den fazla aksiller lenf düğümünde veya ipsilateral supraklavikuler lenf düğümlerinde metastaz

pN3a: 10 veya daha fazla aksiller lenf düğümünde (en az 1 tanesi 2 mm'den daha büyük) veya infraklavikuler lenf düğümlerinde metastaz

pN3b: 1 ya da daha fazla aksiller lenf düğümü pozitifliğinde klinik olarak görülür ipsilateral internal mamaryan lenf düğümlerinde veya internal lenf düğümlerinde klinik olarak negatif mikroskopik hastalıkla 3'ten fazla aksiller lenf düğümünde metastaz

pN3c: ipsilateral supraklavikuler lenf düğümü/düğümlerinde metastaz

Uzak metastaz (M)

Mx: Uzak metastaz değerlendirilemiyor

M0: Uzak metastaz mevcut değil

M1: Uzak metastaz mevcut

Tablo 2.1. Meme kanserinde TNM evreleme sistemi (30).

EVRE 0	Tis	N0	M0
EVRE I	T1	N0	M0
EVRE IIA	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
EVRE IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
EVRE IIIA	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1,N2	M0
EVRE IIIB	T4	N0, N1,N2	M0
EVRE IIIC	Herhangi T	N3	M0
EVRE IV	Herhangi T	Herhangi N	M1

2.1.10. Prognostik faktörler

Hastalığın rekürrensi ve sağkalımla ilişkili bazı faktörlerdir. İki ana gruba ayrılabilir.

Hastaya bağlı faktörler, yaş, menapoz durumu, performans durumu ve komorbiditelerdir.

Tümör ilişkili faktörler ise lenf düğümü durumu, tümör boyutu, evre, histolojik tip, lenfo- vasküler invazyondur.

Neo-adjuvan tedavi sonrası tedaviye cevap ve rezidüel tümörün boyutu en önemli prognostik faktörlerdir.

Tedavi öncesi ve sonrası tümör evrelemesi, özellikle kombine kullanılması en önemli prognostik faktörlerdir.

2.1.11. Prediktif faktörler

Hastanın adjuvan tedavi rejimlerinden (hormonal terapi, kemoterapi, biyolojik ve hedefe yönelik terapi) fayda görme şansını yansıtır.

Olgunun ER, PR ve Her2-neu ekspresyon durumu ise hem prediktif hem prognostik faktörlerdendir (13).

3. TEDAVİ

Meme kanseri tedavisi cerrahi yöntemleri, radyasyon tedavisini, hormonal tedavi ve kemoterapiyi içine alır. Erken evre (evre I ve II) meme kanseri vakalarında cerrahi tedavi uygulandığında çok iyi sonuçlar alınmaktadır.

Meme kanserlerinde uygulanan cerrahi girişimler; parsiyel mastektomi (meme koruyucu cerrahi), basit (simple) mastektomi, modifiye radikal mastektomi ve standart radikal mastektomidir. Parsiyel mastektomide memedeki tümör normal doku ile birlikte geniş şekilde çıkartılır. Lokal nüks oranı %30-35'tir. Basit (simple) mastektomi de sadece meme dokusu çıkartılır, aksiller diseksiyon yapılmaz.

Standart radikal mastektomide her iki pektoral kas çıkartılmakta ve aksiller diseksiyon yapılmaktadır. Kozmetik sorun ve diğer yöntemlerle sağ kalım oranları arasında fazla fark olmaması nedeni ile bu ameliyat tipi son yıllarda tercih edilmemektedir.

Modifiye radikal mastektomide meme dokusu çıkarımı aksiller diseksiyon ile birlikte uygulanır.

Muskularis pektoralis major ve minörün korunduğu ameliyat şekilleri yanı sıra sadece muskularis pektoralis majorün korunduğu (Patey ameliyat) yöntemlerde vardır.

3.1. Cerrahi Tedavi

3.1.1. Erken evre meme kanserinde cerrahi

Evre IIB'ye kadar evrelendirilen meme kanserleri (evre IIB'den T3 N0 M0 hariç) erken evre meme kanseri olarak kabul edilmektedir. Erken evre meme kanserinde ana tedavi yöntemi cerrahidir. Tümörün çıkarılmasına yönelik olarak; total mastektomi veya meme koruyucu cerrahi uygulanabilir. Meme koruyucu cerrahi (MKC) için uygun hastaların seçiminde kozmetik sonuç göz önünde bulundurularak meme/tümör oranına göre karar vermek gerekir. Güvenli cerrahi sınır olarak > 1-2 mm kabul edilmektedir. Birbirinden uzak yerleşimli ve çok odaklı tümörler genel olarak MKC için sorun oluşturmakta ve tercih çoğunlukla

mastektomi olmaktadır. Ancak iki farklı tümör odağı aynı insizyonda, tek parça halinde çıkarılabiliyorsa ve MKC'nin amacına uygun, kabul edilebilir bir kozmetik sonuç elde edilebiliyorsa; bu hastalar için de MKC bir seçenek olabilir.

Mastektominin endike olduğu veya MKC için görece kontrendikasyon oluşturan durumlar şu şekilde sıralanabilir:

- Meme büyüklüğü (tümör büyüklüğü ile orantısız küçük ya da büyük meme)
- Hastanın tercihi (hastanın radyoterapi almak istememesi, uyumsuz hasta)
- Risk faktörleri (yaş ve aile öyküsü, BRCA-1 ve BRCA-2 genlerini taşıyan hasta)
- Erkek hasta
- Radyoterapinin kontrendike olduğu durumlar (kollajen doku hastalıkları ve genetik bozukluklar)
- Gebelik (radyoterapi doğum sonrasına kadar ertelenmelidir.)
- Büyük intraduktal komponentin varlığı
- Çok odaklı veya çok merkezli tümörler
- Geniş yerel eksizyon sonrasında pozitif cerrahi sınırlar ve re-eksizyonun mümkün veya uygun olmadığı durumlar
- Mammografide şüpheli kalıntı mikrokalsifikasyonlar
- Önceki MKC sonrasında tekrarlayan tümör
- Ulaşılabılır radyoterapi merkezinin olmaması
- Önceden aynı bölgeye radyoterapi uygulanmış olması

Koltukaltına Yaklaşım

Erken evre meme kanseri tedavisinde koltukaltına yaklaşım; sentinel lenf düğümü biopsisi (SLNB)'nin gündeme girmesi ile birlikte yeni bir boyut kazanmıştır. Koltukaltının durumu son zamanlardaki moleküler patoloji alanındaki gelişmeler ve yeni ortaya konan prognostik/prediktif faktörlere rağmen; en önemli prognostik faktör olarak yerini korumaktadır.

Meme kanserinin patolojik evrelendirilmesi, prognozun belirlenmesi, tedavinin planlanması ve bölgesel kontrolün sağlanması için koltukaltına metastaz

olup olmadığının bilinmesi gereklidir. Koltukaltında tutulumun varlığı ve bunun da ötesinde metastatik lenf düğümü sayısı, adjuvan sistemik ve lokal tedavi (radyoterapi) gereksinimini belirlemektedir. Dünyada birçok merkezde yeterli bir öğrenim süreci ve kazanımı sonrası SLNB standart bir tanı yöntemi olarak uygulamaya girmiştir. SLNB ile az sayıda lenf düğümünde, daha ince ve seri kesitlerin yapılması mümkündür.

Hastanın yaşam kalitesinin önemi göz önüne alındığında SLNB'nin son derece önemli olduğu görülmekte ve standart tedavinin parçası olması gerektiği ortaya çıkmaktadır.

3.1.2. Lokal ileri evre meme kanserinde cerrahi

Lokal ileri evre meme kanseri, özel bir meme kanseri grubunu oluşturup gerek lokal gerekse sistemik yineleme açısından riski yüksektir. Bu nedenle tedavi, çok disiplinli yaklaşımla daha tanı anında planlanmalıdır. Evreleme açısından heterojen bir gruptur. Evre IIB içerisinde yer alan T3 N0 M0, Evre IIIA, IIIB, IIIC lokal ileri evre meme kanseri olarak değerlendirilir.

Operabl Olgular; Evre IIB (T3-N0-M0) ve Evre IIIA (T0,T1,T2-N2-M0)

Tedavi planlanmasında öncelikle hastalığın ameliyat edilebilirliği değerlendirilmelidir. Bu evrelerde; eğer meme koruyucu cerrahi istemi yoksa veya koşullar meme koruyucu cerrahiye uygun değilse ilk seçenek modifiye radikal mastektomidir. Koşullar meme koruyucu cerrahi açısından uygun ve meme koruyucu cerrahi istemi varsa neoadjuvan tedavi seçilebilir.

İnoperabl Olgular; Evre IIIA (T3 N2 M0), IIIB, IIIC

İlk seçenek tedavi, neoadjuvan tedavidir. Neoadjuvan tedavi sonrasında elde edilen yanıtı göre yaklaşım belirlenmelidir. Neoadjuvan tedavi için seçenek, sistemik kemoterapidir. Seçilecek rejimler, antrasiklin ve taksan kombinasyonunu içermelidir. Hormon duyarlı tümörlerde hormonal tedavinin kullanımı hasta bazında değerlendirilmelidir. İleri yaşta, performans durumu düşük, agresif olmayan hormon duyarlı tümöre sahip hastalarda neoadjuvan hormonal tedavi

önerilebilir. Lokal ileri evre meme kanserinin son 10 yılda değişen tedavisi, hem lokal kontrolün sağlanması, hem de mikrometastazların kontrolünde çok disiplinli yaklaşımı ve radyolojik izlemi gerektirmektedir.

3.2. Kemoterapi

3.2.1. Erken evre meme kanserinde kemoterapi

Adjuvan sitotoksik kemoterapi uygulanacağı zaman, bir takım kombine kemoterapi rejimlerini düşünmek uygundur. Bu rejimler arasında şunlar yer almaktadır: Fluorourasil, doksorubisin ve siklofosfamid (FAC/CAF) veya siklofosfamid, epirubisin ve fluorourasil (CEF/FEC), doksorubisin veya epirubisin ve siklofosfamid (AC/EC), siklofosfamid, doksorubisin ve dosetaksel (TAC). Ardışık olarak paklitaksel ile birlikte AC, 3 haftada bir veya 2 haftada bir, G-CSF desteği ile uygulanır. Koltukaltı tutulumlu hastalarda antrasiklin içeren rejimlerin seçilmesi uygundur.

3.2.2. Lokal ileri evre meme kanserinde kemoterapi

Lokal ileri evre meme kanseri tedavisinde kullanılacak en uygun kemoterapi protokolü henüz netlik kazanmış değildir. Son yıllarda ameliyat edilebilen meme kanseri çalışmalarındaki artmış patolojik yanıt nedeni ile taksan ve antrasiklin içeren rejimler daha yoğun olarak kullanılmaktadır.

Yapılan çalışmalar genellikle evre II ve III hastaları içermektedir ve amaç hastaların meme koruyucu cerrahiye uygun hale gelmesidir. Diğer taraftan meme kanseri olan hastaların %20'sinin tümörü 'cerb-B2' pozitifdir ve bu hastalar genellikle ileri evrelerde tanı almaktadır ve hastalık daha kısa sağkalım süresi ile seyretmektedir. Son yıllarda yapılan adjuvan tedavi çalışmalarında; transtuzumabın antrasiklinler ve taksanlarla birlikte verilmesinin hastalık yinleme riskini %50 oranında düşürdüğünün görülmesi, yerel ileri hastalıkta neoadjuvan terapi kullanımını gündeme getirmektedir (32,33).

3.3. Hedefe Yönelik Tedavi

Transtuzumab, Her2-neu artmış düzeyi olan erken evre meme kanserinde hastalıksız sağ kalım ve genel sağ kalım sürelerini uzatmaktadır. Erken evre kanserli hastalarda rutin olarak Her2-neu durumunun değerlendirilmesi önerilir. Ölçüm için immünohistokimyasal (IHK) yöntem veya floresan in situ hibridizasyon (FISH) kullanılabilir. Transtuzumab uygulaması için IHK 3+ veya FISH + hastalar uygun adaylardır. IHK 2+ hastalar, FISH yöntemi ile değerlendirilmeli, FISH + hastalara transtuzumab uygulanmalıdır. Transtuzumab alan hastaların kardiyotoksosite açısından izlemi önerilmektedir. Eş zamanlı antrasiklin ve transtuzumab uygulaması kardiyotoksosite riskini arttıracığından önerilmemektedir (32).

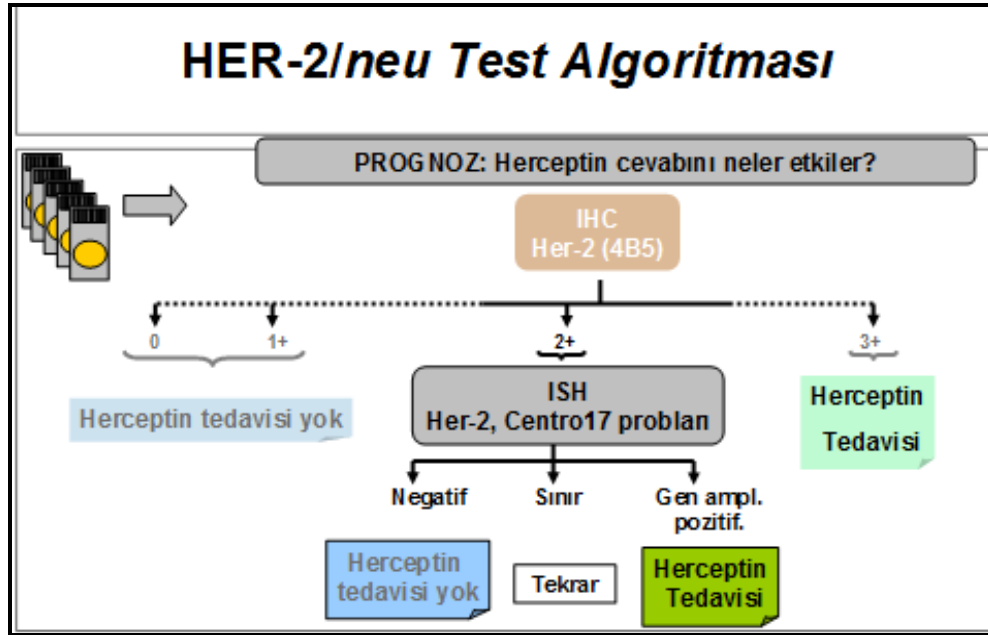
Tablo 3.1. Her2-neu İHK'sal boyamasının skorlanması (ASCO Guideline) (34)b

Boyama Yüzdesi	Skor
Hücrelerde immün boyanma olmaması	+0
Herhangi oranda tümör hücresinde zayıf, inkomplet, membranı tam çevrelemeyen boyanma veya <%10 tümör hücresinde zayıf, komplet membran boyanması	+1
≤%30 tümör hücresinde güçlü, komplet boyanma veya en az %10 hücrede zayıf ya da orta derecede komplet membran boyanması	+2
>%30 tümör hücresinde kuvvetli, komplet, homojen membran boyanması (kümes teli görünümü)	+3

Tablo 3.2. İHK'sal Her2-neu skorlarına göre olguların değerlendirilmesi (34).

Skor	Sonuç
0 ya da +1	Negatif
+2	Şüpheli (FISH yapılı)
+3	Pozitif

Tablo 3.3. Her2-neu testi algoritması (35).



3.4. Radyoterapi

Meme kanserinde postoperatif radyoterapi, hem lokal-bölgesel hastalığı kontrol etmek, hem yinelemeleri engellemek, hem de sağ kalımı arttırmak amacı ile uygulanır. Meme koruyucu cerrahi yapıldı ise; adjuvan radyoterapi standart kabul edilir. MKC sonrası radyoterapi uygulanması ile elde edilen sağ kalım sonuçları total mastektomi ile elde edilen sağ kalım sonuçlarına benzer görünmektedir. Lokal ileri evre meme kanserinde radyoterapi standart olarak önerilmektedir. Neoadjuvan tedaviye tam yanıt alınsa dahi radyoterapi uygulanmaktadır. Radyoterapinin lokal yineleme açısından sağ kalım avantajı yanı sıra genel sağ kalıma da katkısı olduğu gösterilmiştir. Bu grup hastalarda genellikle mastektomi sonrası göğüs duvarı ve periferik lenfatikler birlikte ışınlanmalıdır. Mastektomi sonrası radyoterapi, asıl etkisini lokal kontrolü arttırarak göstermektedir.

Lokal ileri evre meme kanseri tedavisinde göğüs duvarı ışınlaması standart yaklaşımdır. Pek çok olguda göğüs duvarına ek olarak periferik lenfatik ışınlama da yapılmaktadır. Ancak tüm aksilla ışınlaması yapılan olgularda aksiller disseksiyon ve radyoterapi sonrası lenfödem, ciddi bir yan etki olarak karşımıza

çıkmakta ve hastanın hayat kalitesini bozabilmektedir. Bu nedenle tüm aksilla radyoterapisi ancak yetersiz diseksiyon varlığında, bazı merkezlerde de kapsül dışı yayılım varlığında önerilmektedir.

Sonuç olarak; günümüz koşullarında etkin kemoterapi varlığında dahi radyoterapi doğru zamanlama ve doğru teknikle yapıldığında; lokal kontrol, hastalıksız sağ kalım ve genel sağ kalım avantajı sağlamaktadır (32,33).

3.5. Hormonal Tedavi

3.5.1. Hormonal tedavi tarihçesi

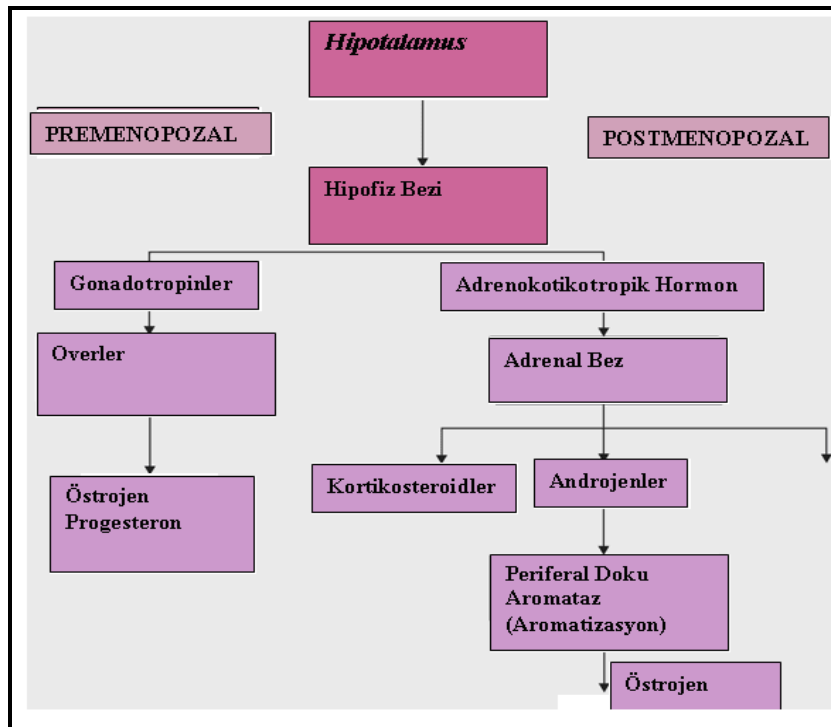
İlk kez 19. yüzyılın sonlarına doğru Beatson, ileri evre meme kanserinin tedavisinde ooferektominin etkili olduğunu gösterdi (36). O tarihlerde bu tedavinin etki mekanizması ve hormon deyimi bilinmiyordu. Overlerin cerrahi olarak çıkarılması veya radyoterapi ile ablasyonu 1950’li yıllarda hem metastatik hastalığın tedavisinde, hem de adjuvan uygulamalarda standart tedavi olarak kabul gördü. Ooferektomiye cevap veren hastalarda adrenelektomi ve hipofizektomi gibi komplikasyon oranları yüksek ve çeşitli endokrin replasman tedavileri gerektiren cerrahi ablatif tedaviler ise 1970’lere kadar uygulandı. Sonraki yıllarda cerrahi hormonal ablasyon tedavilerin yerini androjenler, östrojenler ve progestinler gibi yan etkileri fazla farmakolojik tedaviler aldı. Tedavi seçenekleri östrojen reseptörü ve progesteron reseptörü tespit metodlarının gelişimi ile daha optimal hale geldi. Meme kanserinin tedavisindeki en önemli gelişme; tamoksifenin 1970’lerde klinik kullanıma girmesidir (37).

Özellikle son yıllarda, meme kanserinin hormonal tedavisinde önemli gelişmeler oldu. Çeşitli antiöstrojenler, luteinizan hormon salgılatıcı hormon (LHRH) agonistleri, aromataz inhibitörleri gibi yan etkileri az olan yeni farmakolojik tedavilerin etkinliği kanıtlandı (38) (Şekil 3.1). Daha güvenli ve daha etkili ajanların araştırılması ise halen devam etmektedir (Şekil 3.2) (39).

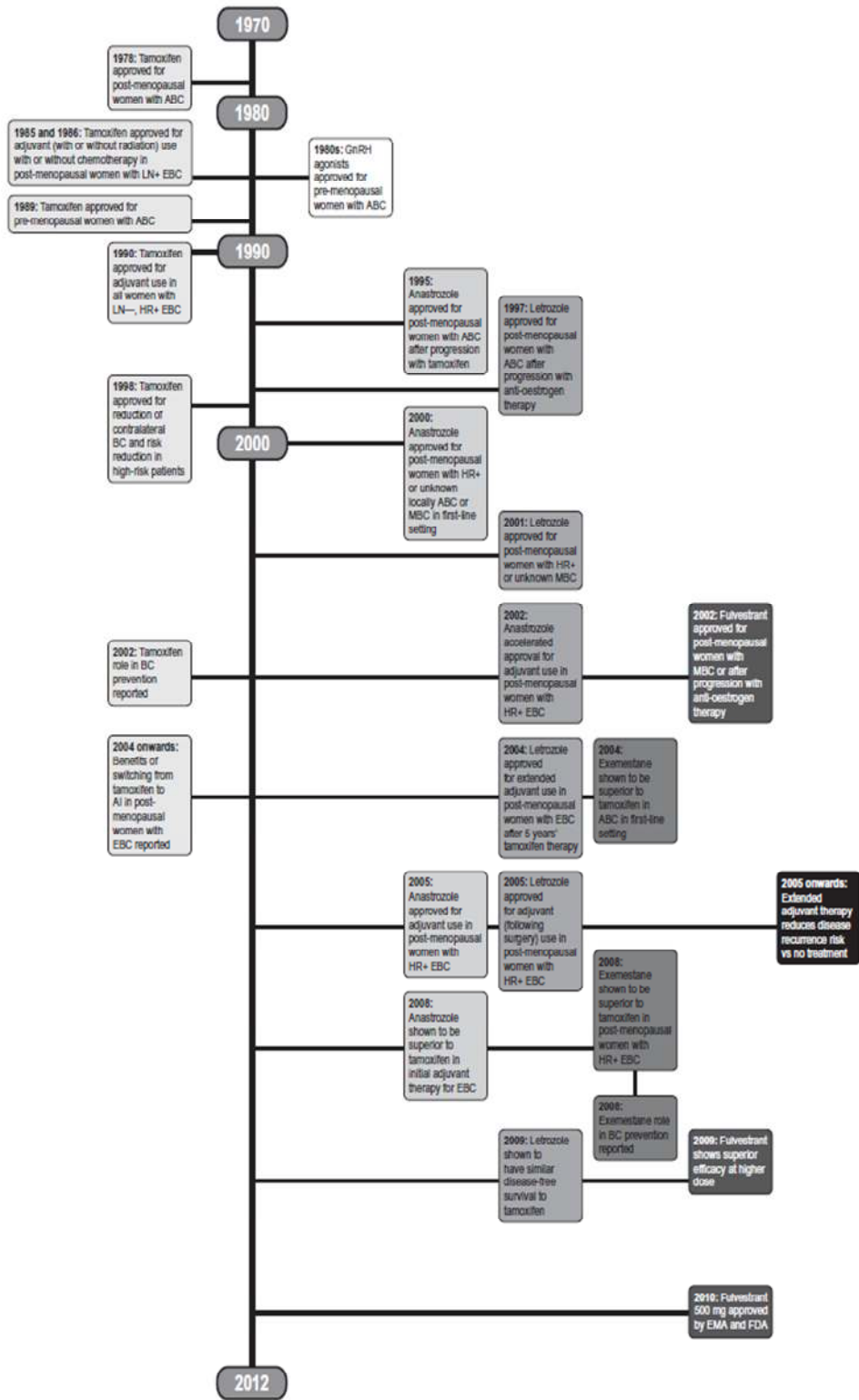
3.5.2. Hormonal tedavide kullanılan ilaçlar, farmakolojik özellikleri ve yan etkileri

Östrojen, progestin ve androjenler, hormon duyarlı tümörleri birer büyüme faktörü gibi stimüle ederler. Bu gerçekten hareket ederek söz konusu hormonları ortadan kaldırmakla tümör büyümesi durdurulabilmekte, hatta uyaran kaybolduğu için tümör kitlesi küçülmektedir. Hormon tedavisinde temel yaklaşım bu prensiptir.

Hipotalamus tarafından üretilen releasing faktör LHRH, hipofizi etkileyerek LH ve FSH sekresyonunu sağlar. LH tarafından testiste androjenler, overlerde östrojen ve progesteron üretimi ve sekresyonu gerçekleşir. Seksüel hormonların (östrojen, progesteron, androjenler) küçük bir bölümü böbreküstü bezi tarafından ACTH'nin etkisi ile yapılır. Postmenopozal kadınlarda over kaynaklı östrojen üretimi dururken; böbreküstü bezinde hafif yükselir. Kas ve yağ dokusu gibi çevre dokularda aromataz enzimi aracılığı ile androjenden östrojen sentezi gerçekleşir.



Şekil 3.1. Premenapozal ve postmenapozal dönemde östrojen üretimi.



ABC: advanced breast cancer; LN: lymph node; EBC: early breast cancer; GnRH: gonadotropin-releasing hormone agonist; HR: hormone receptor; MBC: metastatic breast cancer; AI: aromatase inhibitor; EMA: European Medicines Agency; FDA: Food and Drug Administration.

Şekil 3.2. Hormonoterapinin tarihçesi (39).

HORMONAL TERAPİDE KULLANILAN İLAÇLAR

Tablo 3.4. Meme kanseri hastalarında endokrin tedavi seçenekleri.

Meme Kanseri Hastalarında Endokrin Tedavi Seçenekleri
Antiöstrojenler
Steroid olmayan antiöstrojenler
Steroid antiöstrojenler
Aromataz İnhibitörleri ve İnaktivatörleri
Tip 1 (steroidal, geri dönüşümsüz AI)
Tip 2 (steroid olmayan, geri dönüşümlü AI)
Aminoglutetimid sınıfı
Triazol/imidazol sınıfı
LHRH agonist ve antagonistleri
Progestinler
Östrojenler (Farmakolojik dozlarda)
Antiprogesterinler

Tamoksifen

1950’lerde MER-25 (merrell) ve clomiphene (merrell) olarak iki anti-östrojen geliştirildi. 1960’larda Walpole ve arkadaşları hormon bağımlı tümörlerin tedavisi için klomifeni (clomiphene) geliştirdiler. Daha sonraları tamoksifen olarak adlandırılan ICI 464474 molekülü ise ilk olarak 1963’te sentezlendi ve bu molekül klomifenden farklı olarak kolesterol akümülyasyonuna ve katarakta neden olmuyordu. Anti-östrojenik özelliğinden dolayı 1970’te meme kanserinin tedavisinde kullanılmasına yönelik araştırmalar başladı ve 1977’de FDA tarafından postmenopozal ileri evre meme kanseri tedavisinde kullanılması onaylandı (37).

Östrojen, malign meme dokusunu da içeren bazı hücre gruplarının büyümesini uyarır. Östrojen reseptörüne bağlanarak hücre DNA’sına penetre olur ve gen aktivitesini artırır. Bu artmış gen aktivitesi de hücre büyümesini ve çoğalmasını stimüle eder. Tamoksifen, selektif östrojen reseptör ailesinin bir

üyesidir. Östrojen reseptörlerine bağlanır ve östrojenin bağlanmasını yarışma yoluyla engeller. Tamoksifen reseptör bileşiği nükleusa taşınarak nükleik asit fonksiyonlarını etkiler. Tümör DNA sentezi yavaşlar, tümör tarafından sekrete edilen çeşitli büyüme faktörleri azalır, hücre proliferasyonu inhibe olur (40).

Tamoksifenin cis ve trans izomerleri mevcuttur. Trans izomeri antiöstrojenik ve cis izomeri östrojenik aktiviteye sahiptir. Bu nedenle tamoksifen zayıf östrojenik aktiviteye sahip bir bileşiktir. Bu östrojenik etki nedeni ile postmenopozal kadınlarda LDL (düşük dansiteli lipoprotein) kolesterol düzeyini düşürerek kardiyovasküler mortaliteyi azaltıcı ve postmenopozal kadınlarda osteoporozu önleyici etkileri mevcuttur (37).

Tamoksifenin Kullanım Alanı:

- Premenopozal hastalarda over ablasyonundan sonra (cerrahi veya RT ile) ikinci basamak adjuvan hormonal tedavide
- Premenopozal hastalarda LHRH analogu ile birlikte adjuvan hormonal tedavide
- Premenopozal hastalarda adjuvan hormonal tedavide (tek başına)
- Premalign meme lezyonu olan kadınlarda kanserden korunmada
- Yüksek risk taşıyan kadınlarda kanserden korunmada
- Postmenopozal hastalarda adjuvan hormonal tedavide
- Postmenopozal hastalarda birinci ya da ikinci basamak palyatif hormonal tedavide kullanılması önerilebilir.

Aromataz İnhibitörleri

Aromataz erkek ve kadınların beyin dokusunu (hipotalamus, amigdala ve hipokampus) da içeren çeşitli organlarında üretilen itokrom P-450 enzim ailesinden bir enzimdir. Yetişkin erkeklerde aromataz, testisin leydig hücrelerinde üretilir ancak dolaşımdaki östrojenin ana kaynağı kas ve yağ dokuda aromataz ile oluşan östrojendir. Premenopozal kadınlarda östrojenin ana kaynağı ovaryan granuloza hücreleridir. Az bir oranda gelişmekte olan folikülün tekal komponentinde de sentezlenir. Gebelikte östrojen büyük oranda plasentada sentezlenir. Plasentada aromataz enzimi koryonik villusların dış tabakasındaki

sinsityotrofoblastların sitoplazmasında üretilir. Menapozdan sonra overler fonksiyonel değildir ve dolaşımdaki östrojen düzeyi çok düşüktür. Östrojenler, adrenal bezden salınan androjenlerden kas, yağ dokusu gibi periferik dokularda aromatzasyonla üretilir. Yağ dokusu ekstragonadal östrojen sentezinin ana kaynağıdır. Burada androjenlerin östrojenlere dönüşümünden sorumlu enzim aromataz enzimidir.

Kadın memesi aromataz ekspresyonu için önemli bir bölgedir. Östrojen serum seviyesi premenapozal kadınlarda oldukça düşüktür. Buna rağmen meme dokusundaki östrojen seviyesi hem premenapozal hem postmenapozal kadınlarda serum östrojen seviyesinden 4-6 kat daha fazladır. Tümoral meme dokusunda östrojen seviyesi normal meme dokusuna oranla daha yüksektir. Bu da meme karsinomu gelişiminde östrojen biyosentezinin kritik rol oynadığını düşündürmektedir. Bu nedenle meme dokusundaki aromataz aktivitesinin efektif inhibisyonu meme kanseri tedavisinde önemli rol oynar (41).

Aromataz inhibitörleri, etki mekanizmalarına göre iki gruba ayrılırlar (Tablo 3.5). Her iki tip de androjen prekürsörleri ile aromataz enzimi için yarışır. Etki tarzları farklıdır. Klinik gelişim sıralarına göre 1. 2. 3. kuşak olarak isimlendirilirler.

Tablo 3.5. Aromataz inhibitörlerinin sınıflandırması.

	Nonsteroidal Aİ	Steroid Aİ
1. Kuşak	Aminoglutetimid	
2. Kuşak	Rogletimid, Fadrozol	Formestan
3. Kuşak	Vorozol Letrozol Anastrozol	Eksemestan

Non-Steroidal Aromataz İnhibitörleri: Aromataz, sitokrom p-450 flavoproteiniyle etkileşerek, kortizol ve aldosteron sentezini az veya çok oranda engeller. Aromataz enzimine iyonik bağlarla geçici bağlanarak inaktive ederler. Bu grupta aminoglutetimid ve analogları, çeşitli imidazol ve triazoller yer alırlar.

Steroida Aromataz İnhibitörleri: Aromataz, sitokrom p-450 enziminin katalitik bölgesine kovalent bağlarla kalıcı olarak bağlanarak aromataz aktivitesinin kaybına neden olur. Bu nedenle inhibisyonun devamı için ilacın sürekli olarak bulunması gerekmez ve yan etkileri azdır. Formestan ve eksemestan bu grupta yer alır.

Eksemestan

FDA tarafından meme kanseri tedavisi için geliştirilen 3. kuşak ve piyasada bulunan tek steroida yapıda aromataz inhibitörüdür. Geri dönüşümsüz olarak yaklaşık %98 oranında aromataz inhibisyonu sağlar. Geri dönüşümsüz inhibisyon yaptığı için “mekanizma – bazlı” ya da “suicid” inhibitör olarak da adlandırılır. Eksemestan yapısal olarak doğal östrojen prekürsörü androstenedion ile benzerlik gösterir. Bu benzerlik hem terapötik etkinliğini hem de yan etkilerini yönlendirir (42).

Kullanılabilirliğe geçişinde Intergroup Exemestane Study: IES 031 önemlidir. Çalışmaya 1998- 2003 yılları arasında 2- 3 yıl adjuvan tamoksifen tedavisi sonrası yinelemesi olmayan postmenopozal meme kanserli 4742 hasta dahil edilmiştir. Uluslar arası çift kör randomize bir çalışma yapılmıştır. Bir gruba tamoksifen (n:2380) verilmeye devam edilirken, diğer gruba eksemestan (n:2362) tedavisi verilmiştir. Çalışmanın amacı; eksemestanın etkinliği ile güvenilirliğini tamoksifen ile kıyaslamaktır. Çalışmanın birincil hedefi; 5. yıl sonunda hastalıksız sağ kalımı değerlendirmektir. Diğer hedefleri ise; tedavinin 5. yılında karşı taraf meme kanseri insidansını, genel sağ kalımı saptamak, ortaya çıkan endometrium kalınlığını belirlemek, kemik metabolizması ve mineral dansite tayini yapmak ve yaşam kalitesini belirlemektir. Medyan 30,6 aylık takip sonrası yapılan değerlendirmede 2-3 yıl tamoksifen sonrası eksemestan uygulanan grupta hastalıksız sağ kalım oranı %91,5 iken; 5 yıl boyunca sadece tamoksifen

kullananlarda %86,8'dir. Aradaki fark istatistiksel ($p < 0,001$) olarak anlamlı bulunmuştur. Genel sağ kalım açısından her iki grup arasında anlamlı fark saptanmamıştır (43,44).

Günlük 25 mg eksemestan ileri evre postmenapozal meme kanseri hastalarında etkinliği kanıtlanmış bir tedavi rejimidir. Eksemestan ile yapılan çalışmaların erken verilerine göre eksemestan; metastatik hastalığın başlangıç tedavisinde ve postmenapozal hastaların neo- adjuvan tedavisinde yakın gelecekte kullanılabilir bir rejim haline gelecektir. Günümüzde ise postmenapozal hastaların adjuvan tedavisinde ve meme kanserinden korunmada potansiyel rolü kanıtlanmıştır (45).

Letrozol

Letrozol, bir triazol derivesidir. Steroidal olmayan 3. kuşak (selektif) bir aromataz inhibitörüdür. Postmenapozal metastatik meme kanseri nedeni ile tedavi amaçlı tamoksifen kullanımı esnasında, hastalığın ilerlemesi veya relaps göstermesi halinde kullanılan letrozol ile ilgili faz 3 çalışmalar vardır (46). Letrozolün metastatik meme kanserinin 1. basamak hormonal tedavisindeki başarısından sonra; meme kanserinin adjuvan tedavisindeki yerini araştıran (BIG 1- 98 ve MA-17) ve letrozol-anastrozolü karşılaştıran çalışmalar yapılmıştır. Beş yıl tamoksifen tedavisinin ardından 5 yıl süreyle letrozol kullanımı, daha iyi klinik sonuçlarla ilişkili bulunmuştur. MA.17, postmenapozal, lenf düğümü tutulumu olan ve olmayan 4,5 ile 6 yıl arasında tamoksifen tedavisi almış meme kanseri hastalarında yapılmış randomize bir çalışmadır. Bir grup hastaya 5 yıl süreyle letrozol verilirken, diğer gruba plasebo verilmiştir. Otuz ay sonra letrozol kullanan grupta hastalıksız sağ kalım oranları belirgin olarak daha iyi bulunmuştur ($p<0.001$). Lenf düğümü tutulumu olan hastalarda genel sağ kalım oranları da letrozol kullanan grupta belirgin olarak daha iyidir. ($p<0.004$). İlaç genel olarak iyi tolere edilmiştir ve kemik fraktürü insidansı hem plasebo kullanan, hem letrozol kullanan grupta aynı bulunmuştur (47).

Anastrozol

Steroid olmayan triazol derivativesi bir aromataz inhibitörüdür ve oral yolla kullanılır. Postmenopozal dönemde östrojen seviyesini enzimatik olarak %80 oranında düşürür. Adrenal kökenli androjenlerin periferik dokularda (yağ, kas dokusu gibi) aromataz enzimi aracılığı ile östrojenlere dönüşümünü engeller. Hormon reseptörü pozitif postmenopozal metastatik meme kanserli hastalarda progresyona kadar (palyatif endokrin tedavi), reseptör pozitif postmenopozal meme kanserli hastalarda adjuvan olarak (upfront adjuvan) ve reseptör pozitif postmenopozal meme kanserli hastalarda 2-3 yıl tamoksifen kullanımı sonrası 2-3 yıl adjuvan olarak (adjuvan switch) kullanılır. Kemik mineral dansitesinde azalma, kırık ve artralji tamoksifene göre daha sık görülür. Tamoksifen ve anastrozolu kıyaslayan ATAC çalışması sonuçlarına göre erken evre meme kanseri olan postmenopozal hastalarda başlangıç tedavisi olarak 5 yıl süreyle anastrozol kullanımı önerilmektedir. Hem hastalıksız sağ kalım hem de rekürrense kadar geçen süre açısından anastrozol kullanımı istatistiksel olarak anlamlı daha iyi sonuçlarla ilişkilidir (48).

LHRH analogları

Daha önceleri kastrasyon amacıyla hipofizektomi, ooferektomi veya overe yönelik radyoterapi seçenekleri kullanılmakta idi. Yirminci yüzyılın sonlarına doğru; LHRH analoglarının meme kanserinde kullanıma girmesi bu yöntemlerin yerini almıştır. Diğer yöntemlerden farkı, geri dönüşümlü bir kastrasyon oluşturmastır. LHRH hipotalamusta sentezlenir ve hipofiz portal sistemi aracılığı ile hipofizden LH ve FSH serbestleşmesini sağlar. LHRH uygulandığında LH ve FSH, başlarda stimüle olur. Tedavinin sürmesi ile bu hormonlar tam olarak inhibe edilir. LHRH analogları, hipofizde gonadotropin salınımını inhibe eder. Böylece hastalarda medikal geri dönüşümlü kastrasyon meydana getirilmiş olur. LHRH analogları sadece östrojeni değil prolaktini de suprese ederler. LHRH reseptörleri over ve endometrium tümörlerinin %80'den fazlasında, meme kanserlerinin ise %50'sinden fazlasında üretilir (Üçlü negatif meme kanserleri dahil). Hücrel gonadotropin reseptörlerine LHRH analoglarının bağlanması ve lokal büyüme faktörlerinin de yardımı ile in vitro şartlarda, proliferasyonu engelleyen bir sonuç

ortaya ıkar. Gonadlara olan stimölasyon ortadan kalkınca, östrojen veya testosteron yapımı durur. Tedavi sonlandırıldığında over fonksiyonları geri gelmektedir. Öte yandan LHRH analogları ile tedaviden sonra progresyon gelişen vakalarda cerrahi ooferektomi ile cevap alındığını belirten yayınlar da mevcuttur. LHRH analogları esas olarak premenopozal hastalarda etkilidir. Goserelin asetat ve buserelin asetat bu grup ilaçlardandır (49).

4. MEME KANSERİ HASTALARINDA YAŞAM KALİTESİ TANIMI, ÖLÇEKLERİ VE HORMONOTERAPİ İLE İLİŞKİSİ

Son yıllarda tedavi seçeneklerinin gelişmesi ile birlikte meme kanseri hastaları daha uzun yaşam sürelerine sahip olabilmektedir. Yaşam kalitesi bireyin bir tıbbi durum ya da tedaviden etkilenen, genel ya da beklenen fiziksel, duygusal ve sosyal iyilik halinin ifadesidir. Yaşam kalitesi tanımlaması öznel boyutta (“kendini iyi hissetme”, “yaşamdan doyum sağlama”) ve nesnel boyutta (“bağımsız yaşayabilme”, “kişiler arası sosyal ilişkiler”) yapılabilmekle birlikte en az 3 başlıkta toplanabilir; fiziksel, psikolojik ve sosyal aktivitelerde iyilik.

Yaşam kalitesi tanımlaması, bireyin kendi yaşamını gözden geçirmesine dayanan öznel algı, duygu ve bilinç süreçlerinin bir bütünü şeklinde yapılır ve bireysel iyilik durumunun bir anlatımıdır.

Yaşam kalitesi değerlendirmeleri, hasta doktor iletişimini kolaylaştıran, hastaların önemli sorunlar yaşadıkları alanlara dikkati çeken, problemlere dayalı çözüm sunmayı sağlayan, takip gerektiren bir tanısal araç olmaktadır.

Meme kanserinin kadınlar arasında en sık görülen kanser olması ve meme ameliyatı sonrasında meme kaybının, hastanın kadınlık kimliğine olan ciddi etkisi nedeni ile meme kanseri hastalarında yaşam kalitesi oldukça fazla araştırılmaktadır.

Yaşam kalitesi, sağ kalımdan sonra hasta izlenmesinde önemli değerlendirme ölçütü olarak belirlenen bir kavram olmuştur. Sağlıkta yaşam kalitesi ölçümlerinin hedefi bir hastalık ve bu hastalığın tedavisinin yaşamın fiziksel, sosyal, emosyonel boyutları üzerine etkilerini incelemektir.

Meme kanserinde pek çok farklı yaşam kalitesi ölçeği kullanılmıştır. Bunlardan en yaygın kullanılanları;

- Cancer Rehabilitation Evaluation System (EORTC)
- Core QOL Questionnaire (EORTC QLQ C)
- Functional Assessment of Cancer Therapy (FACT)
- Functional Living Index Cancer (FLIC)
- Linear Analogue Self Assessment (LASA)

- Rotterdam Symptom Checklist (RSCL)
- Spitzer QOL Index (QOLI)
- Breast Cancer Chemotherapy Questionnaire (BCCQ) ölçekleridir

Hormon reseptörü pozitif meme kanseri hastalarında adjuvan hormonal tedavinin hastalıksız sağ kalım ve genel sağ kalıma etkisi gösterilmiştir. Pek çok yeni hormonal tedavi meme kanserli kadınlarda kullanım için onay almıştır. Devam etmekte olan çoğu çalışma bunların etkinliklerini arttırmak, yan etkilerini azaltmak, osteoporoz ve kardiyovasküler problemleri önleyerek genel sağlığı ve iyilik halini geliştirmek amacı ile düzenlenmektedir. Tedavi yönetiminde doğru tercihler yapabilmek için bu farklı tedavi şekillerinin yaşam kalitesi üzerine etkileri göz önünde bulundurulmalıdır. Örneğin tamoksifen tedavisi vaginal kanama ve vaginal huzursuzluklar, endometrium kanseri, venöz tromboemboli ve serebrovasküler olayların artan sıklığı ile karşımıza gelirken, aromataz inhibitörü tedavisi kas iskelet sistemi şikayetleri (artralji, kemik kaybı, kırık) ve vaginal kuruluğun artması (disparoni) ile sonuçlanır. Doğru kontrol edilmediğinde bu yan etkiler morbiditenin ve tedaviyi bırakmanın esas sebebi olabilirler. Meme kanseri çalışmalarının odaklandığı yeni başlık, tedaviye uyumsuzluk nedenlerini oluşturmaktadır. Çünkü tedaviye uyumsuzluk ilacın istenen terapötik hedefe ulaşamamasına neden olan ana faktörlerden biridir (50,51,52).

5. HORMONOTERAPİYE DİRENÇ MEKANİZMALARI

Hormonal terapi meme kanserinin adjuvan tedavisinde önemli rol oynar. Tamoksifen ise bu tedavinin en önemli parçasıdır. Tamoksifen ER pozitif olan, hem premenapozal hem postmenapozal hastalarda yıllık yinleme riskini yarı yarıya, mortaliteyi ise üçte bir oranında azaltır. Tamoksifen meme kanseri için yüksek risk taşıyan olgularda profilaktik kullanım için de onay almıştır. Ayrıca intraduktal karsinom hastalarında meme kanseri gelişim riskini azaltır.

Aromataz inhibitörlerinin premenapozal hastalarda kanıtlanmış bir etkinliği olmasa da şu an iki büyük faz 3 klinik çalışma ile araştırılmaktadır. Bunlar SOFT (suppression of ovarian function trial) ve TEXT (tamoksifen ve exemestane trial) çalışmalarıdır. Postmenapozal kadınlarda ise aromataz inhibitörleri tamoksifen ile karşılaştırıldığında, yinleme riskini %13 daha fazla azaltmasına karşın, yaşam boyu sağ kalımda üstünlüğü saptanmamıştır. Ayrıca aromataz inhibitörleri tamoksifenden farklı olarak kemik dansite kaybı, kas- iskelet sistemi şikayetleri ve vajinal kuruluk gibi yan etkiler açısından daha büyük risk taşırlar.

Günümüzde cerrahiden sonra hastanın ER, PR ve Her2-neu durumuna göre hormonoterapiye karar verilmektedir. Ancak halen hangi hastaların tamoksifene, hangi hastaların aromataz inhibitörlerine daha uygun olacağına karar vermek mümkün değildir ve bunun için çalışmalar devam etmektedir.

Adjuvan tedaviye rağmen, tamoksifen tedavisi alan ciddi oranda bir hasta grubu ölümle sonuçlanabilen uzak metastaz geliştirmektedir. Tamoksifen tedavisi altında relapsın mekanizması henüz tam olarak çözülememiştir ve multifaktöriyel olduğu düşünülmektedir.

Tarihsel olarak hem ER, hem PR eksprese eden metastatik meme kanseri hastaları %80'e varan oranda tamoksifene yanıt vermektedir. Sadece ER eksprese eden tümörlerde bu oran %40'a düşmektedir. Ayrıca klinik deneyimlerle anlaşılmıştır ki, bir tümörün hormon ekspresyon profili zaman içerisinde değişebilir. ER pozitif bir tümör ER negatif olabilir. Bazı tümörler ise ER eksprese etmeye devam ederken tamoksifen tedavisine direnç gösterip, diğer anti – östrojenlere cevap verebilir. Hatta bazı durumlarda tamoksifenin meme kanseri büyümesini stimüle ettiğine dair kanıtlar vardır (11).

5.1. Günümüze Kadar Tamoksifen Direnci İçin Öne Sürülmüş Mekanizmalar

5.1.1. Her-2 Neu(c-ErbB2) overekspresyonu

Her2- neu transmembran tirozin kinazı orphan reseptör p185'i kodlar ve günümüzde en önemli meme kanseri onkogenlerinden biridir. Her2-neu amplifikasyonu ve/veya overekspresyonu meme kanserli olguların yaklaşık %30'unda vardır ve kötü prognoz ile ilişkilidir. Her2 – neu'nun yüksek oranda ekspresyonu bazı hücre gruplarında neoplastik transformasyonu indüklediğinden bazı meme tümörlerinin oluşumunda rol oynadığı düşünülür. Her2–neu'nun hem invaziv, hem de preneoplastik süreçlerde (atipik duktal proliferasyon ve intraduktal karsinom gibi) etyolojik rol oynadığına inanılır. Her2-neu overekspresyonu meme kanseri hücrelerinin invazivliğini ve metastatik fenotipini artırır. Ayrıca kemoterapi ve endokrin terapiye direnci artırır. Bu nedenle Her2-neu başarılı bir terapötik hedeftir ve bu amaçla geliştirilen transtuzumab (Herceptin) günümüzde Her2-neu eksprese eden meme kanseri hastalarının tedavisinde etkin bir şekilde kullanılmaktadır (53).

Her2-neu'nun terapötik hedef olmasını sağlayan diğer faktörler tüm meme kanserlerinin %30'unda eksprese edilmesi, meme kanserinin patogenezi ve prognozu ile ilişkili olması, normal dokuya göre kanserli dokuda daha fazla eksprese edilmesi, hem primer tümörde hem metastatik dokuda homojen dağılım göstermesidir (54).

5.1.2. HOXB7 proteini overekspresyonu

Homeobox genleri normal gelişim ve diferansiasyon aşamalarında transkripsiyon faktörü olarak rol oynayan, nükleer proteinleri kodlayan düzenleyici gen ailesidir. HOXB7 ise bu ailenin bir üyesi olup, hematopoez ve meme dokusu gelişiminde etkili bir genidir. HOXB7 overekspresyonu, reseptör tirozin kinaz ve ER alfa sinyali arasında çapraz reaksiyona neden olarak tamoksifen direnci oluşmasına neden olur. HOXB7 ER alfaya hassas bir genidir. Uzamış tamoksifen tedavisi HOXB7, EGFR ve EGFR ligandlarının giderek daha fazla artış göstermesine neden olur. EGFR'nin upregülasyonu HOXB7'nin

EGFR'nin promoter bölgesine doğrudan doğruya bağlanması ve transkripsiyonel aktivitenin artmasına neden olur. Sonuçta ER bağımlı transkripsiyon, aberran büyüme ve apoptoz indüklenir bu da endokrin dirence neden olur. Kiedok ve arkadaşları yaptıkları çalışmada MCF-7 (ER ve PR pozitif hücreler) hücrelerinin in vitro uzun süreli tamoksifen tedavisine direnç geliştirdiklerini bu hücrelerde ek olarak HOXB7 overekspresyonu olduğunu göstermişlerdir. Bu sonuçtan yola çıkarak HOXB7 artmış ekspresyonunun kazanılmış tamoksifen direnci ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir.

Son çalışmalar ışığında HOXB7'nin meme kanserinde anahtar rol oynadığı ve birçok hedef moleküle yön verdiğini göstermiştir. Bu nedenle HOXB7'nin fonksiyonel inhibisyonu Tamoksifen direncini ortadan kaldırabilir (55).

5.1.3. Büyüme faktörü reseptörleri ve östrojen reseptörü arasındaki çapraz reaksiyonlar

Meme kanseri gelişiminde insülin ve benzeri hormonlar, epidermal büyüme faktörleri ve insülin benzeri büyüme faktörü gibi büyüme faktörleri de önemli rol oynar. Bu ligandların kendi reseptörlerine bağlanması, kinaz- sinyal kaskadını başlatır. Fosforilasyon sonucu bir grup intrasellüler sinyal molekülü aktive olur.

Bunlardan önemli birkaç tanesi;

- PI3 kinaz ve AKT/PKB : Hücre sağkalımı yolağında
- MAPK (Mitogen Activated Protein Kinaz) : Hücre proliferasyon yolağı
- Stres aktif protein kinaz/JNK ve P38 MAPK : Stres ilişkili yolak

Son verilere göre bu yolakların her biri bağımsız olarak ER aktivitesini düzenler. Bahsedilen ER ko- aktivitörlerinin ve reseptörlerinin fosforillenmesi ER fonksiyonları açısından gereklidir. Son çalışmalar göstermiştir ki ER yolağı ve büyüme faktörleri yolağı arasındaki çapraz reaksiyonlar meme kanseri hastalarında tamoksifen direncine neden olmaktadır.

AIB1 bir ER koaktivatörüdür ve meme kanserinde önemli olduğu düşünülür. Çalışmaların sonuçlarına göre adjuvan hormonoterapi almayan hastalarda AIB1'in yüksek oranda eksprese edilmesi daha iyi hastalıksız sağkalım oranları ile birlikte olmasına rağmen, adjuvan tamoksifen tedavisi alanlarda yüksek AIB1 ekspresyonu kötü prognoz ile ilişkilidir. Osborne ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmaya göre AIB1 ekspresyonu tamoksifenin antagonist aktivitesini azaltır.

Tamoksifen tedavisi alan hastalarda yüksek Her2-neu ve AIB1 ekspresyonu kısa hastalıksız sağ kalım oranı ile birlikteyken bunlardan birinin veya her ikisinin birden düşük oranda eksprese edilmesi belirgin olarak daha uzun hastalıksız sağ kalım süresi ile ilişkilidir (56,57).

5.1.4. Epigenetik değişimler

Gen hipermetilasyonu gibi epigenetik değişimler karsinogenez ve yaygın kullanılan terapilere direnç ile ilişkilendirilmiştir. Meme kanser dokusunda, kanseröz olmayan dokuya göre daha fazla oranda gen metilasyonları tesbit edilmiştir. Estrojen reseptörü kodlayan genler birinci eksonunda, A ve B promoter bölgesinde CpG adası bulundurulur. Cpg, DNA metil transferaz tarafından metilasyona uğramış guanozine yerine sitozin içeren bir dinükleotittir. Sağlıklı dokuda gen promoter bölgesindeki Cpg adası genelde metile değildir ve aktif gen transkripsiyonuna izin verir.

Araştırmacılar ER promoter bölgesindeki metilasyon oranını ER ve PR eksprese eden tümörlerde %36, sadece ER eksprese eden tümörlerde %72, ER ve PR eksprese etmeyen tümörlerde %100 olarak bulmuşlardır (7).

5.1.5. Tamoksifen farmokogenetiğinde bireysel farklılıklar

Bir ilacın etkinliği ve güvenilirliği konusunda bireysel farklılıklar olabilir. Olgulardaki farklılıklar germline DNA sekansını da (genotip) içeren single nükleotid polimorfizmi (SNPs) ile, kodlanan proteinin ekspresyonu ve/veya fonksiyonel aktivitesini etkileyerek fenotipi belirler.

Kodlanan enzimlerdeki genetik varyasyonlar ilacın metabolizması, eliminasyonu veya ilacın hedefi ile ilişkili olup, ilaç dağılımı, metabolizması, aktivitesi ve toksisitesindeki bireysel farklılıklara neden olur.

Tamoksifen göreceli olarak östrojene zayıf afinite gösterir ve ön-ilaç olarak nitelendirilebilir. Bir grup sitokrom P450 enzimi (CYP2D6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4 ve CYP3A5) tamoksifenin biyotransformasyonunu katalizleyerek tamoksifeni aktif ve inaktif metabolitlerine ayırır. CYP2D6 ise tamoksifenin aktif metabolitlerinden olan 4-hidroksi tamoksifen ve endoksifen üretiminde ana rol oynar (6).

Bozulmuş CYP2D6 metabolizması, meme kanseri rekürrensi, kısa relaps süresi, kötü sağ kalım süresi ile ilişkilidir (58).

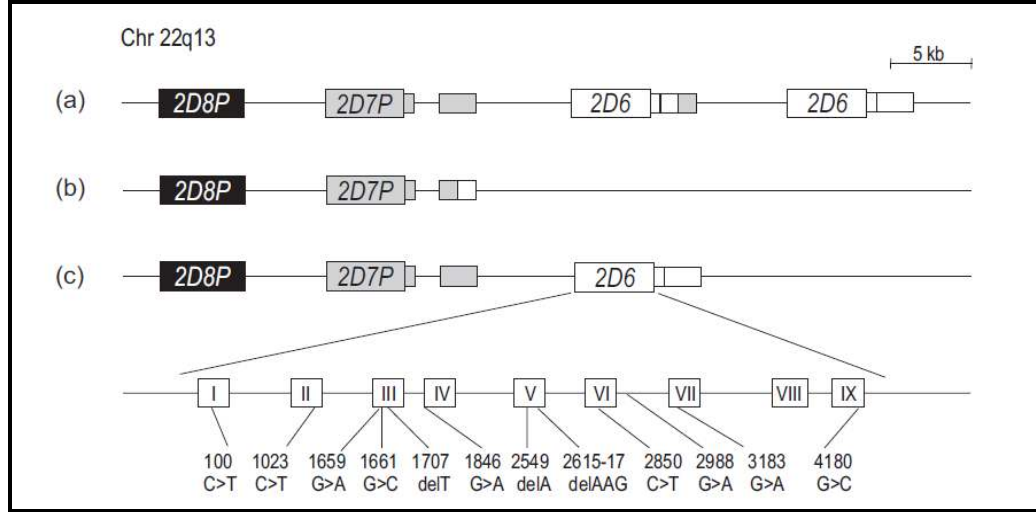
Mayo araştırmacılarının daha önceden belirlediği gibi, adjuvan tamoksifen tedavisi alan hastalarda tamoksifen metabolizmasındaki enzimatik farklılıklar meme kanseri rekürrensini etkiler. Bu çalışmanın ışığında Mayo Medikal Laboratuvarları tarafından, klinisyeni tamoksifen tedavisi için uygun hasta seçimi konusunda yönlendirmek amacıyla 87966 cytochrome p450 2D6 Genotyping for tamoxifen Hormonal Therapy” kiti geliştirilmiştir (5).

5.2. Tamoksifen Metabolizması Ve Sitokrom P-450 Enzimleri

5.2.1. Sitokrom p450 enzimleri

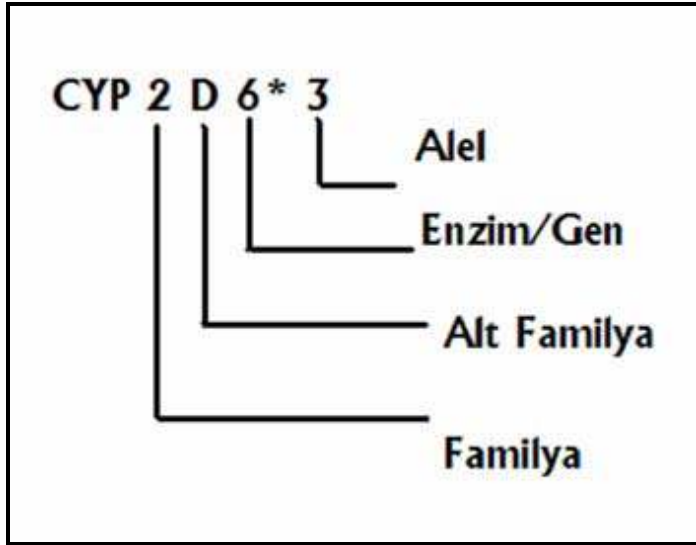
Sitokrom enzimleri heme-thiolate enzimleri grubundan olup, yaklaşık 7000 üyesi şimdiye kadar tanımlanmıştır (<http://drnelson.utmem.edu/cytochromeP450.html>). İnsanlarda bütün sitokrom enzimleri membranlardadır. Özellikle endoplazmik retikulum ve mitokondride bulunurlar. Endojen ve eksojen moleküllerin oksidatif metabolizmasından sorumludur. Reaksiyonun mekanizmasını enzimde yer alan heme grubu ile moleküler oksijenin tepkimesi oluşturur. CYP450 enzimlerinin büyük çoğunluğu CYP1-CYP4 ailesindendir. CYP1, CYP2 ve CYP3 enzimleri primer olarak eksojen moleküllerin metabolizmasında görevlidirler. CYP1-3 ailesinin klinik olarak kullanılan ilaçların yaklaşık %75'inin metabolizmasında, özellikle faz 1 reaksiyonlarda (oksidasyon, redüksiyon, hidroliz) etkin olduğu kanıtlanmıştır. Klinik olarak önemli

polimorfizmlerin büyük çoğunluğu CYP2D6, CYP2C9 ve CYP2C19’dadır (54). CYP2D6, 497 aminoasitten oluşan bir polipeptittir. Kromozom 22q13.1’de oldukça homolog olan CYP2D8P ve CYP2D7P psödogenleriyle birlikte bulunur.



Şekil 5.1. CYP 2D gen lokusu.

Günümüzde 100’den fazla CYP2D6 majör varyantı tanımlanmıştır. Bu varyasyonlar nokta mutasyonları, tekli veya çoklu gen delesyonları ve insersiyonları, gen dönüşümleri, total gen kayıpları ve duplikasyonları ile oluşurlar. Bu varyantlardan bir kısmı ise, metabolizmasında görevli oldukları ilaçların farmokogenetiğinde değişikliklere neden olurlar. Bu varyantların genotip-fenotip ilişkileri dikkate alınarak CYP2D6 polimorfizmini göstermek için uluslararası kabul edilen terminoloji kılavuzu oluşturulmuştur. Bu terminolojiye göre, tüm alleller CYP2D6’yı takip eden bir yıldız (*) ile birbirinden ayrılır. (Şekil 5.2). Ortak mutasyona sahip allelin farklı dizin değişikliğine sahip olan her bir alt üyesi ise allel numarasının yanına gelen bir harf ile birbirinden ayrılır (Örnek: CYP2D6*4A).



Şekil 5.2. CYP450 genlerinin adlandırılması.

Polimorfizmlerin gelişmiş olması; farklı bir aminoasid ya da duruş kodonu kodlanmasına yol açabilir, protein fonksiyonu ya da miktarında değişikliğe yol açabilir, mRNA kararlılığını değiştirebilir veya herhangi bir etkisi olmayabilir. SNP'lerden hangilerinin ilaç etkinliği ve güvenilirliği açısından önemli olduğu, fenotipik veya klinik korelasyonu inceleyen araştırmalar sonucu ortaya konabilir. CYP450 enzimlerine göre, doz ayarlaması ile, toksisitenin azaltılması ve etkisinin arttırılması gereken, birçok ilaç vardır. İnsanda genetik polimorfizm gösteren enzimler ve reseptörlerin tedavi sürecinde bilinmesi, tedavinin uygunluğunu sağlama açısından önemli olabilir; bu bilgi terapötik yanıtın öngörülmesine veya tedavinin bireyselleştirilmesine olanak sağlayabilir. Fenotipleme, o enzim aktivitesinin, birey üzerinde gözlenen tüm faktörlerin katkısıyla ortaya çıkan sonuçtur. Bu yüzden ilaç etkinliği ve güvenilirliği konusu, çoğunlukla, genotipleme ve fenotiplemeyle birlikte ele alınır (58,59).

5.2.2. Tamoksifen metabolizması

Daha önce belirtildiği gibi tamoksifen ER'e göreceli olarak daha az afinite gösterdiği için ön- ilaç olarak değerlendirilebilir. Tamoksifen oral alımından sonra karaciğerde bulunan sitokrom P450 enzimleri ile aktif ve inaktif metabolitlerine ayrılır. En iyi bilinen aktif metabolitleri N- desmethyl-

tamoksifen, 4- hydroxy- N- desmethyl- tamoksifen (plazmada en çok bulunan metabolit) ve 4- hydroxy- tamoksifendir. Bu metabolitlerden 4- hydroxy- tamoksifen, N - desmethyl- tamoksifen ve tamoksifenden 100 kat daha güçlü bir anti-östrojendir. Son veriler ise tamoksifenin sekonder metaboliti olan endoksifenin, anti-östrojenik aktivitenin büyük bir kısmından sorumlu olduğunu göstermektedir. Endoksifen ve 4- hydroxy- tamoksifen in vitro olarak ER alfa ve ER beta reseptörüne aynı oranda afinite gösterirler. Her ikisi de ER pozitif meme kanserlerinde benzer doz-cevap ilişkisine sahiptirler. Endoksifen göreceli olarak progesteron reseptörünün daha potent bir antagonistidir. Klinik olarak ise endoksifenin plazma konsantrasyonu 5-10 kat daha fazla olduğu için daha aktif bir metabolit olarak değerlendirilebilir.

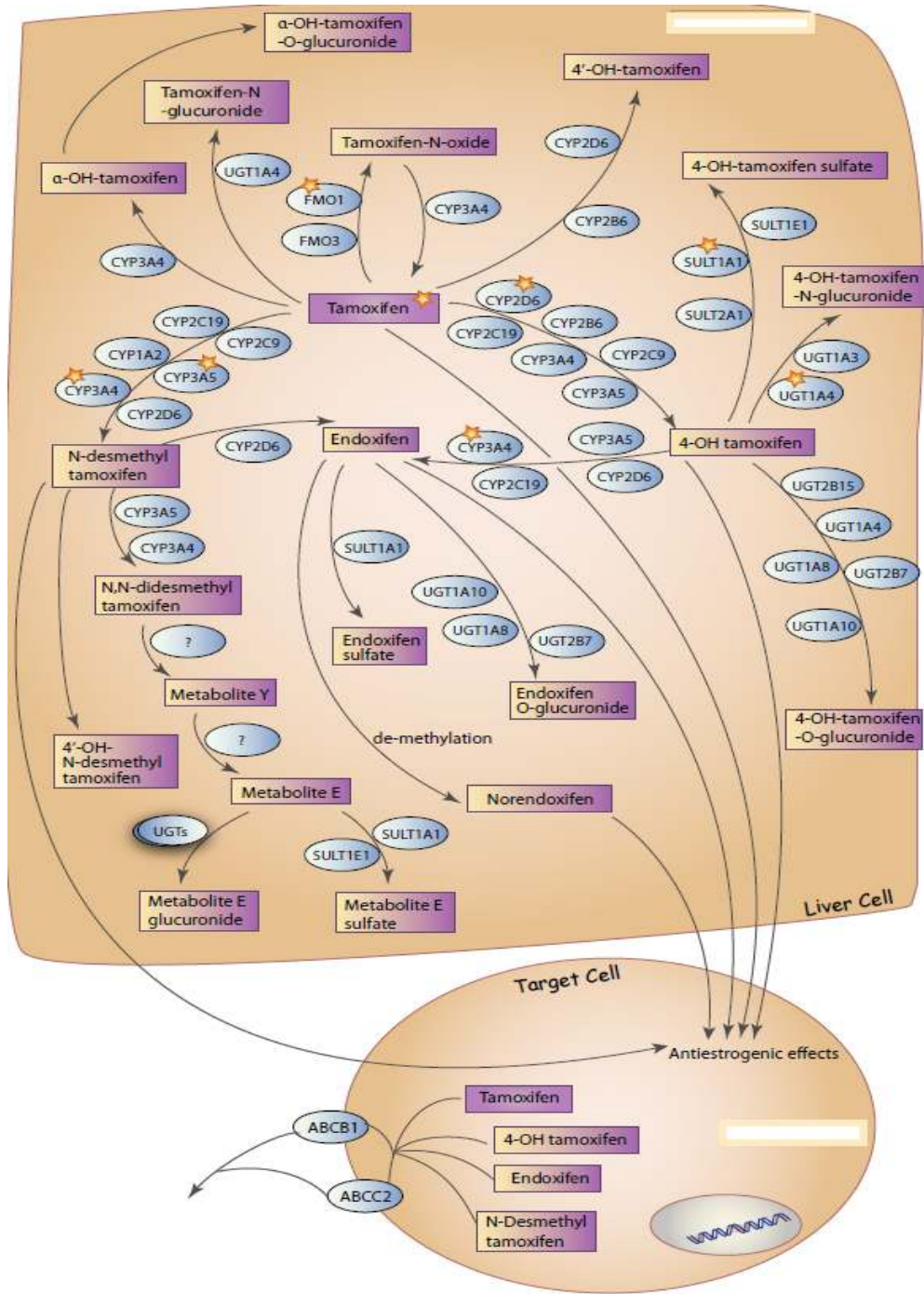
Tamoksifenden endoksifen oluşumunda çeşitli aşamalar vardır. Tamoksifen, CYP3A4 ve CYP3A5 ile N- desmethyl tamoksifene dönüşür. Bu aşamada CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1, CYP2C9, CYP2C19 ve CYP2D6 minör rol oynar. N- desmethyl tamoksifenin endoksifene dönüşümünde ise CYP2D6 ana rol oynar.

Tamoksifenin, 4- hydroxy tamoksifene metabolizasyonunu ise CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 enzimleri katalizler. 4- hydroxy tamoksifenin endoksifene dönüşümünde ise CYP3A4 ve CYP3A5 rol oynar.

Tamoksifenin aktif metabolitleri, SULT1A1 ile konjuge olduklarında inaktive olurlar. Tamoksifenin metabolizmasında rol oynayan CYP450 enzimleri farmakolojik ajanlarında içeren bir grup xenobiyotik tarafından aktivasyona veya inhibisyona uğrayabilirler (5,11).

5.2.3. Tamoksifenin metabolizmasına genetik etkiler

Tamoksifenin metabolik aktivasyonunda primer rol oynayan CYP2D6'da meydana gelen değişikliklerin, ilaca karşı oluşturulan yanıtta önemli olabileceği gösterilmiştir. Kromozom 22q13.1'de lokalize olan CYP2D6 geni, oldukça polimorfik bir gen olup, bazılarının enzim aktivitesinin değişimine neden olduğu gösterilmiş 100'den fazla allelik varyantı bulunmaktadır. Wild tip CYP2D6 enzimi, CYP2D6 *1 olarak kabul edilir. Enzim aktivitesinde azalma veya yokluğa



Şekil 5.3. Tamoksifen metabolizması.

sebebi olan değişiklikler de bulunmakta olup, bu varyantlar poor (PM), intermediate (IM), normal (extensive; EM) veya ultrarapid (UM) metabolize ediciler şeklinde etkisini göstermektedir (8,9). Polimorfizm sıklığı etnik gruplar arasında farklılıklar göstermektedir. PM varyantı, Kafkaslarda %7-10, Afrikalılarda %2 ve Asyalılarda %1 sıklıkla görülmektedir. CYP2D6 *3 (2549A del), CYP2D6 *4 (1846 G>A), CYP2D6 *5 (gen delesyonları), CYP2D6 *6 (1707 T>del), CYP2D6 *7 (2935 A>C), CYP2D6 *8 (1758 G>T), CYP2D6 *11 (883 G>C), CYP2D6 *12 (124 G>A) değişimleri aktivite kaybına yol aan değişimler olup PM etkisine neden olmaktadır (10).

Tablo 5.1. CYP2D6 gen polimorfizmleri.

Genotip	Mutasyon	Aktivite
*1	Yok	Normal
*2	(2850C>T)	Normal
*3	(2549delA)	İnaktif
*4	(1846G>A)	İnaktif
*5	(delesyon)	İnaktif
*6	(1707delT)	İnaktif
*7	(2935A>C)	İnaktif
*8	(1785G>T)	İnaktif
*9	(2615_2617delAAG)	Kısmen aktif
*10	(100C>T)	Kısmen aktif
*12	(124G>A)	İnaktif
*14	(1785G>A)	İnaktif
*17	(1023C>A)	Kısmen aktif
*29	(1659G>A)	Kısmen aktif
*41	(2988G>A)	Kısmen aktif
*XN	Gen duplikasyonu *1, *2, *4, *10, *41	Artmış aktivite

Mutasyonların etkisine göre dört fenotip belirlenmiştir. Bunlar;

- Zayıf metabolizörler (PM),
- Orta hızlı metabolizörler (IM),
- Normal metabolizörler (EM),
- Hızlı metabolizörler (UM).

CYP2D6, CYP2D6 enzim fonksiyonu kaybına neden olan 46 allelik varyantı rapor edilen polimorfik bir gendir. İn vitro tamoksifenin metabolizmasında CYP2D6 dışında diğer enzimlerin (CYP3A, CYP2C9, sulfotransferaz 1A1) rolü olmasına rağmen, onların metabolit oluşumundaki gen kodlanmasında rol alan allelik gen varyantları bilinmemektedir. CYP2D6 fenotiplerinin sıklığı etnik özelliğe göre farklıdır ve beraberinde kullanılan ilaçlar (CYP2D6 inhibitörleri gibi) enzimin fonksiyonel aktivitesini etkileyebilir.

Psikotropikler		Antihistaminikler	Opiatlar	Diğerleri
Amphetamines	Fluoxetine	Chlorpheniramine	Codeine	Phenacetin
Amitriptyline	Fluvoxamine	Diphenhydramine	Hydrocodone	Propafenone
Aripiprazole	Haloperidol	Hydroxyzine	Oxycodone	Rythmol
Atomoxetine	Imipramine		Tramadol	Ranitidine
Benzotropine	Mirtazapine	Beta Blokerler	Diğerleri	Tamoxifen
Chlorpromazine	Nortriptyline	Carvedilol	Dolasetron(p)	Tolterodine
Citalopram	Paroxetine	Metoprolol	Doxorubicin	Tropisetron
Clomipramine	Perphenazine	Propranolol	Encainide	
Desipramine	Risperidone	Timolol	Ecstasy(MDMA)	
Doxepin	Sertraline		Metoclopramide	
Duloxetine	Thioridazine		Reglan	
	Venlafaxine		Mexiletine	
CYP2D6 ENZİMİNİ AKTİVE EDENLER*				
* : CYP2D6 yavaş metabolizör veya orta metabolizörlerin normal metabolizör gibi davranmasına neden olabilir				
Rifampin				
CYP2D6 ENZİMİNİ İNHİBE EDENLER**				
** : CYP2D6 hızlı metabolizör veya normal metabolizörlerin yavaş metabolizör gibi davranmasına neden olabilir.				
Amiodarone	Cinacalcet	Duloxetine	Imipramine	Quinidine/quinine
Amitriptyline	Citalopram	Fluvoxamine	Methadone	Ritonavir
Bupropion	Chlorpheniramine	Fluoxetine	Metoclopramide	Sertraline
Celecoxib	Clomipramine	Goldenseal	Moclobemide	Terbinafine
Chlorpheniramine	Desipramine	Halofantrine	Paroxetine	Thioridazine
Chlorpromazine	Diphenhydramine	Haloperidol	Pimozide	Ticlopidine
Cimetidine	Doxepin	Hydroxyzine	Propafenone	

Şekil 5.4. CYP2D6 enzimini aktive ve inhibe eden ilaçlar.

CYP2D6'nın allel tipleri arasında, aktivitesine göre 4 subgrup tanımlanmıştır:

- 1) Fonksiyonel ya da yaban tip alleller: CYP2D6 *1, *2, *35
- 2) Kısmen aktif alleller : CYP2D6 *9, *10, *17, *41
- 3) İnaktif allel: CYP2D6 *3, *4, *5, *6, *7, *8
- 4) Gen Duplikasyonu: CYP2D6 *1xN, *2xN, *35xN, *4, *10, *41

Predikte edilen CYP2D6 fenotipi, CYP2D6 allel genotiplerinden kaynaklanabilir ve 4 kategoriye sınıflanabilir. Bunlar:

1. Normal metabolize ediciler: İki aktif CYP2D6 alleli ya da bir aktif ve bir kısmi aktif alleli içerir (Bir tanesi kısmi aktif alleli olanlarda dikkatli olmak gerekebilir). Metabolik kapasitenin standardını temsil eder.
2. Orta düzeyde metabolize ediciler: Bir aktif ve bir inaktif alleli ya da bir inaktif veya bir parsiyel aktif CYP2D6 alleli vardır. Optimal tedavi yanıtı için ortalama ilaç dozundan daha eksik doz olabilir. Ön ilaçlar için alternatif bir tedavi ya da artırılmış doz üzerinde durulmalıdır.
3. Zayıf metabolize ediciler: Aktif CYP2D6 alleli yoktur bu grupta. Ön ilaçlarda, ilacın eliminasyonu azaldığı için, ilaç ilişkili yan etkiler artmıştır. Alternatif bir tedavi dikkate alınmalıdır.
4. Hızlı metabolize ediciler: Bir aktif allelin duplikasyona uğraması nedeniyle 3 ya da daha fazla aktif CYP2D6 allelini içerirler. Normale göre çok fazla metabolizasyon kapasitesine sahiptirler. Bu kişilerde artmış ilaç eliminasyon hızları nedeniyle tedavide başarısızlık riski artar ve aktif ilaç metabolitlerinin hızla artması sonucu ile ilaca bağlı yan etki sıklığı da artar. Rutin dozlarda yanıt alınamayabilir. Tedavi için yüksek dozlara gereksinim duyulabilir ancak yan etkiden korunmak için ise normal dozlardan daha düşük alınmalıdır (59).

CYP2D6'da meydana gelen değişimler tüm olgulardaki direnci açıklamaya yetmemektedir (10).

Bazı ilaçlar CYP2D6 enzim aktivitesinde azalmaya neden olabilir. Bu ilaçlar birlikte kullanıldığında CYP2D6 ile metabolizasyonları ve eliminasyonları azalır. Bu durum tamoksifen gibi ön ilaç olan ve etkinlik gösterebilmek için metabolize olması gereken ilaçların etkinliğinde azalmaya, diğerlerinin ise güvenlik marjının

daralmasına ve yan etki profilinin artmasına neden olur. Bu özelliğe sahip olduğu bilinen ilaçların listesi Şekil 5.4’de görülmektedir.

Tamoksifen tedavisi alan hastalarda sıcak basması yan etkisi sık görülmekte ve bu yan etkiyi azaltmak için CYP2D6’nın güçlü inhibitörü olan paroksetin ve fluoksetin gibi antidepresanlar kullanılır. Bazı çalışmalarda bu antidepresanların tamoksifen etkinliğinde azalmaya yol açtığı gösterilmiştir. Bu durum metabolize olmak için aynı enzime ihtiyaç duyan moleküllerin birbirlerinin metabolizmasında azalmaya yol açtığını gösteren güzel bir örnektir. Bu örnek aynı zamanda alternatif bir tamoksifen direnç mekanizmasıdır (5).

Tablo 5.2. CYP2D6 gen polimorfizmlerine göre birlikte kullanılan ilaçlara bağlı CYP2D6 enzim inhibisyonu.

Fenotip	Genotip	Birlikte Kullanılan İlaçlara Bağlı CYP2D6 İnhibisyonu
İyi Metabolize Ediciler (EM)	Wt/wt	Hiç inhibisyon görülmez
Orta Düzey Metabolize Ediciler (IM)	*4/wt	Hiç inhibisyon görülmez
	Wt/wt	Zayıf veya orta
Kötü Metabolize Ediciler (PM)	*4/*4	Hiç inhibisyon görülmez
	*4/wt	Zayıf veya orta
	Wt/wt	Güçlü

6. GEREÇ VE YÖNTEM

6.1. Olguların Seçilmesi

6.1.1. Çalışma grubunun seçilmesi

Çalışma grubu 36 hastadan oluşmaktadır. 2002-2012 yılları arasında bölümümüzde tanı almış ve fakültemizin onkoloji bölümünde tedavi görmekte olan hastalardan seçilmiştir. Hastaların tamamı ER pozitifdir. Çalışma grubuna dahil olan hastalar, hormonal tedavi almaktayken, patoloji tanısı veya ileri görüntüleme yöntemleri ile (PET, Mammografi, sintigrafi, HRCT) metastaz ve nüks geliştirmek suretiyle hastalıkta progresyon gösterenlerdir. Çalışma grubundaki 10 hasta DNA izolasyonu yapılamadığı için çalışma dışı bırakılmıştır.

6.1.2. Kontrol grubunun seçilmesi

Kontrol grubu 36 hastadan oluşmaktadır. 2002-2007 yılları arasında bölümümüzde tanı almış ve fakültemizin onkoloji bölümünde tedavi görmekte olan, ER pozitif meme kanseri hastaları arasından seçilmiştir. Bu gruba dahil olan hastalar, hormonal tedavi almakta iken, takipleri boyunca klinik, patolojik ve görüntüleme yöntemleri ile kanıtlanabilir progresyon göstermemiş hastalardan seçilmiştir. Ayrıca kontrol grubu hastalarında en az 5 yıl boyunca remisyonda takip şartı aranmıştır. Kontrol grubundaki 15 hasta DNA izolasyonu yapılamadığı için çalışma dışı bırakılmıştır.

6.2. INFINITI™ Sistemi

INFINITI sistemi Autogenomics Inc. (A.B.D.) tarafından özellikle Moleküler Patolojide uygulanan onkoloji parametreleri başta olmak üzere, moleküler tanıdaki tüm güncel gereksinimler göz önünde bulundurularak geliştirilmiş çoklu analiz yapabilen mikroçip teknolojisi esaslı otomatik bir cihazdır. INFINITI sistemi, niteliksel ve niceliksel birçok proteomik ve genomik uygulamada, hastalığa özgü BioFilmChip Microarray (BioFilmÇip Mikrodizi) kullanan tam otomatik, çoklu moleküler tanı platformudur.

INFINITI™ sistemi aşağıdaki parçalardan oluşmaktadır:

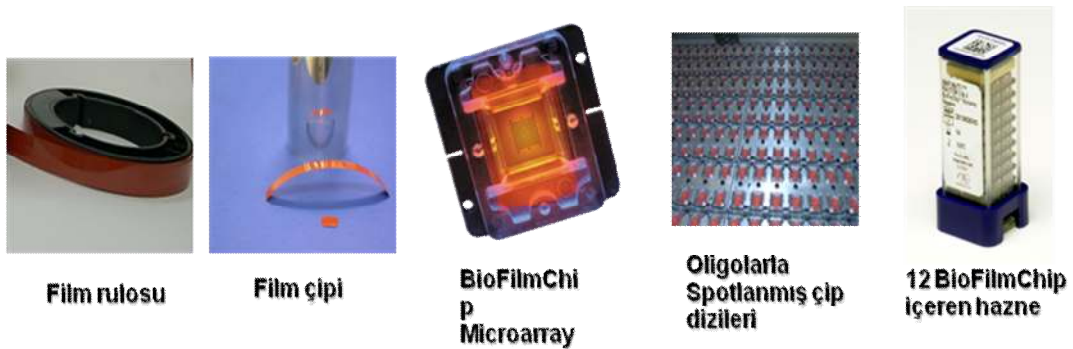
- INFINITI™ Analizör
- BioFilmChip™ Microarray (BioFilmÇip Mikrodizi)
- Intellipac™ Reagent Yönetim Modülü (Intellipac Reaktif Modülü)
- Uygulama arayüzü Qmatic™ İşletim Yazılımı

6.2.1. INFINITI™ analizör

INFINITI analizör, DNA analizlerindeki örnek işleme, reaktif yönetimi, hibridizasyon ve optik okuma gibi tüm test işlemlerini, tamamen kendi kendine yeten sistem içerisinde tamamlar.

6.2.2. BioFilmChip™ Microarray (BioFilmÇip mikrodizi)

BioFilmChip™ Microarray üç boyutlu matris sayesinde biyolojik materyallerle yüksek uyum sağlayan polyester film üzerinde yaklaşık 8-10 µm kalınlığındaki hidrojel tabakaların çoklu katmanlarından oluşan mikroarray tabanlı bir filmidir. İkinci katman test hassasiyetinin sağlanması için gerekli olan içerideki floresan sinyali ortadan kaldıran özel bir niteliğe sahiptir. En üstteki katman, oligonükleotid, antikor ya da antijen gibi streptavidin-biotin etkileşimini kullanarak non-kovalent bağlı biyolojik molekülleri tespit etmek için tasarlanmıştır. İşaretlenmiş BioFilmChip Microarray'ler kolay kullanım için özel haznelerde paketlenmiştir.



Şekil 6.1. BioFilmChip™ Microarrayin dizaynının ayrıntılı görüntüsü.

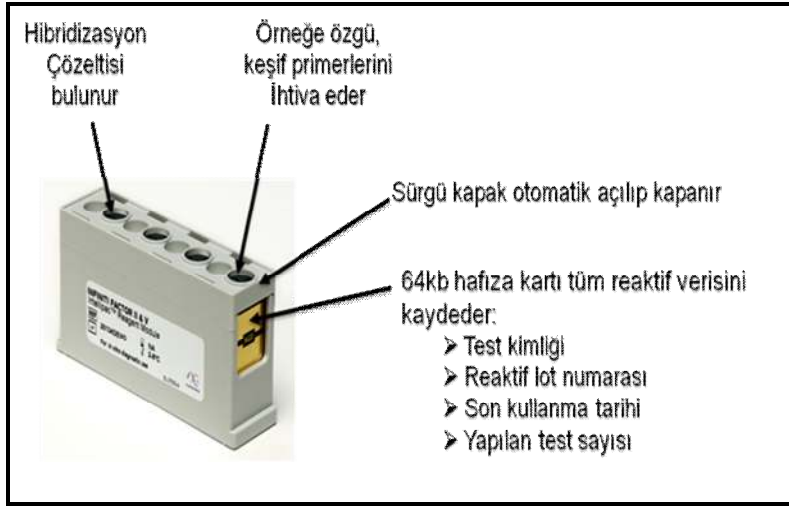
Aşağıdaki şekilde de görüldüğü gibi, oligoların yerleşiminden kaynaklanan hatayı engellemek için rastgele spotlama yapılmaktadır. Aynı özellikteki spottan birden fazla bulunması ile analizin tekrarlı teyidi sağlanabilmektedir (Şekil 6.2).

1 Reg	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15 Reg
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
31	32	33 16	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43 16	44	45
46	47	48 89	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58 10	59	60
61	62 31	63 87	64 13	65 70	66	67	68	69	70	71 72	72 14	73 97	74 32	75
76	77 29	78 86	79 12	80 65	81 14	82 15	83 18	84 19	85 20	86 81	87 15	88 99	89 33	90
91	92 28	93 85	94 11	95 63	96 13	97 2	98 3	99 4	100 21	101 85	102 18	103 1	104 54	105
106	107 25	108 81	109 8	110 61	111 12	112 1	113 16	114 5	115 22	116 86	117 19	118 2	119 61	120
121	122 24	123 72	124 7	125 54	126 11	127 8	128 7	129 6	130 24	131 87	132 20	133 3	134 63	135
136	137 22	138 70	139 6	140 33	141 32	142 31	143 29	144 28	145 25	146 89	147 21	148 4	149 65	150
151	152	153 65	154 5	155 4	156 3	157 2	158 1	159 10	160 99	161 97	162 22	163 5	164 70	165
166	167	168 63	169 61	170 54	171 33	172 32	173 31	174 29	175 28	176 25	177 24	178 6	179	180
181	182	183 21	184 20	185 19	186 18	187 15	188 14	189 13	190 12	191 11	192 8	193 7	194	195
196	197	198 16	199 10	200 99	201 97	202 89	203 87	204 86	205 85	206 81	207 72	208 16	209	210
211	212	213	214	215	216	217	218	219	220	221	222	223	224	225
226	227	228	229	230	231	232	233 Reg	234 Bin	235 Bin	236 Bin	237 Bin	238 Bin	239 Bin	240 Ref

Şekil 6.2. Analizde kullanılan spotların dizilimi.

6.2.3. Intellipac™ Reagent yönetim modülü (Intellipac reaktif modülü)

Testleri gerçekleştirmek için gerekli tüm ilgili reaktifler, özgün bir tasarıma sahip 4 rezervuarlı reaktif yönetim modülünde yer almaktadır. Intellipac™ reaktif modülüne, kullanıcı için işlem sürecini basitleştiren ve reaktif son kullanma tarihi, kalan reaktif miktarı ve yapılabilecek test sayısı gibi verileri elektronik olarak kaydeden 64kb'lık bir hafıza kartı entegre edilmiştir.



Şekil 6.3. Intellipac™ Reagent yönetim modülü (Intellipac reaktif modülü).

6.2.4. Qmatic™ işletim yazılımı

Qmatic İşletim Yazılımı çok yönlü bir işletim sistemine sahiptir. INFINITI™ analizör tarafından yapılan, yazılım, örnek ve reaktiflerin boşaltılması, aspirasyonu ile alele-özgü primer uzatma (ASPE) reaksiyonu, hibridizasyon, floresan sinyal ölçümlerini kontrol eder. Veri analizi, veri işlenmesi ve sonuçların raporlanması gibi tüm elektromekanik ve robotik işlemleri yönetir.

6.3. Parafine Gömülü Dokudan DNA İzolasyonu

1. Retrospektif olarak seçilen vakalara ait hemotoksilen-eosin ile boyalı preparatlar yeniden incelenerek, tümör içeren lam seçilerek preparat üzerinde tümör alanı çizilir. %80 ve daha fazla tümör alanına sahip bloklardan direk olarak 10 mikron kalınlığında kesit alınarak steril 2 ml.'lik santrifüj tüpüne konulur. Tümör alanının küçük olması durumunda 5 mikron kalınlığında kesitler lam üzerine alınarak tümör alanı lam üzerinden kazınıp 2 ml.'lik santrifüj tüpü içine alınır.
2. DNA izolasyonu için parafine gömülü dokudan DNA izolasyon kiti (Qiagen) kullanılmıştır.

3. Dokunun deparafinizasyonu: Santrifüj tüp içine alınan dokulara 1 ml Ksilol eklenir, vortekslenir. 2 dakika 14000 rpm’de santrifüj yapılır. Süpernatant kısım alınır.
4. Aynı işlem bir kez daha tekrarlanır. Dokudaki parafin kalıntısına bağlı olarak işlem bir kez daha tekrarlanabilir.
5. Ksilol aşamasından sonra 1 ml absolü alkol eklenir, vortekslenir ve 2 dakika 14000 rpm de santrifüj edilir. Süre sonunda süpernatant kısım alınır.
6. Alkolün uçması için santrifüj tüplerinin kapakları açık bırakılarak 10 dakika oda ısısında bekletilir.
7. Doku lizis aşaması: Santrifüj tüpündeki doku üzerine 180 µl ATL Buffer ve 20 µl Proteinaz K eklenir. 56°C’de gece boyu (16-18 saat) inkübasyona bırakılır.
8. Ertesi gün lizis olan dokunun bulunduğu santrifüj tüpleri 95°C’ye ayarlı ısı bloğunda 15 dakika bekletilir.
9. Süre sonunda tüpler oda ısısında soğumaya bırakılır.
10. Lizis olan dokunun üzerine 200 µl AL buffer ve 200 µl absolü alkol eklenir, vortekslenir ve 14000 rpm kısa 1 dakika santrifüj edilir.
11. Santrifüj sonunda üst kısım dikkatlice kolona aktarılır. 8000 rpm’de 1 dakika santrifüj edilir.
12. Kolon temiz bir toplayıcı tüp içine alınır. Üzerine 500 µl yıkama solüsyonu I’dan eklenir. 8000 rpm’de 1 dakika santrifüj edilir.
13. Kolon temiz bir toplayıcı tüp içine alınır. Üzerine 500 µl yıkama solüsyonu II’dan eklenir. 8000 rpm’de 1 dakika santrifüj edilir.
14. Kolon temiz bir toplayıcı tüp içine alınır. Kalan solüsyonun uzaklaştırılması için 14000 rpm’de 3 dakika santrifüj edilir.
15. Kolon temiz bir 2 ml.’lik santrifüj tüpüne alınır. Üzerine 50 µl elüsyon solüsyonundan eklenir. Oda ısısında 5 dakika bekletilir.
16. Süre sonunda 8000 rpm’de 2 dakika santrifüj edilerek kolondaki DNA’nın elüsyonu sağlanır.
17. DNA; -20°C’de saklanır.

6.4. Cihazın Çalıştırılması

Bir testin çalışmasına başlayabilmek için, kullanıcı aşağıdaki basit işlemleri yerine getirir:

1. Analizörün kapağını açmak için ekrandaki kapak düğmesine basılır.
2. Intellipac™ modülleri, pipet uçları, BioFilmChip™ hazneleri ve amplifiye edilmiş örnekler yüklenir.
3. Her spesifik örnek için test gereksinimlerini yer aldığı bir iş listesi hazırlanır ve “yürüt”e basılır (Analizörün kapağı kapanır ve daha fazla manuel müdahale gerekmeksizin sonuçları elde edilir).

6.5. CYP2D6 Gen Mutasyonlarının Belirlenmesi

CYP2D6 gen polimorfizmlerini belirlemek amacıyla, Autogenomics Infinity™ CYP2D6 I kiti kullanılmıştır.

A. Kit içeriği

1. CYP450 2D6 genine spesifik BioFilmÇip® Mikroarray Magazin
2. CYP450 2D6 genine spesifik Intellipac® Reagent Modül
 1. 1 ml ASPE Master Miks:
İçeriği:
 - dNTPs,
 - İşaretli-dCTP,
 - Allel spesifik primer,
 - Reaksiyon buffer
 2. 6 ml Hibridizasyon Buffer
İçeriği:
 - SSC,
 - Hibridizasyon pozitif kontrol,
 - Koruyucu sodyum azid %0.08

3.CYP450 2D6 Amplifikasyon Miks

- PCR Primer miks
- dNTPs
- $MgCl_2$

4. PCR Reaksiyon Buffer

B. Gerekli diğer malzemeler

1. Yıkama solüsyonu (Katalog no: 12-001)
2. Platinum Taq DNA Polimeraz (Invitrogen, Katalog No:10966-018)
3. Titanium Taq DNA Polimeraz (Clontech Katalog No: 639209)
4. Shrimp Alkanin Posfataz (SAP, USB, Katolog No: 70092Z)
5. Exonükleaz I (EXO I, USB, Katalog No: 70073X)
6. Distile su (DNase and RNase içermeyen)

Tablo 6.1. Autogenomics Infinity CYP2D6I ile belirlenebilen gen polimorfizmleri.

Genotip	Mutasyon
*2	(2850C>T)
*3	(2549delA)
*4	(1846G>A)
*5	(delesyon)
*6	(1707delT)
*7	(2935A>C)
*8	(1785G>T)
*9	(2615_2617delAAG)
*10	(100C>T)
*12	(124G>A)
*14	(1785G>A)
*17	(1023C>A)
*29	(1659G>A)
*41	(2988G>A)
*XN	Gen duplikasyonu *1, *2, *4, *10, *41

B. CYP2D6 geni için polimeraz zincir reaksiyonunun (PCR) kurulması

PCR reaksiyonu için 50 ng/ μ l DNA olması gerekmektedir. İki farklı amplifikasyon miksi kullanılarak PCR reaksiyonu kurulur.

1. A reaksiyonu için PCR master miksinin hazırlanması:

Amplifikasyon mix A 16.85 μ l

Platinum Taq DNA polimeraz 0.15 μ l

DNA 3 μ l

2. B reaksiyonu için PCR master miksinin hazırlanması:

Amplifikasyon mix B 16.85 μ l

Platinum Taq DNA polimeraz 0.15 μ l

DNA 3 μ l

1. Termal cykler'da, aşağıdaki program kullanılarak PCR reaksiyonu gerçekleştirilir.

Step No	Sıcaklık (°C)	Süre (Saniye)	Siklus sayısı
1	94	120	1
2	94 66-60 (-0.3/siklus) 68	15 30 240	20x
3	94 58 68	15 30 240	15x
4	94 4	60 Bekleme	1

2. Reaksiyon tamamlandıktan sonra, PCR ürünlerinin temizlenmesi için SAP (Shrimp alkaline fosfatase) ve Ekzonükleaz I muamelesi yapılır. Bunun için aşağıdaki karışım hazırlanır.

SAP (Shrimp alkaline fosfatase)	1, 5 µl
Ekzonükleaz I	0.375 µl
Titanyum Taq DNA Polimeraz	0.125 µl

3. Hazırlanan karışımdan PCR tüplerine 2 µl dağıtılır.
4. Örnekler cihaz içerisine konur. SAP-Exo reaksiyonu cihaz içerisinde gerçekleşir.
5. Cihaza örneklerin yüklenmesi: Cihaza belirlenen sıralarda gerekli malzemeler ve reaktifler yerlerine yerleştirilir.
 - a) Yüklenen örnek sayısına yetecek kadar cihaza ait pipet uçları yerlerine yerleştirilir.
 - b) Biofilm çiplerin bulunduğu magazin, yıkama solüsyonu, PCR ürünleri, intellipac reagent modül cihazdaki yerlerine yerleştirilir.
 - c) Örnek numaraları yazılarak cihazın çalışması başlatılır
6. Çalışma tamamlandıktan sonra rapor halinde sonuçlar alınır.

6.6. Olguların Değerlendirilmesi

Tüm olgulara Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Bölümünde tanı konmuştur. Tanı için tümörlerin sınıflandırılması ve evrelendirilmesinde Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2003 TNM sınıflaması kullanılmıştır (30). Elston ve Ellis tarafından modifiye edilen Bloom ve Richardson Sistemi kullanılarak tümörlere histolojik derece verilmiştir. Olgularda immünohistokimyasal Her2-neu değerlendirmesi American Society of Clinical Oncology and the College of American Pathologists (ASCO/CAP) kılavuzuna göre yapılmıştır (34).

6.7. İstatistiksel Değerlendirme

Veriler SPSS (version 18.0)(SPSS Inc., Chicago, USA) kullanılarak analiz edildi. Örnekleme tanımlamak için frekans dağılımı ve yüzdeler kullanıldı. İki yönetime ait değerler çapraz tabloda sıklık ve yüzdeleri ile gösterildi. Kontrol grubu ve çalışma grubu arasındaki ilişki durumu ki-kare testi ile analiz edildi. CYP2D6 gen polimorfizmi gösteren ve göstermeyen olgular arasındaki ilişki için Man-Whitney U testi ve Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Analizlerde farklılıkların belirlenmesi için %95 anlamlılık düzeyi ($\alpha=0.05$ hata payı) kullanılmıştır ($p<\alpha$). $p<0.05$ olduğu durumlar anlamlı kabul edilmiştir.

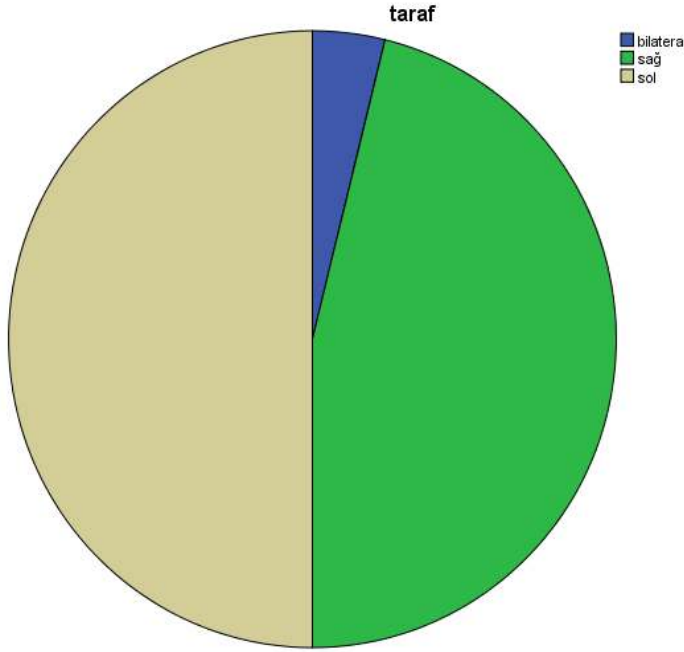
7. BULGULAR

Çalışmaya alınan hastaların tamamı ER pozitif meme kanseri hastalarıdır. Hormonoterapiye direnç gösteren 36 çalışma grubu hastası, hormonoterapiye iyi yanıt veren 36 kontrol grubu hastası olmak üzere toplam 72 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışma grubundan 10 hasta ve kontrol grubundan 15 hasta olmak üzere toplam 25 hastanın parafin bloklarından DNA izolasyonu yapılamadığı için bu hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. Sonuç olarak çalışma grubunda 26 hasta, kontrol grubunda 21 hasta olmak üzere toplam 47 hasta çalışma kapsamına alınıp CYP2D6 gen polimorfizmleri açısından analiz edilmiştir.

Hastaların ortalama takip süresi 56.32 ± 20.22 aydır (medyan takip süresi 60 ay).

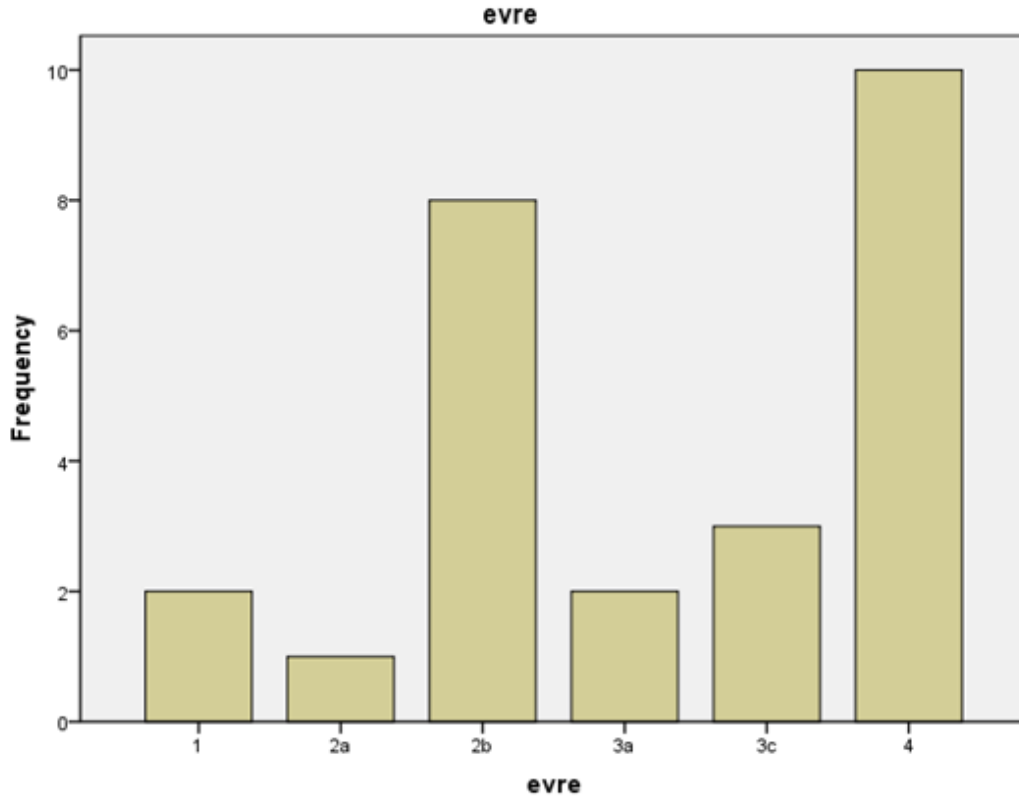
Çalışma grubundaki 36 hastanın 10 tanesinde teknik nedenlerle DNA izolasyonu yapılamadığı için bu hastalar çalışma kapsamından çıkarılmıştır. Çalışmaya dahil edilen 26 çalışma grubu hastasının yaşları 29-75 arasında değişmekte olup medyan yaş 49'dur. Premenapozal hastalar grubun %34.6'sını (n=9), postmenapozal hastalar %65.4'ünü (n=17) oluşturmaktaydı. Lokalizasyon olarak %46.2 (n=12) sol meme, %50 (n=13) sağ meme, %3.8 (n=1) bilateral idi.

Tablo 7.1. Çalışma grubundaki olguların tümör lokalizasyonuna göre dağılımı.



Hastaların %19.2'sine (n= 5) modifiye radikal mastektomi, %7.7'sine (n= 2) meme koruyucu cerrahi, %30.8'ine (n= 8) kor biyopsi uygulanmıştır. %34.6'sına (n= 9) konsültasyon vakasıdır. 2 olguya lenf düğümü biyopsisinden tanı konmuştur. Hastaların %77'sine (n=20) invaziv duktal karsinom, %7.7'sine (n=2) invaziv lobuler karsinom, %15.3'üne (n=4) diğer (invaziv apokrin karsinom, invaziv müsinöz karsinom) tanıları konmuştur. Grade 1 olgular %7.7 (n=2), grade 2 olgular %69.2 (n=18), grade 3 olgular %23.1 (n=6) olarak belirlendi. Çalışma grubunda evre I olgular %7.7 (n=2), evre II olgular %34.6 (n=9), evre 3 olgular %19.2 (n=5), evre IV olgular %38.5 (n=10) olarak dağılım göstermiştir (Tablo 7.2).

Tablo 7.2. Çalışma grubundaki hastaların evrelere göre dağılımı.



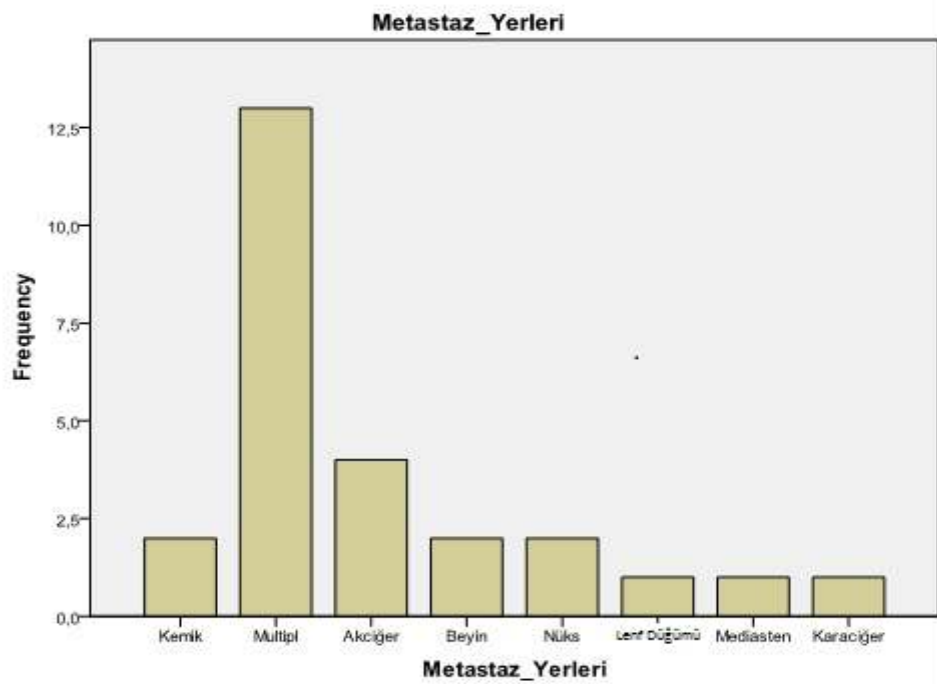
HER2 (+)'liği %50 (n=13), HER2 (-)'liği %38.5 (n=10) idi. PR (+)'liği %69.2 (n=18), PR (-)'liği %30.8 (n=8) idi. Hastaların tamoksifen kullanımı, %50 (n=13) idi. LHRH analogunu hiçbir hasta kullanmamıştır. Hastaların %12.5'i aromataz inhibitörü olarak anastrozol, %15.6'sı letrozol kullanmıştır. %92.3'ü (n=24) hormonoterapi öncesi kemoterapi almıştır. %7.7'si (n=2) hormonoterapi öncesi kemoterapi almamıştır. Hastaların %15.4'ünün (n=4) ek ilaç kullanım öyküsü mevcuttu. Bunlardan %7.7 (n=2) güçlü CYP2D6 inhibitörü olduğu bilinen fluoksetin ve levositeram kullanmıştır. Hastaların %7.7 (n=2) beta- blokör kullanmıştır. Diğer hastaların bilinen bir ilaç öyküsü yoktur. Hastaların BMI ortalama değeri 166.76 ± 37.11 'dir.

Çalışma grubumuzu oluşturan, hormonoterapiye direnç gösteren 26 hastanın %88.5'inde (n=23) CYP2D6 enzimi için gen polimorfizmi bulunmamıştır. Hastaların %11,5'inde CYP2D6 gen polimorfizmi bulunmuştur. Gen

polimorfizmi bulunan hastaların %3.8'inde (n=1) CYP2D6 *2/XN polimorfizmi, %7.7'sinde (n=2) CYP2D6* 4/*10 polimorfizmi saptanmıştır.

Metastaz bölgeleri %7.7 (n=2) hastada beyin, %3.8 (n=1) hastada karaciğer, %7.7 (n=2) hastada nüks, %7.7 (n=2) hastada kemik, %15.4 (n=4) hastada akciğer, %3.8 (n=1) hastada mediasten metastazı, %50 (n=13) hastada çoklu metastaz gelişmiştir.

Tablo 7.3. Çalışma grubundaki hastaların metastaz bölgelerine göre dağılımı.



Tümör evresi ile metastaza kadar geçen süre arasındaki ilişki Mann-Whitney-U testi ile değerlendirilmiştir. Evre 2B üzeri olgular, evre 2B ve altı olgulara göre daha kısa nüks ve/veya metastaz geliştirme sürelerine sahiptir ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (p=0,029).

Tablo 7.4. Çalışma grubundaki olgularda evre ve metastaz ve/veya nüks gelişimine kadar geçen süre arasındaki ilişki.

	Evre	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Süre	IIB ve altı	12	11,80	59,00
	IIB üzeri	14	6,10	61,00
	Total	26		

Çalışma grubu ve kontrol grubu birlikte değerlendirildiğinde evre IIB üzeri olgular %53.8, evre IIB ve altı olgular ise %46.2 oranında metastaz geliştirmiştir. Çalışma grubu ve kontrol grubu içerisinde tümörün tanı aldığı andaki evresi ile metastaz yapması arasında yapılan karşılaştırmada ki-kare testi kullanılmış ve bu değerlendirmede p değeri 0,076 bulunmuştur. Sonuçların istatistiksel olarak anlamsız çıkmış olmasına rağmen, değerlendirilen toplam 47 hastadan metastaz görülen 26 tanesinin %57.7'sinde (n=15) tanı anındaki tümör evresi IIB üzeri, metastaz görülmeyen 21 hastanın %71,4'ünün (n= 15) tanı anındaki tümör evresi IIB veya altı olarak görülmüştür.

Tablo 7.5. Tümör evresi ve metastaz dağılımı arasındaki ilişki.

			Metastaz		Total
			Metastaz Yok	Metastaz Var	
Evre	IIB ve altı	Sayı	15	11	26
		% evre	55,6%	44,4%	100,0%
		% metastaz	71,4%	42.3%	44.7%
		% Total	31,9%	23.4%	44.7%
	IIB üzeri	Sayı	6	15	21
		% evre	30,0%	70,0%	100,0%
		% metastaz	28,6%	57.7%	55.3%
		% of Total	12,8%	31.9%	55.3%
Total		Sayı	21	26	47
		% evre	44,7%	55,3%	100,0%
		% metastaz	100,0%	100,0%	100,0%
		% Total	44,7%	55,3%	100,0%

Tümör boyutu ile prognoz arasındaki ilişki Man Whitney-U testi ile değerlendirilmiştir aradaki fark anlamlı bulunmamıştır.

Tedavi olarak tamoksifen, anastrozol ve letrozol alan gruplar arasında nüks ve/veya metastaz geliştirme süresi arasındaki ilişki Kruskal – Wallis testi ile değerlendirilmiş ve anlamlı fark bulunmamıştır.

Tablo 7.6. Tedavi tipi ile metastaz ve/veya nüks gelişimine kadar geçen süre arasındaki ilişki.

Tedavi türü	Hasta sayısı	Oran
Anastrozol	4	10,13
Tamoksifen	16	13,75
Letrozol	5	12,90
Total	25	

Metastaz görülme sıklığı invaziv duktal karsinoma sahip meme kanseri hastalarında daha fazla olmakla birlikte, aradaki fark ki kare testi ile değerlendirilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Tablo 7.7. Tümör tipi ve metastaz gelişimi arasındaki ilişki.

			Tümör Tipi		Total
			İDK	Diğer	
Metastaz	Var	sayı	18	8	26
		% metastaz	69,2%	30,8%	100,0%
	Yok	sayı	15	3	18
		% metastaz	83,3%	16,7%	100,0%
Total		sayı	33	11	44
		% metastaz	75,0%	25,0%	100,0%

Meme karsinomu grade'i ile CYP2D6 gen polimorfizmi gösteren ve göstermeyen olgular arasında anlamlı fark yoktur.

Metastaz ve/veya nüks gelişimine kadar geçen süre ve CYP2D6 gen polimorfizmi arasındaki ilişki Man- Whitney- U testi ile değerlendirilmiştir. CYP2D6 polimorfizmi gösteren olgularda ve CYP2D6 gen polimorfizmi göstermeyen olgulara göre daha kısadır ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.02).

Tablo 7.8. Gen polimorfizmi ve metastaz ve/veya nüks gelişimine kadar geçen süre arasındaki ilişki.

	Sonuç	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Süre	Polimorfizm yok	23	12,24	281,50
	Polimorfizm var	3	23,17	69,50
	Total	26		

Metastaz ve/veya nüks gelişimine kadar geçen süre ve CYP2D6 enzim inhibitörü ilaç kullanan ve kullanmayan grup arasındaki ilişki Man- Whitney- U testi ile değerlendirilmiştir. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (p= 0.096).

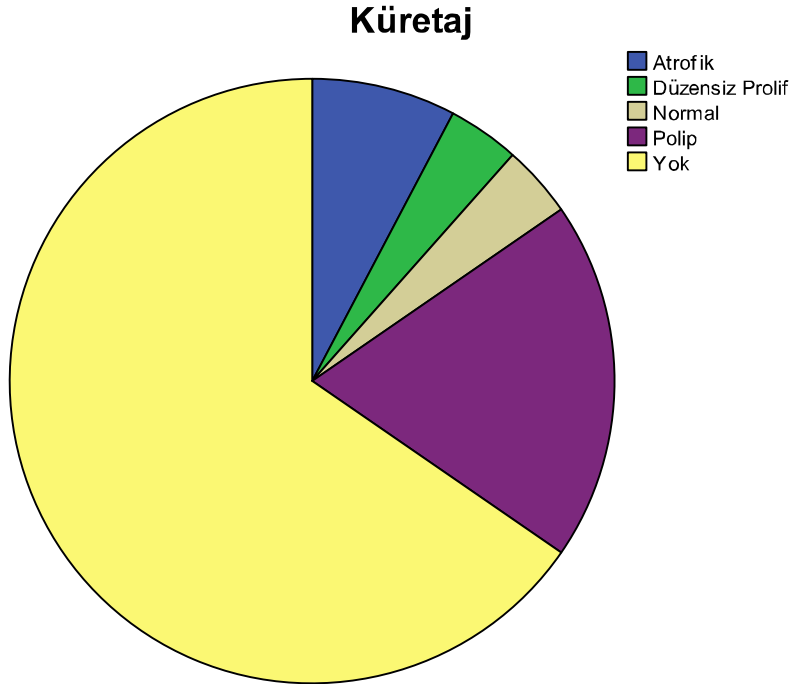
Gen polimorfizmi olarak CYP2D6 *4/*10 saptanan iki hasta premenapozal, CYP2D6 *2/*XN saptanan 1 hasta ise postmenapozal dönemde olup, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Tablo 7.9. Polimorfizm gösteren olguların bazı özellikleri.

	Polimorfizm	Menapoz	Tümör Tipi	Evre	Metastaza Kadar Geçen Süre	Ek İlaç Kullanımı
1.	*4/*10	Premenapozal	İLK	IIB	60	Yok
2.	*4/*10	Premenapozal	İDK	IIB	48	Metoprolol
3.	*2/*XN	Postmenapozal	İLK	I	24	Yok

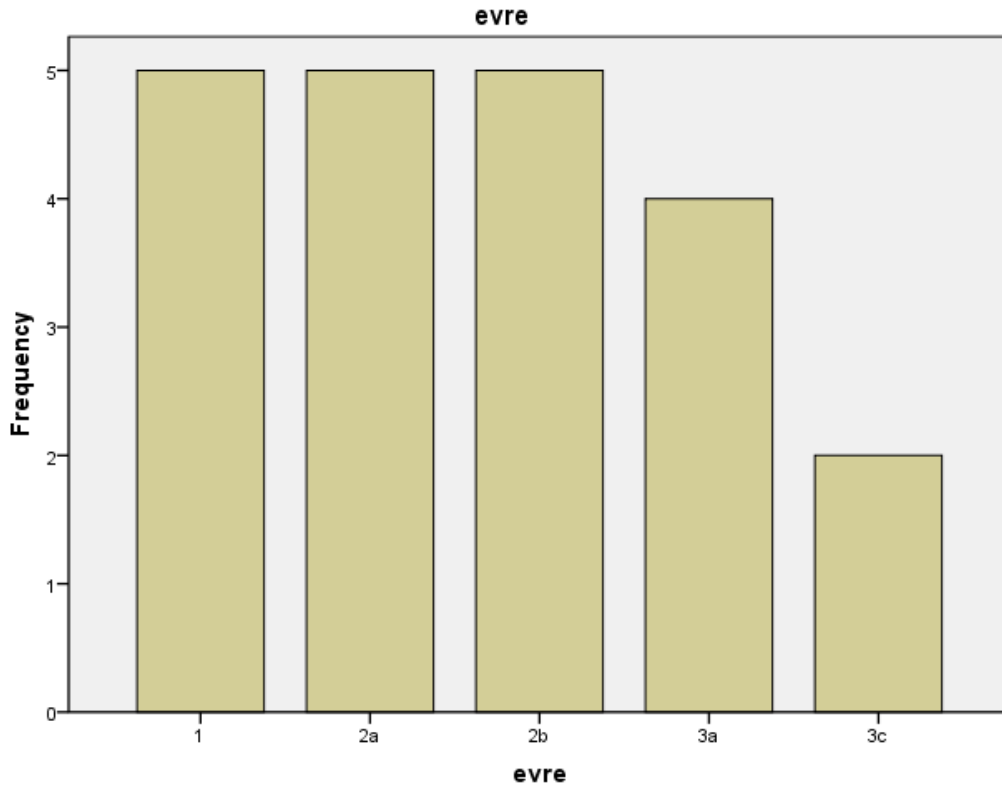
Hastaların %34.2'sinde USG ile endometrial kalınlık artışı saptanmış olup, bu hastaların en sık patolojik tanısı endometrial poliptir.

Tablo 7.10. Çalışma grubundaki olguların endometrium küretaj tanılarının dağılımı.



Kontrol grubundaki 36 hastanın 15 tanesinde teknik nedenlerle DNA izolasyonu yapılamadığı için bu hastalar çalışma kapsamından çıkarılmıştır. Kontrol grubuna dahil edilen 21 hastanın yaşları 36 ile 74 arasında olup, medyan yaş 57'dir. Premenapozal hastalar %28.6 (n= 6), postmenapozal hastalar %71.4'ünü (n=15) oluşturmaktaydı. Tümör lokalizasyon olarak %57.1 (n= 12) sol meme, %42.9 (n=9) sağ meme idi. Hastaların 42.9'una (n= 9) modifiye radikal mastektomi, %14.2'sine (n=3) meme koruyucu cerrahi uygulanmıştır. %42.9'u (n=9) konsültasyon vakasıdır. Hastaların patoloji tanıların %71.4'ü (n=15) invaziv duktal karsinom, %28.6'sı (n= 6) diğerleri idi. Grade 2 olgular %57.1 (n=12), grade 3 olgular %42.9 (n=9) olarak belirlendi.. Evre I olgular %23.8 (n=5), evre II olgular %47.6 (n=10), evre III olgular %28.6 (n=6) olarak belirlendi.

Tablo 7.11. Kontrol grubu hastalarının evrelere göre dağılımı.



HER2 (+)'liği 23.8 (n= 5), HER2 (-)'liği %76.2 (n=16) idi. PR (+)'liği 76.2 (n= 16), PR (-)'liği %23.8 (n=5) idi. Hastaların tamoksifen kullanım oranı %38.1

(n=8)'dir. LHRH analogunu %4.8 (n= 1) hasta kullanmış, %95.2 (n=20) hasta kullanmamıştır. Hastaların %52.4 (n=11) aromataz inhibitörü olarak anastrozol, %4.8'i (n=1) letrozol kullanmıştır. %42.9'u (n=9) hormonoterapi öncesi kemoterapi almıştır. Hastaların %4.8'i (n=1) güçlü CYP2D6 inhibitörü olan fluoksetin ve paroksetin, kullanmıştır. Hastaların %4.8'i (n=1) beta-blokör kullanmıştır. Diğer hastaların bilinen bir ilaç öyküsü yoktur. Kontrol grubunu oluşturan ve hormonoterapiye iyi yanıt veren 21 hastanın hiçbirinde CYP2D6 gen polimorfizmi saptanmamıştır.

Kontrol grubu ve çalışma grubu arasında olguların tümör evresi, tümör grade'i ve tümör tipine göre dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur.

Kontrol grubu ve çalışma grubu arasında endometrial kalınlık artışı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur.

Kontrol grubu ve çalışma grubu arasında östrojen pozitifliğinin yaygınlığı açısından anlamlı fark yoktur.

Metastaz gelişimi ve PR pozitifliği arasındaki ilişki ki-kare testi ile ölçülmüştür. Progesteron reseptör pozitifliği açısından iki grup arasında anlamlı fark yoktur (p=0,596).

Metastaz gelişimi ve Cerb-B2 pozitifliği arasındaki ilişki ki-kare testi ile ölçülmüştür. Cerb-B2 pozitif olan hasta grubunda metastaz gelişimi daha sıktır ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,01).

Tablo 7.12. Cerb-B2 ekspresyonu ve metastaz gelişimi arasındaki ilişki.

			Cerb-B2		Total
			yok	var	
Metastaz	Var	Sayı	10	16	26
		% metastaz	38,5%	61,5%	100,0%
	Yok	Sayı	16	5	21
		% metastaz	76,2%	23,8%	100,0%
Total		Sayı	26	21	47
		% metastaz	55,3%	44,7%	100,0%

Kontrol grubu ve çalışma grubu arasında ki-67 pozitifliğinin yaygınlığı açısından anlamlı fark yoktur.

Hormonoterapi öncesi kemoterapi alan hastaların oranı çalışma grubunda %92.3 kontrol grubunda %42.9 olup, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.

8. TARTIŞMA

Kanser hastalarında tedavide kullanılan ilaçlara verilen farmakolojik cevapta bireysel farklılıklara neden olan genetik varyasyonları belirlemek ve bu genetik bilgiyi kullanarak ilaç güvenliği ve etkinliği açısından, hastaların bireysel profilini önceden tahmin edilebilir kılmayı hedefleyen çalışmalar günümüzde sık yapılmaktadır. Bu bağlamda tasarlanan çalışmalar genotip – fenotip arasındaki ilişkiyi kanıtlamayı ve bireysel tedavi düzenlemesi için bilimsel kanıtlar elde etmeyi amaçlar. Bizim çalışmamızdaki amacımız hormonoterapiye direnç gösteren meme kanseri olgularında olası direnç mekanizmalarından biri olarak kabul edilen sitokrom P450 enzim ailesinin bir üyesi olan CYP2D6 enzimidaki genetik farklılıkları ve bu farklılıkların klinik seyir üzerine etkisini ortaya koymaktır.

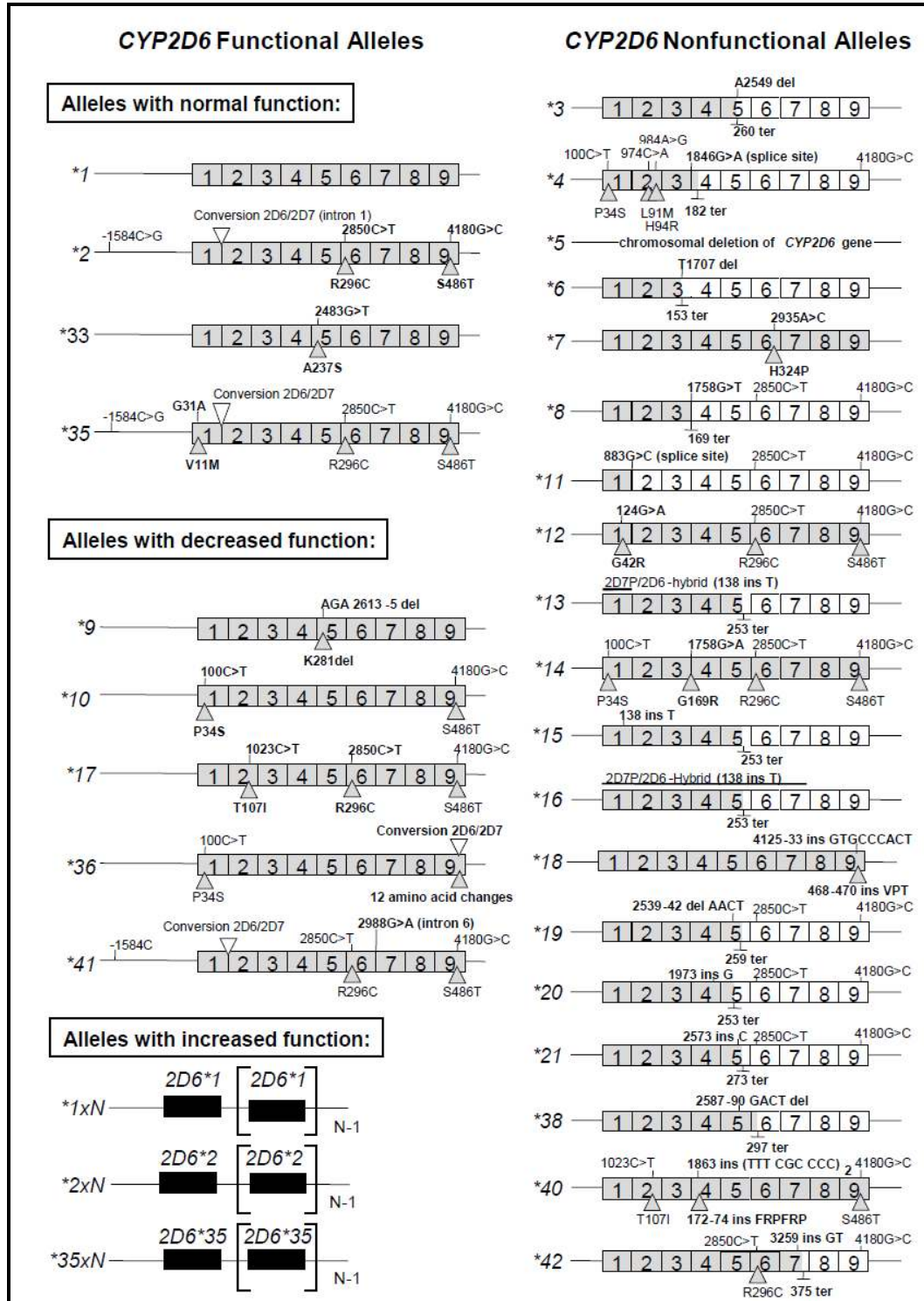
CYP2D6 günümüzde en iyi karakterize edilmiş polimorfik sitokrom P450 enzimidir. Karaciğerdeki toplam sitokrom P450 enzimlerinin sadece %2'sini oluşturmalarına rağmen, sık kullanılan ilaçların yaklaşık %20-25'inin metabolizmasından sorumludur.

CYP2D6'nın bazıları enzim aktivitesinde değişikliğe yol açtığı bilinen 100'den fazla alleli mevcuttur. Yaygın kabul gören sınıflandırma sistemine göre CYP2D6 enzim bölgesinde, iki wild tip (wild type: wt) allel için homozigosite gösteren bireyler (örneğin CYP2D6 *1/*1) iyi metabolize edicilerdir (extensive metabolizers: EM). Beyaz ırkta popülasyonun %90'ını oluştururlar.

Azalmış aktivite gösteren veya hiç aktivite göstermeyen bir varyant allel (varyant allel: vt) taşıyanlar orta düzey metabolize ediciler (intermediate metabolizers: IM) olarak, azalmış aktivite gösteren veya hiç aktivite göstermeyen iki varyant allel için homozigot genotipe sahip bireyler ise zayıf metabolize ediciler (poor metabolizers: PM) olarak sınıflandırılırlar ve yine beyaz ırkta normal popülasyonun %9-10'unu oluştururlar.

Çok küçük bir popülasyon çok sayıda CYP2D6 wild tip allel içerir ve bunlar ultra hızlı metabolize ediciler (ultrarapid metabolizers= UM) olarak adlandırılırlar (60).

CYP2D6 enzim aktivasyonunda bireysel genetik farklılıklar, meme kanseri hastalarında tamoksifen tedavisine yanıtta ve hastalıksız sağ kalımda etkili bulunursa ve bu etkinlik geniş çalışma gruplarında kanıtlanıp rutin kullanıma girerse, CYP2D6 için kötü metabolize edici grupta olan meme kanseri hastaları tedavi planlanmadan önce CYP2D6 için test edilebilir ve hem kendilerine faydalı olmayacak bir tedaviden hem de zaman kaybından kurtarılabilirler. Bu hasta gruplarında tamoksifen yerine aromataz inhibitörleri, hedefe yönelik tedaviler (Her2neu; transtuzumab vb...) kemoterapi ve radyoterapi gibi seçenekler muhtemelen daha etkili olacaktır.



Şekil 8.1. CYP2D6 enzimi genotip – fenotip ilişkisi (61).

Klinik seyrin, sıklıkla kompleks ve üst üste binen, genetik veya genetik olmayan faktörlerin etkisiyle değişim gösterdiği kanıtlanmıştır. Bu durum bireysel ilaç etkinliği ve güvenilirliğini belirlemeye yönelik genetik çalışmalar için kısıtlayıcı bir faktördür. Sonuç olarak bireyler arasında çeşitlilik gösteren genetik bir bilginin klinik seyri doğrudan etkilediğini ve tek başına bu bilginin bireysel tedavi seçimlerini belirleyebileceğini söylemek mümkün görünmemektedir.

Günümüze kadar yapılmış olan CYP2D6 polimorfizmi ve bunun meme kanseri hastalarında hormonoterapi etkinliği ve klinik seyir üzerine etkisi alanında yapılmış olan çalışmalar tutarsızlık göstermektedir. Bu tutarsızlığa çok sayıda faktör neden olmaktadır. Çalışmalarda farklı CYP2D6 polimorfizmlerinin analiz edilmiş olması, hastalara uygulanan adjuvan, neoadjuvan ve palyatif tedavi seçeneklerinin farklılık göstermesi, çoğu çalışmada ilaç bağımlılığının ve birlikte kullanılan CYP2D6 enzim inhibitörlerinin dökümanite edilmemiş olması, çalışmaların hasta popülasyonlarının farklı etnik ve kültürel özelliklere sahip olması bu faktörlerden birkaçıdır.

Literatürde CYP2D6 genotipinin hormonoterapiye yanıtta etkili olabileceğine yönelik ilk kapsamlı çalışma North Central Cancer Treatment Group Adjuvant Tamoxifen Study (NCCTG) bağlamında Goetz ve arkadaşlarının Mayo Klinik, Michigan Üniversitesi ve Indiana Üniversitesi ortak katılımıyla yaptıkları bir araştırmadır. Bu çalışmaya hormon reseptörü pozitif olan, 5 yıl adjuvan tamoksifen tedavisi alan, 256 postmenapozal meme kanseri hastası dahil edilmiştir. Olguların tümör dokusu içeren parafin bloklarından DNA analizi yapılarak iki CYP2D6 inaktive edici varyant alleli olan *4 ve *5 polimorfizmi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda zayıf metabolize edici genotip CYP2D6 *4 için homozigot olan veya güçlü bir CYP2D6 inhibitörü kullanan hastaların (fluoksetin veya paroksetin gibi) ölüm veya relaps açısından yaklaşık 3 kat artmış riske sahip olduğu görülmüştür (4,62).

Tablo 8.1. CYP2D6 polimorfizminin klinik seyirde etkisiz olduğunu gösteren çalışmalar.

SNP	Referans	Populasyon	Dizayn	Hasta sayısı	Kıyaslanan gruplar	Klinik seyir
*4	Goetz et al. (2005) (4)	Adjuvan	Kohort	223	*1/*1 ve *1/*4 ile *4/*4	RFS
						DFS
						SICAK BASMASI
	Nowell et al (2005) (63)	Adjuvan	Olgu-Kohort	162	*1/*1 vs *4 taşıyanlar	PFS
	Wegman et al 2005 (64)	Adjuvan	Kohort	112	*1/*1 vs *4/*4	RFS
	Wegman et al 2007 (65)	Adjuvan	Kohort	677	*1/*1 vs *1/*4 ve *4/*4	RFS
	Abraham et al 2010 (9)	Adjuvan	Olgu-Kohort	3155	*1/*1 ile *4 taşıyanlar	BCSS
	Regan et al 2012 (66)	Adjuvan	Kohort	4393	1/*1 ile *4/*4 *1/*1 ile *1/*4	BCFI BCFI
	Van schaik et al 2011 (67)	Palyatif	Kohort	499	*1/*1 ile *4 taşıyıcıları	TTF
*5	Abraham et al. 2010 (9)	Adjuvan	Olgu-Kohort	3155	*1/*1 ile *5 taşıyanlar	BCSS
*9	Abraham et al. 2010 (9)	Adjuvan	Olgu-Kohort	3155	*1/*1 ile *9 taşıyanlar	BCSS
*10	Okishiro et al 2009 (68)	Adjuvan	Kohort	173	*1/*1 ve *1/*10 ile *10/*10	RFS
						Kemik mineral dansitesi
						Total kolesterol
						Endometrial kalınlık (1 yıllık Tam
*10	Toyama et al. 2009 (69)	Adjuvan	Kohort	156	*1/*1 ile *1/*10 ve *10/*10	DFS
						BCSS
	Abraham et al. 2010 (9)	Adjuvan	Olgu – Kohort	3155	*1/*1 ile *10 taşıyıcıları	BCSS

Tablo 8.1 (Devam). CYP2D6 polimorfizminin klinik seyirde etkisiz olduğunu gösteren çalışmalar.

SNP	Referans	Populasyon	Dizayn	Hasta sayısı	Kıyaslanan gruplar	Klinik seyir
	Xu et al. 2008 (70)	Adjuvan	Kohort	152	*1/*1 ile *10 taşıyıcıları	5 yıllık DSS
*41	Abraham et al. 2010 (9)	Adjuvan	Olgu – Kohort	3155	*1/*1 ile *10 taşıyıcıları	BCSS
X	Abraham et al. 2010 (9)	Adjuvan	Olgu-Kohort	3155	*1/*1 ile PM ve IM	BCSS
	Regan et al. 2012 (66)	Adjuvan	Kohort	4393	EM ile PM	BCFI
					EM ile IM	BCFI
					EM ile PM, IM	BCFI
					EM ile PM	Sıcak basması
					EM ile IM	Sıcak basması
					EM ile PM/IM	Sıcak basması
	Teh et al. 2012 (71)	Palyatif Olmayan	Kohort	95	EM ile Het-IM	RFS
	Newman et al. 2008 (72)	Adjuvan	Kohort	115	*1/*1 ile PM	TTR
						OS

RFS: relasp free survival, DFS: disease free survival, BCSS: breast cancer spesific survival, BCFI: breast cancer free interval, TTF: time to treatment failure, TTR: time to recurrence, OS: overall survival

Tablo 8.2. CYP2D6 polimorfizminin klinik seyrinde etkili olduğunu gösteren çalışmalar.

Snp	Referans	Popülasyon	Dizayn	Sayı	Referans Grup	Etkilenen Grup	Klinik Seyir	Sonuçlar	
								Ölçüm %95 cl	P değeri
*4	Goetz et al 2005 (4)	Adjuvan	Kohort	223	*1/*1	*4/*4	RFT	KM-LR	0.03
							DFS	KM-LR	0.02
	Wegman et al 2007 (65)	Adjuvan	Kohort	677	*4/*4	*1/*4	RFS	KM-LR	0.04
	Bijl et al 2009 (73)	Tüm Kullanıcılar	Kohort	85	*1/*1	*4/*4	BCSS	HR 4.1	0.041
					*1/*1	*4/*4 ve *1/*4		HR 2.1	0.031
					*1	*4/*4		HR 2.0	0.015
*6	Abraham et al 2010 (9)	Adjuvan	Olgu-Kohort	3155	*1/*1	*1/*6	BCSS	HR 1.95	0.02
*10	Lim et al 2007 (74)	Adjuvan, Palyatif	Kohort	202	*1/*1	*10/*10	TTP	KM-LR	0.0032
	Xu et al 2008 (70)	Adjuvan	Kohort	152	*1/*1	*10/*10	5 yıllık DFS	HR 4.7	0.04

(RFS: relaps free survival, RFT: relaps free time, DFS: disease free survival, BCSS: breast cancer spesific survival, TTP: time to progression, OS: overall survival, KM-LR: kaplan Meier- Long Rank testi, OR: odds ratio, HR: hazard ratio)

Tablo 8.3. Kombine CYP2D6 genotipi ile klinik seyir arasında anlamlı sonuç bulunan çalışmalar.

Referans	Popülasyon	Dizayn	Sayı	Referans Grup	Etkilenen Grup	Klinik Seyir	Sonuçlar	
							Ölçüm	P Değeri
Newman et al 2008 (72)	Adjuvan	Kohort	115	EM ve het-IM	IM	RFS	KM-LR	0.031
				*1/*1	PM	TTR	HR, 2.9	0.076
				*1/*1	PM	OS	HR, 3.5	0.079
Scroth et al 2009 (75)	Adjuvan	Retrospektif-Kohort	1325	EM	PM	TTR	HR, 1.90	0.02
Scroth et al 2010 (76)	Adjuvan	Kohort	492	EM	PM	RFS	HR, 2.77	0.011
Kiyotani et al (77)	Adjuvan	Kohort	282	EM	Het EM/IM	TTR	HR, 1.40	0.03
				*1/*1	*1/V	RFS	HR, 4.44	0.000036
				*1/*1	V/V	RFS	HR, 9.52	0.000036
Teh et al. 2012 (71)	Adjuvan	Palyatif Olmayan	95	EM	IM	RFS	OR, 13.14	0.004

(RFS: relasp free survival, DFS: disease free survival, TTR: time to recurrence, OS: overall survival, KM-LR: kaplan Meier- Long Rank testi, OR: odds ratio, HR: hazard ratio)

Scroth ve arkadaşları 2007 yılında yaptıkları çalışmada tamoksifen tedavisi alan meme kanseri hastalarında klinik seyir ile sitokrom P450 enzim aktivitesi arasındaki ilişkiyi kanıtlamayı amaçlamışlardır. Bu çalışmada tamoksifen monoterapisi alan ER pozitif, 206 hasta çalışma grubunu, hiç tedavi almayan veya tamoksifen tedavisi almayan (kemoterapi alan) 280 hasta ise kontrol grubunu oluşturmuştur. Çalışma kapsamında CYP2D6 *4,*5,*10,*41 alleleri için tekli nükleotid pleomorfizmleri, CYP2C19

*2,*3,*17 allelleri için (806C>T ve 3402C>T) gen duplikasyonları analiz edilmiştir. Ayrıca tamoksifen biyotransformasyonunda görevli CYP3A5*3, CYP2B6 (785A>G- 82T>C, 1459C>T VE 516G>T), CYP2C9*2 ve*3 içinde hastalar analiz edilmiştir. Genotip ile tümör boyutu, lenf düğümü tutulumu, histolojik grade ve ER reseptörü durumu açısından tamoksifen alan ve almayan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. CYP2D6 ve CYP2C19'un allelik varyantları tamoksifen tedavisi alan grupta klinik seyir ile yakın ilişkili bulunmuştur. Tamoksifen almayan grupta ise anlamlı fark bulunmamıştır. CYP2D6 aktivitesi göstermeyen *4 ve *5 allelleri yüksek relaps oranları ile ilişkili bulunmuştur. Relaps riski; PM (*4 veya *5) ve PM/IM (aktivite göstermeyen/*10 veya aktivite göstermeyen / *41) genotipine sahip olanlarda yaklaşık iki kat fazla bulunmuştur. CYP2C19 (*2 ve*3), CYP3A5, CYP2B6 ve CYP2C9 polimorfizmleri ile klinik seyir ve yaşam süresi açısından anlamlı fark bulunmamıştır (78).

Rae ve arkadaşları 2012 yılında yayınladıkları çalışmalarında invaziv meme karsinomu olan 1203 postmenapozal hastada CYP2D6 gen polimorfizmi (*1, *2, *3, *4, *6, *10, *41) ve 1209 hastada UDP- glukronozil transferaz (tamoksifenin aktif metaboliti olan endoksifenin inaktivasyonundan sorumlu enzim) polimorfizmine (UGT2B7 *1 ve *2) bakmışlardır. Çalışma vakalarını ATAC çalışmasına katılan 9366 postmenapozal hormon reseptör pozitif hastalardan seçmişlerdir. Bu hastalar 21 ülkeden 381 merkezden seçilmiştir. Hastaların FFPE dokularından DNA izolasyonu yapılmıştır. Çalışmaları sonucunda tamoksifen tedavisi alan, CYP2D6 IM, EM ve PM genotipe sahip gruplar arasında yineleme riski açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulamamışlardır. Yine bu grupta CYP2D6 genotipi ile tümör boyutu, grade'i ve lenf düğümü tutulumu ile yineleme oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulamamıştır. UGT2B7*1/*1, UGT2B7 *1/*2, UGT2B7 *2/*2 genotiplerine sahip gruplar arasında yineleme riski açısından anlamlı fark bulamamışlardır. Daha önceki çalışmalarda CYP2D6 *4 genotipinin daha kötü sağkalım oranları ile ilişkili olduğu bildirildiği için çalışmalarındaki CYP2D6 *4 alleli taşıyan hasta grubunu ayrı olarak değerlendirmişlerdir. Sonuçta CYP2D6 WT/WT, CYP2D6 *4/WT ve CYP2D6 *4/*4 genotipini taşıyan

gruplar arasında yineleme riski açısından anlamlı fark bulamamışlardır. Yazarlar çalışmada sadece postmenapozal hastaların olmasını, endoksifenin plazma konsantrasyonunun ölçülmemiş olmasını ve yan etkinin sadece hastaların bireysel bildirimi ile ölçülmüş olmasını, çalışmanın kısıtlayıcı faktörleri olarak bildirmişlerdir (79). Bizim çalışmamızda 2 hasta CYP2D6 *4/*10 genotipi saptanmıştır. Benzer kısıtlayıcı faktörler olmakla birlikte bizim çalışmamızda da prognoz (metastaz ve/veya nüks geliştirme) ile genotip arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Sadece polimorfik CYP2D6 alleli taşıyanlarda progresyona kadar geçen süre daha kısa bulunmuştur.

Park ve arkadaşları, 110 hastanın klinik sonuçları ile CYP2D6 genotip ilişkisini değerlendirdikleri çalışmalarında; yaş, operasyon tipi, histolojik grade, ER, PR ve HER2 ile EM, IM ve PM gruplar arasında önemli bir fark saptamamışlardır. EM grubunun %42,3'ü ve IM grubunun %30,3'ünde T2 kanser görülürken, PM grubunun %75'inde T2 kanser rapor edilmiştir. İlginç olarak, bazı çalışmalarda lenf düğümü metastazının insidansı ile CYP2D6 metabolize edici grup arasında ilişki olduğu görülmüştür. Bu çalışmalarda PM grupta lenf düğümü metastazının daha fazla olduğu gözlenmiştir. EM ve IM gruplarda %30,8 ve %25 oranlarında aksiller lenf düğümü metastazı görülürken PM grupta aksiler lenf düğümü metastazı oranının %87,5 olduğu belirlenmiştir. Tümör evresi ve lenf düğümü tutulumdaki EM, PM ve IM grupları arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (80). Bizim çalışmamızda ise gen polimorfizmi ile hastalığın evresi, tümör boyutu, tümör grade'i ve lenf düğümü tutulumu arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

Seruga ve Amir, meme kanserinin klinik seyri ve CYP2D6 gen polimorfizmi ile ilgili 10 çalışmanın sonuçlarını değerlendirdikleri bir meta-analiz çalışmayı 2010 yılında yayınlamışlardır. Yazarlar inceledikleri çalışmalarda mukayese edilen grupların oldukça heterojen olduğuna dikkat çekmekle birlikte normal CYP2D6 enzim fonksiyonunun daha iyi hastalıksız sağ- kalım oranları ile ilişkili olduğunu vurgulamışlardır (81).

Bizim çalışmamızda CYP2D6 gen polimorfizmi gösteren hasta sayısı azdır. Bu nedenle gen polimorfizmi ile prognoz arasındaki ilişki net olarak belirlenememiştir. Ancak çalışma grubunda gen polimorfizmi gösteren hastalarda hastalıksız sağ kalım süresi, gen polimorfizmi göstermeyenlere göre belirgin olarak kısadır. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ayrıca remisyon grubundaki hastalarda gen polimorfizmi gösteren olgumuz yoktur.

Schaik'in 2008 yılında yayınladığı sitokrom p450 genotipi ile meme kanseri tedavisinde kullanılan tamoksifen, doksetaksel, paklitaksel, siklofosfamid, ifosfamid, imatinib, gefitinip, irinotekan, etoposid, teniposid, talidomid ve vinkristin terapilerinin etkinliği ve yan etki profilini incelemiş ve sitokrom p450 gen polimorfizmi ile gelecekte uygulanabilecek olan bireysel tedavi rejimlerini tartışmıştır. İncelemeleri sonucunda bugüne kadar yapılmış olan çalışmalarda tamoksifen metabolizmasında yer alan CYP2D6'nın tamoksifen aktivasyonunda CYP3A4'ün ise tamoksifen inaktivasyonunda major rol oynadığını bilgisine ulaşmıştır. Schaik'in yayınladığı çalışmaya ait CYP450 izoformları ile antikanser ilaç metabolizması arasındaki ilişki tablo 8.4'de özetlenmiştir (60). Söz konusu çalışmada da görüldüğü gibi ilaç aktivasyonunda yetersizlikle birlikte ilaç inaktivasyonundaki değişikliklerde klinik seyir üzerinde etkili olmaktadır. Bu bağlamda tamoksifen metabolizmasında ve dolayısıyla tamoksifene verilen bireysel cevapta, CYP2D6 enzim fonksiyonu kadar CYP3A4 enzim fonksiyonunda önemlidir. Bu durum tamoksifen kullanan hastalarda, hem CYP2D6 hem de CYP3A4 gen polimorfizmi açısından incelemekle daha güvenilir ve sağlıklı veriler elde edilebileceğini düşündürmektedir.

Tablo 8.4. Meme kanseri tedavisinde kullanılan ilaçların metabolizmasında görevli sitokrom p450 enzimleri.

Drug/cyp450	1A1	1A2	2A6	1B1	2B6	2C8	2C9	2C19	2D6	2E1	3A4	3A5	3A7	
Siklofosfamid	X	X	X		Z	X	Y	X	X	X			X	A
Siklofosfamid		X									Z	Y	X	İ
Doksetaksel	X	X	X		X	X	X		X	X	Z	Y	Y	
Etoposid		Y								Y	Z	Y	Y	
Gefitinip									Y		Z	Y	Y	
İfosfamid	Y		Y		Y	X	Y	X	X	X	Z			A
İfosfamid					Y		X				Z			İ
Imatinib		X				X	X	X	X		Z			
İrinotekan														
Paklitaksel						Z					Y			
Tamoksifen					Y		Y	Y	Z					A
Tamoksifen	Y	Y			Y						Z	Y		İ
Teniposid											Z	Y	Y	
Talidomid								Z						A
Talidomid					Z		Z	Z						İ
Vinkristin								Y	Y		Z	Z		

(X:potansiyel katılım, Y: minör katılım, Z: major katılım)

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda da görüldüğü gibi tamoksifen metabolizması oldukça karmaşıktır. Tamoksifen metabolizmasında CYP2D6 ve CYP3A4 dışında yine sitokrom p-450 enzimlerinden olan CYP3A5 ve CYP3A7'nin de etkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (60). Tamoksifen metabolitleri, sülfat konjugasyonu (SULT1A1) ve glukronidasyon (UGT2B15) ile görevli karaciğer faz II enzimleri ile inaktif hale gelirler (5). Nowell ve arkadaşlarının 2005'te yaptığı çalışmaya göre UGT2B15 için iki varyant allele (UGT2B15 *2/*2) sahip olan hastalarda UGT2B15 enzimi artmış aktivite gösterir. Bu hastalar wild tip allele sahip hastalara göre daha fazla rekürrens riskine ve daha kötü sağ-kalım sonuçlarına sahiptirler (63).

Ayrıca Kiyotani ve arkadaşları yaptıkları çalışmada tamoksifen transportunda görevli ABCB1, ABCC2 ve ABCG2 gibi adenosin trifosfat

bağlayıcı kaset transport proteinlerini kodlayan ve ABC transport genleri olarak adlandırılan grup ile sağkalım süreleri arasında anlamlı sonuçlar bulmuşlardır. Özellikle CYP2D6 varyant allelleri ile ABCC2 varyant allelerini birlikte taşımanın rekürrensiz sağkalım üzerine kümülatif etkisi olduğunu çalışmalarında vurgulamışlardır (77).

Tamoksifen metabolizmasının karmaşık olmasının yanı sıra tamoksifenin hedef bölgesini oluşturan ER *alfa* ve ER *beta*'yı etkileyen ESR1 ve ESR2 genlerinde de polimorfizmler izlenmektedir. Bu genler için polimorfik varyant allel taşıyanlarda tamoksifen ilişkili sıcak basması ve hormonoterapi direncinin daha fazla görüldüğüne ilişkin çalışmalar mevcuttur (82,83). Ayrıca ER gen promoter bölgesindeki epigenetik değişimlerde hormonoterapi direncinde rol oynar (7). Büyüme faktörü reseptörleri ile östrojen reseptörü arasındaki çapraz reaksiyonların hormonoterapi direncinde etkin rol oynadığı daha önce rapor edilmiştir (56,57).

Tamoksifen metabolizması ve tamoksifenin hedef bölgesi olan ER gen alterasyonları yanı sıra daha öncede bahsedilen Her2/neu overekspresyonu, HOXB7 proteini overekspresyonu gibi faktörlerin tamoksifen direnciyle ve daha kötü prognoz ile ilişkili olduğu günümüzde kanıtlanmıştır (53,55).

Daha önceki çalışmalardaki veriler bizim çalışmamızın verileri ile birlikte değerlendirildiğinde tamoksifen etkinliği ve güvenilirliğinde CYP2D6 gen polimorfizmleri oldukça önem taşımakla birlikte, tüm bu değişkenlerin birlikte analiz edileceği geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu ortadadır.

Beyaz ırkta en sık rastlanan CYP2D6 varyantları *3,*4 ve *5'tir. Bu varyantlar enzim aktivitesinde azalmaya ve PM fenotipe neden olurlar. Asyalı kadınlarda en sık rastlanan polimorfizm ise CYP2D6 *10 allelindedir. Bu polimorfizm exon 1'de 188. pozisyona C yerine T geçmesi sonucu prolin aminoasidi yerine serin aminoasidi kodlanmasına neden olur. Bu da enzimde stabilizasyon kaybına neden olur ve enzimin daha zayıf katalitik aktivite göstermesi ile sonuçlanır (81,82).

Asyalı kadınlar üzerinde yapılan çalışmalardan biri Okishiro ve arkadaşlarının 173 meme kanseri hastasında yaptıkları çalışmadır. Hastaların

hepsi hormon reseptörü pozitif (ER ve/veya PR pozitif)'tir. Bu hasta grubunda CYP2D6 *10 veya CYP2C19 *2, *3 genotipleri ile menapozal durum, tümör boyutu, lenf düğümü tutulumu, ER, PR, HER2 neu durumu, histolojik grade, adjuvan kemoterapi gibi klinik ve patolojik parametreler arasında kıyaslama yapılmış ve anlamlı fark bulunmamıştır.

CYP2D6*10/*10, WT/WT veya WT/*10 genotipleri, rekürrensiz sağkalım oranları ile ilişkili bulunmamıştır.

Tamoksifen kullanımının meme kanseri hastalarında kemik mineral dansitesinde ve endometrial kalınlıkta artışa, total kolesterol seviyesinde ise azalmaya neden olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada da tamoksifen kullanımına başladıktan bir sene sonra hastalarda belirgin oranda bu bulgular saptanmış olmakla birlikte, bu değişiklikler CYPD6 *10/*10, WT/WT VE WT/*10 genotipleri ile ilişkisiz bulunmuştur (84).

Xu ve arkadaşları 2008 yılında yayınladıkları, yaşları 30-65 arasında değişen 37 postmenapozal ve premenapozal hasta üzerinde yaptıkları çalışmada hastalarda CYP2D6 *10 genotipi ile tamoksifen ve 4- hidroksi tamoksifen serum konsantrasyonu arasındaki ilişkiyi belirlemeye çalışmışlardır. Tamoksifen serum konsantrasyonu açısından CYP2D6 *10 için WT/WT ile WT/VT ve VT/VT genotip grupları arasında fark bulamamışlardır. Buna rağmen serum 4-hidroksi tamoksifen düzeyi VT/VT homozigot genotipe sahip grupta WT/WT homozigot genotipe sahip olan gruba göre belirgin oranda düşük bulunmuştur. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.004$).

WT/WT ve WT/VT genotip grupları arasında da serum 4- hidroksi tamoksifen düzeyleri arasında fark bulunmuştur ($p=0,96$).

Aynı çalışmanın ikinci aşamasında retrospektif olarak post-adjuvant kemoterapi almamış, ER pozitif 5 yıl süreyle tamoksifen tedavisi alan erken evre meme kanseri hastalarında yapılmıştır. Çalışmacıların gözlemlerine göre CYP2D6 *10 genotipi 5 yıllık hastalıksız sağ kalım oranı ile yakın ilişkili bulunmuştur ancak hastalık spesifik sağ kalım ile ilişkili bulunmamıştır.

VT/VT varyant homozigot olan grupta 5 yıllık hastalıksız sağ kalım WT/WT varyant homozigot veya WT/VT varyant heterozigot olan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük bulunmuştur ($p=0,005$).

Aynı çalışmacılar ER negatif olup tamoksifen tedavisi almayan 142 meme kanseri hastasında CYP2D6*10 genotipi ile hastalıksız sağ kalım ve hastalık spesifik sağ kalım arasında anlamlı fark bulamamışlardır.

Sonuç olarak CYP2D6 *10 genotipini, tamoksifenin etkinliği ve güvenilirliği için belirleyici olduğunu; CYP2D6 *10 alleli için homozigot VT/VT genotipine sahip hastalarda klinik seyrin belirgin olarak daha kötü olduğunu rapor etmişlerdir (70).

Kiyotani ve arkadaşları 67 meme kanseri hastasının kan örneklerini CYP2D6 *4,*5,*6,*10,*14,*18,*21,*41 alleleri açısından analiz etmişlerdir. Ulaştıkları sonuçlara göre CYP2D6 *10/*10 genotipine sahip hastalar CYP2D6 *1/*1 genotipine sahip olanlara veya en az bir wild tip allel bulunduranlara göre daha yüksek rekürrens oranlarına sahiptir ($p=0.0057$) (85).

Regan ve arkadaşları; randomize, faz 3, çift kör, Breast International Group (BIG) 1-98 çalışmasına dahil olan 8010 postmenapozal meme kanseri hastasının 4861'inin tümör dokusuna ulaşmışlardır. Bu dokulardan DNA analizi yapılarak CYP2D6 için PCR ile 9 tekli nükleotid polimorfizmine bakılmıştır. Gösterdikleri polimorfizme göre CYP2D6 fenotipleri zayıf, orta, iyi metabolize edici olarak sınıflandırılmıştır (toplam 4393 hasta). Bu hastalardan 1243'ü tamoksifen, 1294'ü letrozol tedavisi almıştır. Çalışma sonuçlarına göre tamoksifen tedavisi ve letrozol tedavisi alan grupta CYP2D6 genotipi ile kansersiz interval arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır. Bizim çalışmamızda aromataz inhibitörü kullanan grupta gen polimorfizmi izlenmediği için böyle bir kıyaslama yapılamamıştır. Ancak tedavi türü ile prognoz arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki yoktur.

CYP2D6 *4 alleli için homozigot olan grup (CYP2D6 *4/*4- PM) ve heterozigot olan grup (CYP2D6 *4/WT- IM) ile wild tip allel için homozigot olan grup arasında (CYP2D6 WT/WT-EM) kanser olayları açısından anlamlı fark bulunmamıştır. Ayrıca yine tamoksifen alan grupta IM grubun subgrupları olan

IM/PM ve IM/IM genotipleri arasında klinik seyir açısından anlamlı fark bulunmamıştır.

Daha önce kemoterapi almamış tamoksifen ile tedaviye başlayan 1706 hastada PM ve IM fenotipine sahip gruplarda, EM fenotipe sahip olanlar gruba göre sıcak basması şikayeti belirgin olarak daha fazla bulunmuştur ($p=0.20$). Tamoksifen tedavisine başlamadan önce kemoterapi alan hastalarda ise, CYP2D6 genotipi ile sıcak basması şikayeti arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır (66).

Çalışmamızda CYP2D6 *4/*10 polimorfizmi gösteren 2 hasta vardır. Sayının az olması nedeniyle polimorfizm gösteren ve göstermeyen grup arasında hormonoterapiye yanıt oranları arasında net bir kıyaslama yapmak mümkün olmamıştır. Yine de remisyon grubumuzda hiç polimorfizm görülmemesi, ayrıca CYP2D6 polimorfizmi gösteren grupta, polimorfizm göstermeyen gruba göre daha kısa hastalıksız sağ kalım oranları saptanmış olması polimorfizmlerin tedaviye yanıtta etkili olduğunu düşündürmektedir.

Polimorfizm gösteren hasta sayımızın azlığı çalışmamızın yerel bir çalışma olmasına bağlanabilir. Çünkü birkaç çalışmada da kanıtlandığı gibi genetik polimorfizmler etnik gruplara göre oldukça farklılık göstermektedir. Türk populasyonunda PM fenotipin oldukça nadir olduğu daha önceki çalışmalarda rapor edilmiştir (59,86).

Tablo 8.5. Bazı ülkelerde belirlenmiş olan CYP2D6 fenotip sıklıkları (86).

Etnik Grup	Sayı	PM (%)	UM (%)
Türkiye	404	1.5	5.8
Kuzey Amerika (beyaz ırk)	464	5.8	2.2
Kuzey Amerika (siyah)	246	3.3	2.4
Almanya	589	7	2
İspanya	258	5	1
İsviçre	270	8	1
Kore	152	0	0.3
Fransızlar	265	8.4	1.9
Çin	113	0	1.3
Suudi Arabistan	101	2	21
Etiyopya	122	1.8	29

(PM: zayıf metabolize ediciler, UM: ultra hızlı metabolize ediciler)

Benzer şekilde çalışmamızda CYP2D6 için güçlü inhibitör olduğu bilinen ek ilaç kullanan hasta sayısı oldukça azdır. İlaç metabolizmasını etkileyen değişimler dört düzeyde olabilir:

1. İlaç taşınmasında görevli transport proteinleri
2. İlacı metabolize eden enzimler
3. İlacın hedef bölgesini oluşturan proteinler
4. Diğer biyomarker genler (87).

CYP2D6 enzim inhibisyonu yapan diğ er ilaçların tamoksifenle birlikte kullanımının, CYP2D6 enzim fonksiyonunun azalmasına böylece tamoksifenin etkinliğini ve meme kanseri hastalarının klinik seyrini etkileyebileceğine yönelik çalışmalar mevcuttur (9).

CYP2D6, sıklıkla kullanılan ilaçların %25'inin metabolizmasında önemli rol oynar. Bunların arasında analjeziklerden tramadol ve kodein, antidepresanlar, metoprolol gibi kardiovasküler sistemi düzenleyici ilaçlar bulunmaktadır. Özellikle CYP2D6 PM grupta bu ilaçların azalmış eliminasyonuna ve artmış plazma konsantrasyonuna bağlı olarak artmış yan etki profili görülür.

Bunun yanı sıra kodein ve tamoksifen gibi ön- ilaç olan ve aktive olmak için metabolize olmaya ihtiyaç duyan ilaçların ise etkinliğinde azalma görülür (5).

Tablo 8.6. Güçlü CYP2D6 inhibitörü ilaçlar.

Amiadaron	İmatinib	Quinidin
Klorokin	Orfenadrin	Terbinafin

Tablo 8.7. CYP2D6 enzimi ile metabolize olan ve enzime bağlanma gücüne göre enzim inhibisyonu yapan ilaçlar (87).

Güçlü	Orta	Zayıf
Bupropion	Karvedilol	Selecoxib
Fluoksetin	Kloramfenikol	Simetidin
Levomepromizin	Klorpromazin	Sitalopram
Paroksetin	Difenhidramin	Kodein
Pimozid	Duloksetin	Essitalopram
Primakin	Haloperidol	Lomustin
Propofenon	Metoprolol	Mirtazapin
Tiklodipin	Propranol	Ranitidin
Flekainid	Risperidon	Ritonavir
Doksepin	Sertralin	Timolol

Tablo 8.8. Tamoksifen ile CYP2D6 enzim inhibitörü ilaçların birlikte kullanımının klinik seyir üzerine etkisini araştıran çalışmalar.

Ref. no	Çalışma popülasyonu/ Dizayn	Dahil edilen hasta sayısı Kıyaslama	Ana bulgular
88	Adjuvan. Premenapozal ve postmenapozal. Kohort	198 hasta tamoksifen 105 hasta tamoksifen + herhangi bir CYP2D6 inhibitörü	Meme kanseri rekürrensi açısından anlamlı fark yok
89	Adjuvan. Pre ve postmenapozal hastalar. Olgu kontrol çalışması	366 hasta. Tamoksifen ile Tamoksifen + sitalopram	Meme kanseri rekürrensi açısından Anlamlı fark yok
90	Adjuvan. Pre ve postmenapozal hastalar. Retrospektif	945 hasta tamoksifen 353 hasta tamoksifen + orta/güçlü inhibitör	2 yıllık meme kanseri rekürrens riski inhibitör ilaç alan grupta daha fazla $p<0.001$
91	Adjuvan. Postmenapozal. Kohort	2430 hasta. Tamoksifen + SSRI	Birlikte ilaç kullanım süresi %25, %50, %75 olarak gruplandırıldığında meme kanserinden ölüm riskinde sırasıyla %24, %54, %91 oranında artış görülmüştür. $P<0.05$
92	Adjuvan. Pre ve postmenapozal hastalar. Retrospektif	1962 hasta tamoksifen 150 hasta tamoksifen + herhangi bir CYP2D6 inhibitörü	Meme kanseri rekürrensi açısından anlamlı fark yok
93	Adjuvan premenapozal ve postmenapozal. Olgu- kontrol	660 tamoksifen 164 hasta tamoksifen + herhangi bir CYP2D6 inhibitörü	Meme kanseri rekürrensi açısından anlamlı fark yok

Meme kanseri hastalarının yaklaşık %25'inde depresif bozukluk görülmektedir (94).

Daha fazla bir oranda ise hormonoterapiye bağılı sıcak basması şikayeti görülmektedir. Hem depresif bozukluk hem de sıcak basması yan etkisi hastanın yaşam kalitesinde belirgin bozulmaya neden olmaktadır. Her ikisinin de tedavisinde antidepresan ilaçlar kullanılmaktadır (95).

Bizim çalışmamızda çalışma grubunda 4 hasta (%15.4), kontrol grubunda 2 hasta (%9.6) CYP2D6 enzim inhibitörü ilaç kullanmaktaydı. İki grup arasında prognoz açısından anlamlı fark bulunmamıştır. Çalışma grubunda metastaza kadar geçen süre açısından ek ilaç kullanan ve kullanmayan grupta istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p= 0.096$).

9. SONUÇLAR

1. Bu çalışmada; hormon reseptörü pozitif meme kanseri hastalarında hormonoterapinin iyi bir seçenek olması nedeniyle, hormonoterapi etkinliği konusunu araştırdık ve bu nedenle ilaç metabolizmasının genetiği üzerinde durduk.
2. Bugüne kadar diğer toplumlarda tamoksifen metabolizması ile ilgili gen polimorfizmleri literatürde belirlenmiş ancak Türk toplumuna ait veriler net olarak ortaya konmamıştır.

Çalışmamızda tamoksifenin etki mekanizmasında ana rolü alan CYP2D6 gen polimorfizmini inceledik: Çalışmamızda en sık allel tipi: *1 (wild tip)'dir. 47 hastadan 2 tanesinde PM (*4/*10), 1 tanesinde UM (*2/*XN) genotip saptanmıştır. Diğer hastalar EM genotipine sahiptir. Mevcut sonuçlar ile Türk toplumunda tamoksifen kullanan hastaların önemli kısmında tamoksifen metabolizması ile ilgili belirgin yanıt değişikliği olmayacağı düşünülmektedir. Ancak bu konuda yapılacak çok sayıda hasta içeren çalışmalara gereksinim vardır.

3. CYP2D6 polimorfizmi ile hastaların yaş, patoloji, grade, tümör boyutu, lenf düğümü tutulumu, evre, ER, PR ve Her 2- neu özellikleri arasında istatistiksel anlam izlenmemiştir. Bu bilgiler diğer çalışmalarla paralellik göstermektedir.
4. CYP2D6 gen polimorfizmi ile metastaz gelişimi arasında anlamlı ilişki görülmemiştir.
5. CYP2D6 gen polimorfizmi gösteren olgularda metastaza kadar geçen süre daha kısa bulunmuştur. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0.02$).
6. Evre 2B ve altındaki evrelerde, evre 2B üzeri olgulara göre daha uzun hastalıksız sağ kalım oranları saptanmıştır ($p= 0.029$).
7. Cerb-B2 pozitif olan grupta daha sık metastaz geliştiği saptanmıştır ($p=0.01$).

8. CYP2D6 enzim inhibitörü olan ek ilaç kullanımı olan hastalarda kullanmayanlara göre prognozda anlamlı değişiklik saptanmamıştır. Bu sonuç diğer çalışmalarla paralellik göstermektedir.
9. Çalışmamızın sonuçları daha önce yapılan çalışmalar ile benzer bulunmuştur. Bu bulgular ışığında özellikle postmenapozal hasta grubunda, klinisyenin değerlendirmesi sonucunda da uygun bulunursa tamoksifen tedavisi öncesi hasta CYP2D6 gen polimorfizmleri açısından teste tabi tutulabilir. Ancak premenapozal meme kanseri hastalarında ve intraduktal karsinom hastalarında tamoksifen hala en iyi seçenek olarak karşımıza çıkmaktadır.

10. ÖZET

ÖSTROJEN RESEPTÖRÜ POZİTİF MEME KANSERİ HASTALARINDA HORMONOTERAPİYE DİRENCİN MOLEKÜLER GENETİK YÖNTEMLE (CYP2D6 Gen Polimorfizmleri Açısından) İNCELENMESİ

Meme kanseri kadınlarda en sık görülen kanserdir. Tüm dünyada sıklığı giderek artmaktadır. Erken tanı ve tedavi yöntemleriyle mortalitenin giderek azalmasına rağmen tedaviye cevap ve sağ kalım sürelerinde büyük bireysel farklılıklar görülmesi sebebiyle meme kanseri son zamanlarda genetik çalışmaların majör konularından biri haline gelmiştir. Selektif östrojen reseptör modülatörü olan tamoksifen tüm yaş gruplarında 30 yıldan uzun süredir meme kanseri tedavisinde, yakın zamanlarda ise meme kanserinden korunmada kullanılmakta ve tedavinin mihenk taşlarından birini oluşturmaktadır. Tamoksifen bir ön ilaçtır ve etkinlik gösterebilmesi için sitokrom p450 enzimlerince metabolik aktivasyona uğraması gerekir. CYP2D6 N-desmetil- tamoksifenin endoksifene dönüşümünde majör rol oynayan kilit enzimdir. CYP2D6 enzimlerinde tekli nükleotid pleomorfizmleri nadir değildir ve bunlardan bazıları aktivite göstermeyen, azalmış aktivite gösteren, artmış aktivite gösteren enzim polimorfizmlerine neden olurlar. İki wild tip (CYP2D6 *1/*1) allel taşıyan hastalar normal metabolize (EM) ediciler olarak adlandırılırlar. Polimorfik (varyant) allellerin değişik kombinasyonları kötü metabolize edici (PM), orta düzey metabolize edici (IM) ve ultra hızlı metabolize edici (UM) fenotipe neden olurlar. Bu fenotipler adjuvan tamoksifen terapisi alan meme kanseri hastalarında daha kötü klinik seyir ile ilişkili bulunmuştur. CYP2D6 enzim genotipinde etnik farklılıklar sık görülmektedir ayrıca tamoksifen ile birlikte CYP2D6 enzim inhibitörü ilaç kullananlarda enzim aktivitesi azalabilir. Örneğin sıcak basması şikayeti veya depresif bozukluk tanısı ile antidepresan ilaç kullanan hastalarda tamoksifenin doz ayarlaması yapılmalıdır. Bu çalışmadaki amacımız bugüne kadar elde edilmiş veriler ışığında CYP2D6 enzim polimorfizmlerini incelemek

ve CYP2D6 genotipinin hormonoterapi üzerine etkisi olup olmadığını araştırmaktır.

Çalışmamıza adjuvan tamoksifen veya aromataz inhibitörü alan ER pozitif 47 meme kanseri hastası dahil edilmiştir. Hastalar 2002-2012 yılları arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalında tanı almış ve yine aynı fakültenin Onkoloji Bölümünde takip ve tedavisi yapılan hastalar arasından seçilmiştir. Çalışma grubu takipleri boyunca hastalıkta rekürrens veya metastaz yoluyla progresyon gösteren, ER pozitif, adjuvan hormonoterapi alan 26 meme kanseri hastasını içermektedir. Kontrol grubu ise ER pozitif, adjuvan hormonoterapi alan, en az beş yıl süreyle takip edilmiş ve tedavi ile remisyonda olan 21 hasta içermektedir. Hastaların FFPE tümör dokularından DNA analizi yapılarak CYP2D6 polimorfizmleri açısından analiz edilmiştir (Autogenomics Infinity Biofilm Microarray CYP2D6 I). Gen polimorfizmleri ile hastaların klinik ve patolojik özellikleri Ki-kare, Kruskal- Wallis ve Man- Whitney U testi kullanılarak karşılaştırılmıştır.

Ortalama takip süresi 60 aydır. Çalışma grubundaki 2 premenapozal hastada CYP2D6 *4/*10 ve bir postmenapozal hastada CYP2D6 *2/*XN genotipi saptanmıştır. Hormonoterapi ile remisyonda olan kontrol grubunda polimorfizm görülmemiştir. Polimorfizmler ile tümör özellikleri arasında PR, Cerb-B2 durumu, tümör boyutu ve evresi arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Progresyona kadar geçen zaman gen polimorfizmi gösteren olgularda daha kısa bulunmuştur (p=0.02).

Sonuçlara göre Türk popülasyonda CYP2D6 enzim polimorfizmi sık görülmemektedir. Progresyona kadar geçen zaman gen polimorfizmi gösteren olgularda daha kısa olmakla birlikte, daha önceki çalışmalar ve bizim çalışmamızın sonuçlarıyla halen CYP2D6 genotipini testinin rutin klinik pratikte kullanımının anlamlı olacağına dair yeterli veri elde edilememiştir. Bu bulgular ışığında özellikle postmenapozal hasta grubunda, klinisyenin değerlendirmesi sonucunda da uygun bulunursa tamoksifen tedavisi öncesi hasta CYP2D6 gen polimorfizmleri açısından teste tabi tutulabilir. Ancak premenapozal meme

kanseri hastalarında ve intraduktal karsinom hastalarında tamoksifen hala en iyi seçenek olarak karşımıza çıkmaktadır.

Anahtar sözcükler: Meme kanseri, CYP2D6, sitP450, endokrin terapi, tamoksifen, aromataz inhibitörleri.

11. ABSTRACT

SEARCHING FOR THE RESPONSIVENESS TO HORMONOTHERAPY BY MOLECULAR GENETIC STUDIES (Polimorphisms of CYP2D6) IN ER POSITIVE BREAST CANCER PATIENTS

Breast cancer is the top cancer among women, and its incidence is increasing worldwide. Although the mortality tends to decrease due to early detection and treatment, there is great variability in the rates of clinical response and survival, which makes breast cancer one of the most appealing targets for genetic studies. The selective estrogen receptor modulator tamoxifen has been used for more than three decades for the treatment, and more recently prevention of breast cancer in women of all ages. Tamoxifen is a pro-drug and requires 'metabolic activation' catalyzed by cytochrome P450 (CYP) enzymes. CYP2D6 is the key enzyme responsible for the conversion of N-desmethyl tamoxifen to endoxifen. Single nucleotide polymorphism in the CYP2D6 gene are not uncommon, and some polymorphisms associated with reduced, null or increased activity. The patients who carry two wild type CYP2D6 alleles (CYP2D6*1/*1) called extensive metabolizers (normal activity). Different combination of these polymorphic (variant) alleles cause poor metabolizer (reduced or null enzyme activity), intermediate metabolizer (reduced enzyme activity) and ultrarapid metabolizer (increased enzyme activity) phenotypes. These phenotypes are associated with worse clinical breast cancer outcome in patients who taking tamoxifen in adjuvant setting. The ethnic variations are common in CYP2D6 and the enzyme activity can also be reduced by concomitant use of drugs for example antidepressants used for psychiatric conditions or to relieve hot flashes, and these should be avoided in tamoxifen users whenever possible. In the present study we aimed to provide an overview on the current data and search the genetic polymorphisms in CYP2D6. We want to explain the clinical implication of CYP2D6 genotyping on hormone therapy.

This study including 47 breast cancer patients who are using tamoxifen in adjuvant setting. All patients have ER positive tumors. The patients are chosen

from the patients who are diagnosed in Medical Pathology Department of Akdeniz University Faculty of Medicine and follow up by the Oncology Department of same faculty, between the years 2002-2012. The study population include 26 patients who are have disease progression (recurrence /metastasis) and the control group include 21 patients who are in remission with hormonotherapy. The patients DNA analyzed for CYP2D6 polimorfisms by using FFPE (Autogenomics Infinity Biofilm Microarray CYP2D6 I). Gene polymorphisms and clinical characteristics of patients were compared. Chi-Square, Kruskal-Wallis and Man- Whitney – U tests were used to compare categorical measures between the two groups.

The mean follow up time is 60 months. We find CYP2D6 *4/*10 genotype in two premenaposal patients, and CYP2D6*2/*XN genotype in a postmenaposal patients. Each of them show disease progression. There was no polimorphism in control group patients who are in remission with hormonotherapy. There was no association between polimorphisms and tumor characteristics such as PR and Cerb-B2 situation, size, grade and stage. Time to progression is shorter in patients who have polimorfic genotypes ($p=0.02$).

Between CYP2D6 genetic polymorphism with the various parameters of the disease in patients using tamoxifen, no significant relationship were observed between CYP2D6 genotypes with the pathological features of cancer. Based on the results we can say polimorphisms in CYP2D6 are very rare in Turks. The progression time is shorter in patients who have polimorfic genotypes but the definitive evidence that would change routine clinical practice not yet available. We think the postmenopozal patients can tested for CYP2D6 polimorphisms before the tamoxifen therapy for predict to efficacy of the drug, but tamoxifen still seems the best option for hormonotherapy in premenaposal and the patients who have intraductal carcinoma.

Key words: Breast cancer, CYP2D6, sitP450, endocrine therapy, tamoxifen, aromatase inhibitors.

12. KAYNAKLAR

1. Koak S, elik L, zbař S, Dizbay Sak S, Tkn A, Yalın B. Meme kanserlerinde risk faktrleri, riskin değerlendirilmesi ve prevansiyon: İstanbul 2010 Konsensus Raporu. The Journal of Breast Health 2011; 7: 47-67.
2. De Laurentiis M, Cianniello D, Caputo R, Stanzione B, Arpinob G, Cinieric S, et al. Treatment of triple negative breast cancer (TNBC): current options and future perspectives, Cancer Treatment Reviews 2010; 36: 80-6.
3. Schnitt SC, Collins LC, Biopsy Interpretation of the Breast, Second Edition, Lippincott Williams and Wilkins 2013.
4. Gaffey TA, O’Kane DJ, Goetz MP, Reynolds C. Pharmacogenetics of endocrine therapy for breast cancer. Annu Rev Med 2011; 62: 281-93.
5. Higgins MJ, Stearns V. Pharmacogenetics of Endocrine Therapy for Breast Cancer, Annu Rev Med 2011; 62: 281–93.
6. Higgins MJ, Stearns V. Understanding Resistance to Tamoxifen in Hormone Receptor–Positive Breast Cancer. Clinical Chemistry 2009; 55(8): 1453–5.
7. Orlando L, Schiavone P, Fedele P, Calvani N, Nacci A, Rizzo P, et al. Molecularly targeted endocrine therapies for breast cancer. Cancer Treatment Reviews 2010; 36: 67-71.
8. Ferraldeschi R, Newman WG. The Impact of CYP2D6 Genotyping on Tamoxifen Treatment. Pharmaceuticals 2010; 3: 1122-38.
9. Abraham JE, Maranian MJ, Driver KE, Platte R, Kalmyrzaev B, Baynes C, et al. CYP2D6 Gene Variants: Association With Breastcancer Specific Survival In A Cohort Of Breast Cancer Patients From The United Kingdom Treated with Adjuvant Tamoxifen. Breast Cancer Research 2010; 12: R64.
10. Singh MS, Francis PA, Michael M. Tamoxifen, cytochrome P450 genes and breast cancer clinical outcomes. The Breast 2011; 20: 111-8.
11. Zhang Y, Moerkens M, Ramaiahgari S, Bont H, Price L, Meerman J, Water B. Elevated insulin-like growth factor 1 receptor signaling induces antiestrogen resistance through the MAPK/ERK and PI3K/Akt signaling routes, Breast Cancer Research 2011; 13: R52.
12. Vendrell J, Robertson KE, Ravel P, Bray SE, Bajard A, Purdie CA. A candidate molecular signature associated with tamoxifen failure in primary breast cancer. Breast Cancer Research 2008, 10: R88.
13. Hicks DG, Lester SC. Diagnostic Pathology Breast, 2012, Amrsys.
14. Cancer Facts And Figures, American Cancer Society, 2012, Atlanta.

15. Tavassoli FA, Deville P. International Academy of Pathology, tumours of female genital tract and breast. IARC Presss, Lyon, France 2003; 13-60.
16. Kast K, Krause M, Schuler M, Friedrich K, Thamm B, Bier A. Late onset Li-Fraumeni Syndrome with bilateral breast cancer and other malignancies: case report and review of the literature. BMC Cancer 2012; 12: 217-24.
17. Lerebours F, Lidereau R. Molecular alterations in sporadic breast cancer, Critical Reviews in Oncology/Hematology 2002; 44: 121-41.
18. Farooq A, Walker LJ, Bowling J, Audisio R, Cowden syndrome. Cancer Treatment Reviews 2010; 36: 577-83.
19. Clarke RB. Steroid receptors and proliferation in the human breast. Steroids 2003; 68: 789-94.
20. O'Hanlon DM, Fitzsimons H, Lynch J, Tormey S, Malone C, Given HF. Soluble adhesion molecules (E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1) in breast carcinoma. European Journal of Cancer 2002; 38: 2252-7.
21. Gasparini G. Clinical significance of determination of surrogate markers of angiogenesis in breast cancer, Critical Reviews in Oncology: Hematology 2001; 37: 97-114.
22. Vona-Davis L, Rose DP. Angiogenesis, adipokines and breast cancer, Cytokine & Growth Factor Reviews 2009; 20: 193-201.
23. Rosai J. Rosai and Ackermann's Surgical Pathology, 9th edition, China, Elsevier 2004; 1787-826.
24. Calle EE, Heath CW, McMahon JM, Coates RJ, Liff JM, Franceschi S, et al. Breast cancer and hormonal contraceptives: collaborativereanalysis of individual data on 53 297 women with breast cancer and 100 239 women without breast cancer from 54 epidemiological studies. The Lancet 1996; 347: 1713-27.
25. Mahabir S. Association Between Diet During Preadolescence and Adolescence and Risk for Breast Cancer During Adulthood. Journal of Adolescent Health 2012; XXX: 1-6.
26. Dumitrescu RG, Shields PG. The etiology of alcohol-induced breast cancer. Alchocol 2005; 35: 213-25.
27. Terry MB, Zhang FF, Kabat C, Britton JA, Teitelbaum SL, Neugut AU, et al. Lifetime Alcohol Intake and Breast Cancer Risk, AEP 2006; 16: 230-40.
28. Rock CL, Byers TL, Colditz GA, Demark-Wahnefried W, Ganz PA, Wolin KY, et al. Reducing breast cancer recurrence with weight loss, a vanguard trial: The Exercise and Nutrition to Enhance Recovery and Good Health for You (ENERGY) Trial. Contemporary Clinical Trials 2012.

29. Löfa M, Bergströma K, Weiderpass E. Physical activity and biomarkers in breast cancer survivors: A systematic review. *Maturitas* 2012; 73: 134-42.
30. Tavassoli FA. Breast In: Tavassoli FA 6. Edit. Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs. Lyon 2003; 10-110.
31. Grene FL, Page DL, Fleming ID. AJCC Cancer Staging Manual, 6th ed. New York: Springer 2002; 223-40.
32. Sert F. Meme kanseri tanılı hastalarda adjuvan hormonal tedavinin yaşam kalitesine etkisinin değerlendirilmesi, Uzmanlık Tezi, Ege Üniversitesi, İzmir 2011.
33. Aydinler A, Topuz E. Meme Kanseri Tanı Tedavi Takip İstanbul Konsensusu, İstanbul 2006.
34. Wolff AC, Hammond MEH, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer. *Arch Pathol Lab Med* 2007; 131: 18-43.
35. Wick MR, Swanson PE. Targeted Controls in Clinical Immunohistochemistry. *Am J Clin Pathol* 2002; 117: 7-8.
36. Munshi A, Singh P. Tamoxifen in breast cancer: Not so easy to write off. *The Breast* 2008; 17: 121-4.
37. Clemons M, Danson S, Howel A. Tamoxifen ('Nolvadex'): a review. *Cancer Treatment Reviews* 2002; 28: 165-80.
38. Sainsbury R. The development of endocrine therapy for women with breast cancer. *Cancer Treatment Reviews* 2012.
39. Geisler J, Lonning PY. Resistance to Endocrine Therapy of Breast Cancer: Recent Advances and Tomorrow's Challenges, *Clinical Breast Cancer* 2001; 1: 297-308.
40. Abe O, Abe R, Enomoto K, Kikuchi K, Koyama H, Masuda H, et al. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *The Lancet* 2005; 365: 1687-717.
41. Brodie A, Njar V. Aromatase inhibitors and their application in breast cancer treatment. *Steroids* 2000; 65: 171-9.
42. Heldermon C, Ellis M. Endocrine therapy for breast cancer, update on cancer therapeutics 2006;1: 285-97.
43. Sharma A, Zebrowski A. 91-month analysis of the Inter-Group Exemestane Study (IES): Exemestane after initial therapy with tamoxifen in postmenopausal women with early breast cancer. *Advances in Oncology* 2010; 5: 10.

44. Goss P, Eichel L. Summary of aromatase inhibitor trials: The past and future, *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 2007; 106: 40–8.
45. Lonning P. Exemestane in Breast Cancer: Current Status and Future Directions. *Clinical Breast Cancer* 2000; 1: 28-33.
46. Canbay E, Koyuncu A. Meme Kanserinde Yeni Hormonal Tedavi Yaklaşımları. *CÜ Tıp Fakültesi Dergisi* 2001; 23(4): 201-8.
47. Puhalla S, Bhattacharya S, Davidson NE. Hormonal therapy in breast cancer: A model disease for the personalization of cancer care. *Molecular Oncology* 2012; 6: 222-36.
48. Howell A, Cuzick J, Baum M, Buzdar A, Dowsett M, Forbes F, et al. Results of the ATAC (Arimidex, Tamoxifen, Alone or inCombination) trial after completion of 5 years' adjuvant treatment for breast cancer. *Lancet* 2005; 365: 60-2.
49. Engel JB, Schally AV, Buchholz S, Seitz S, Emons G, Ortmann O. Targeted chemotherapy of endometrial, ovarian and breast cancers with cytotoxic analogs of luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH), *Arch Gynecol Obstet* 2012; 286: 437–42.
50. Howard-Anderson J, Ganz PA, Bower JE, Stanton AL. Quality of Life, Fertility Concerns, and Behavioral Health Outcomes in Younger Breast Cancer Survivors: A Systematic Review. *J Natl Cancer Inst* 2012; 104: 386–405.
51. Meisel JL, Domchek SM, Vonderheide RH, Giobbe- Hurder A, Lin NU, Winer EP, et al. Quality of life in long-term Survivors Of Breast Cancer. *Clinical Breast Cancer* 2012; 12: 119-26.
52. Valdivieso M, Kujawa AM, Jones T, Baker HL. Cancer Survivors in the United States: A Review of the Literature and a Call to Action. *Int J Med Sci* 2012; 9: 163-73.
53. Menendez JA, Vellona L, Lupu R. Targeting fatty acid synthase-driven lipid rafts: a novel strategy to overcome trastuzumab resistance in breast cancer cells. *Medical Hypotheses* 2005; 64: 997–1001.
54. Nahta R, Yu D, Hung MC, Hortobagyi GN, Esteva FJ, Mechanisms of Disease: understanding resistance to HER2-targeted therapy in human breast cancer. *Nature Clinical Practice* 2006; 3: 269-80.
55. Kideok Jina, Xiangjun Kongb, Tariq Shahc, Marie-France Penetc, Flonne Wildesc, Dennis C. Sgroid, The HOXB7 protein renders breast cancer cells resistant to tamoxifen through activation of the EGFR pathway. *PNAS* 2011; 1-6.
56. Osborne CK, Schiff R, Growth Factor Reseptor Cross-Talk with Estrogen Receptor As A Mechanism for Tamoksifen Resistance in Breast Cancer. *The Breast* 2003; 12: 362-7.

57. Osborne CK, Bardou V, Hopp TA, Chamness G, Hilsenbeck S, Fucua SAW. Role Of The Estrogen Receptor Co Aktivator AIB1 (SRC3) And Her2/neu in Tamoxifen Resistance In Breast Cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95(5): 353-61.
58. Sistonen J. Pharmacogenetic Variation at CYP2D6, CYP2C9 and CYP2C19. Uzmanlık tezi, University of Helsinki, Department of Forensic Medicine, Helsinki 2008.
59. Günaldı M. Meme Kanserli Hastalarda Cyp2d6 Polimorfizmlerine Göre Tamoksifenin Etkinlik Ve Yan Etkileri Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi. Yan Dal Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana 2012.
60. Van Schaik RN. CYP450 pharmacogenetics for personalizing cancer therapy. *Drug Resistance Updates* 2008, 11: 77-98.
61. Toscano C. Molecular analysis of mechanisms leading to CYP2D6 intermediate and ultrarapid metabolizer phenotypes. Stuttgart 2006.
62. Goetz M, Knox S, Suman V, Rae J, Safgren S, Ames M, et al. The impact of cytochrome P450 2D6 metabolism in women receiving adjuvant tamoxifen. *Breast Cancer Research and Treatment* 2007; 101: 113-21.
63. Nowell SA, Ahn J, Rae JM, Scheys JO, Trovato A, Sweeney C, et al. Association of genetic variation in tamoxifen-metabolizing enzymes with overall survival and recurrence of disease in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2005; 91: 249–58.
64. Wegman P, Vainikka L, Stål O, Nordenskjöld B, Skoog L, Rutqvist L, et al. Genotype of metabolic enzymes and the benefit of tamoxifen in postmenopausal breast cancer patients. *Breast Cancer Res* 2005; 7: 284–90.
65. Wegman P, Elingarami S, Carstensen, J, Stal O, Nordenskjöld B, Wingren S. Genetic variants of CYP3A5, CYP2D6, SULT1A1, UGT2B15 and tamoxifen response in postmenopausal patients with breast cancer. *Breast Cancer Res* 2007; 9: R7.
66. Regan MM, Leyland-Jones B, Bouzyk M, Pagani O, Tang W, et al. CYP2D6 genotype and tamoxifen response in postmenopausal women with endocrine-responsive breast cancer: the breast international group1- 98 trial. *J Natl Cancer Inst* 2012; 104: 441–51.
67. Van Schaik RH, Kok M, Sweep FC, vanVliet M, VanFessem M, Meijervan Gelder ME, et al. The CYP2C19 *2 genotype predicts tamoxifen treatment outcome in advanced breast cancer patients. *Pharmacogenomics* 2011; 12: 1137–46.
68. Okishiro M, Taguchi T, JinKim S, Shimazu K, Tamaki Y, Noguchi S. Genetic polymorphisms of CYP2D6*10 and CYP2C19 *2, *3 are not associated with prognosis, endometrial thickness or bone mineral density in Japanese breast cancer patients treated with adjuvant tamoxifen. *Cancer* 2009; 115: 952–61.

69. Toyama T, Yamashita H, Sugiura H, Kondo N, Iwase H, and Fujii Y. No association between CYP2D6*10 genotype and survival of node-negative Japanese breast cancer patients receiving adjuvant tamoxifen treatment. *Jpn J Clin Oncol* 2009; 39: 651–6.
70. Xu Y, Sun Y, Yao L, Shi L, Wu Y, Guyang T, et al. Association between CYP2D6*10 Genotype and survival of breast cancer patients receiving tamoxifen treatment. *Annals of Oncology* 2008; 19: 1423-9.
71. Teh LK, Mohamed NI, Salleh MZ, Rohaizak M, Shahrin NS, Saladina JJ, et al. The risk of recurrence in breast cancer patients treated with tamoxifen: polymorphisms of CYP2D6 and ABCB1. *AAPS J* 2012; 14: 52–9.
72. Newman WG, Hadfield KD, Latif A, Roberts SA, Shenton A, McHague C, et al. Impaired tamoxifen metabolism reduces survival in familial breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 5913–8.
73. Bijl MJ, van Schaik RHN, Lam-Mers LA, Hofman A, Vulto AG, van Gelder T, et al. The CYP2D6*4 polymorphism affects breast cancer survival in tamoxifen users. *Breast Cancer Res Treat* 2008; 118: 125–30.
74. Lim HS, Ju Lee H, Seok Lee K, Sook Lee E, Jang IJ, and Ro J. Clinical implications of CYP2D6 genotypes predictive of tamoxifen pharmacokinetics in metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25: 3837–45.
75. Schroth W, Goetz M. P, Hamann U, Fasching PA, Schmidt M, Winter S, et al. Association between CYP2D6 polymorphisms and outcomes among women with early stage breast cancer treated with tamoxifen. *JAMA* 2009; 302: 1429–36.
76. Schroth W, Hamann U, Fasching PA, Dauser S, Winter S, Eichelbaum M, et al. CYP2D6 polymorphisms as predictors of outcome in breast cancer patients treated with tamoxifen: expanded polymorphism coverage improves risk stratification. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 4468–77.
77. Kiyotani K, Mushiroda T, Imamura CK, Hosono N, Tsunoda, T, Kubo M, et al. Significant effect of polymorphisms in CYP2D6 and ABCC2 on clinical outcomes of adjuvant tamoxifen therapy for breast cancer patients. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1287–93.
78. Schroth W, Antoniadou L, Fritz P, Schwab M, Muerdter T, Zanger UM, et al. Breast cancer treatment outcome with adjuvant tamoxifen relative to patient CYP2D6 and CYP2C19 genotypes. *J Clin Oncol* 2007; 25: 5187-93.
79. Rae JM, Drury S, Hayes DF, Stearns V, Thibert JN, Haynes BP. CYP2D6 and UGT2B7 genotype and risk of recurrence in tamoxifen-treated breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 2012; 104: 452-60.

80. Park HY, Choi J, Lee M, Park S, Yeo C, Lee SS, et al. Association between Genetic Polymorphisms of CYP2D6 and Outcomes in Breast Cancer Patients with Tamoxifen Treatment. *J Korean Med Sci* 2011; 26: 1007-13.
81. Seruga B, Amir E. Cytochrome P450 2D6 and outcomes of adjuvant tamoxifen therapy: results of a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat* 2010; 122: 609–17.
82. Jin Y, Haye DF, Li L. Estrogen receptor genotypes influence hot flash prevalence and composite score before and after tamoxifen therapy, *J Clin Oncol* 2008; 26: 5849-54.
83. Zhang QX, Borg A, Wolf DM. An Estrogenreceptor mutant with strong hormone independent activity from breast cancer. *Cancer Res Treat* 1997; 57: 1244-9.
84. Okishiro M, Taguchi T, Kim S, Shimazu K, Tamaki Y, Noguchi S. Genetic Polymorphisms Of CYP2D6 *10 And CYP2C19 *2, *3 Are Not Associated With Prognosis, Endometrial Thickness, Or Bone Mineral Density In Japanese Breast Cancer Patients Treated With Adjuvant Tamoxifen. *Cancer* 2009; 115: 952-61.
85. Kiyotani K, Mushiroda T, Sasa M, Bando Y, Sumimoto I, Hosono N, et al. Impact Of CYP2D6 *10 On Recurrence Free Survival In Breast Cancer Patient Receiving Adjuvant Tamoxifene Therapy. *Cancer Sci* 2008; 99: 995-99.
86. Abraham BK, Adithan C. Genetic Polymorphism of CYP2D6. *Indian Journal of Pharmacology* 2001; 33: 147-69.
87. Ingelman- Sundberg M, Sim SC, Gomez A, Rodriguez- Antona C. Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: Pharmacogenetic, pharmacoeigenetic and clinical aspects. *Pharmacology & Therapeutics* 2007; 116: 496-526.
88. Azoulay L, Dell' Anileo S, Huiart L, Dufort GG, Suissa S. Concurrent use of tamoxifen with CYP2D6 inhibitors and the risk of breast cancer recurrence. *Breast Cancer Res Treat* 2011; 126: 695-703.
89. Ahern TP, Pedersen L, Cronin-Fenton DP, Sorensen HT, Lash TL. No increase in breast cancer recurrence with concurrent use of tamoxifen and some CYP2D6 – inhibiting medications. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 2562-4.
90. Aubert RF, Stanek EJ, Yao J. Risk of breast cancer recurrence in women initiating tamoxifen with CYP2D6 inhibitors. *J Clin Oncol* 2009; 27: 508.
91. Kelly JM, Juurlink DN, Gomes T. Selective serotonin reuptake inhibitors and breast cancer mortality in women receiving tamoxifen: a population based cohort study. *BMJ* 2010; 340: 693
92. Dezentje VO, van Blijderveen NJ, Gelderblom H. Effect of concomitant CYP2D6 inhibitor use and tamoxifen adherence on breast cancer recurrence in early- stage breast cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 2423-9.

93. Lash TL, Cronin-Fenton DP, Ahern TP, Rosenberg CL, Lunetta KL, Silliman RA, et al. Breast cancer recurrence risk related to concurrent use of SSRI antidepressants and tamoxifen. *Acta Oncologica*; 49: 305-312
94. Fann JR, Thomas-Rich AM, Katon WJ. Major depression after breast cancer: a review of epidemiology and treatment. *Gen Hosp Psychiatry* 2008; 30: 112-26.
95. Loprinzi CL, Barton DL, Sloan JA. Mayo Clinic and North Central Cancer Treatment Group hot flash studies: a 20 year experience. *Menopause* 2008; 15: 655-60.