

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

32838

**MEME KANSERLİ HASTALARDA TNF - α DÜZEYLERİNİN
DİĞER PROGNOSTİK PARAMETRELERLE İLİŞKİLERİ**

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM BAKANLIĞI
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Cihat ŞARKIŞ

ADANA - 1994

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No.</u>
GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
MATERYAL ve METOD.....	28
BULGULAR.....	33
TARTIŞMA.....	36
SONUÇ.....	39
KAYNAKLAR.....	40

GİRİŞ ve AMAÇ

Kanser etiyolojisinde bir çok faktörün etkili olduğu gözlemlenmiş ve bu faktörlerin patogenezdaki rolleri araştırılmıştır. Bu faktörlerden bir kısmının bazı kanser tipleri ile yakın ilgisi görülmüştür; Testesteron ile prostat, östrojenle meme kanserinde olduğu gibi. Hormona bağlı meme kanserinin etyopatogenezinde, etkin olan hormonun östrojen olduğu hayvan modelleriyle ortaya konulmuştur. Bu süreçte tümörlerde, östrojene duyarlı reseptörler saptanmıştır. Östrojen reseptörünün tümör patogenezinde genetik yoldan etkin olarak, moleküler düzeyde etkisini gösterdiği ileri sürülmüştür. Ayrıca östrojen reseptörünün tayini, prognozu ve tedaviye cevabın belirlenmesinde bir gösterge olarak kullanılmıştır (1,2,11,12).

Kimyasal, virütik, genetik faktörlerin etkisiyle hücrelerin genetik yapısındaki değişiklikler, (protoonkogenler, onkogenler) bu hücrelerin anormal protein salgılamalarına yol açmaktadır (tümör antijenleri, tümör belirleyicileri). Bunlar hastalığın patogenezinde yeni bir yaklaşım getirirken, prognozu ve tedaviye yanıtın izlenmesinde de önemli yer tutmaktadır. Çünkü tümördeki dinamizmi yansıtmaktadırlar. Moleküler biyolojideki gelişmeler sonucu, fizyolojik ve patolojik süreçte etkin olan bir çok ajanın varlığı ortaya konulmuştur. Bu gelişmeler tümör patogenezinde yaklaşımda yeni boyutlar

kazandırmıştır. Bu moleküler ailenin bir grubunda sitokinlerdir. Bunların tümör patogeneğinde tümörstatik-tümörosit etkileri, inflamatuvar ve immünolojik süreçlerde etkinliklerinin olduğu gösterilmiştir. Tüm bu etkinlikleriyle, sitokinlerin patogenezdaki yeri, etki şekilleri, hastalığın prognozunda gösterecekleri değişiklikler, dolayısıyla hastalığın dinamiklerini ne ölçüde yansıttıkları, tedavi basamağında direkt tümöral etkileri ya da immünolojik etkileriyle tedavide ne kadar etkili olabilecekleri son yılların ilgi odağı olmuştur.

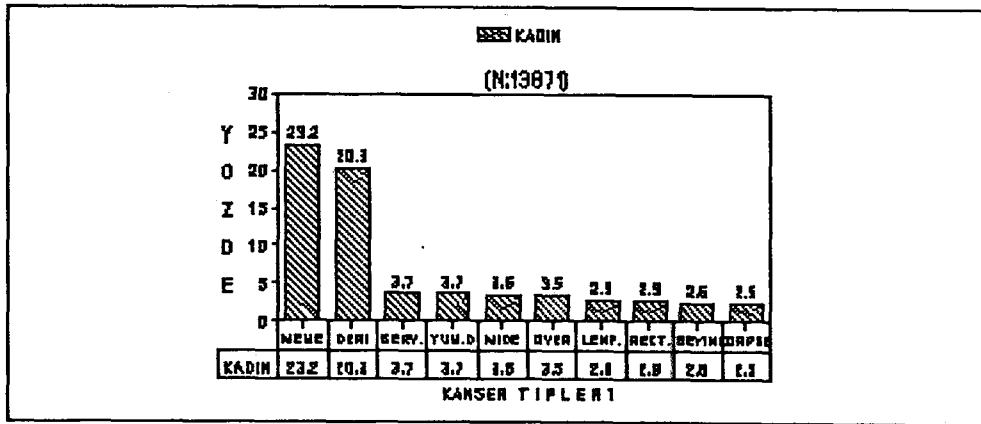
Biz de Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesinde Meme kanserli hastalarda sitokinlerden tümör inhibitör olarak bilinen TNF α 'nın preop ve postop kan düzeyleri arasındaki farkını saptamak istedik. Kontrol grubu olarak ise ayrıca aynı yaş grubundaki kadınları aldık. Kanserojenезisin bazı infeksiyonlarda olduğu gibi serum TNF seviyesini etkileyip etkilemediği sorusuna cevap bulmayı istedik.

Hastadaki tümör volumunun serum TNF- α düzeyine olan etkisini ayrıca hastalığın evresinin ve ER içeriğinin serum TNF ile olan ilişkilerini araştırdık.

Bu çalışmada mmaddi olanaksızlıklar sebebiyle hastaların immün sistemlerini detaylı olarak inceleyemedik. Ayrıca serum TNF- α düzeyinin meme kanserinde prognostik bir faktör olup olmadığını tesbit etmemizde, hastaların takip süresi kısa olduğundan mümkün değildir. Fakat hastalarımız evre I-IV arasında geniş bir spektrumda olduğundan TNF- α 'nın bir tümör prognozunun belirleyicisi olarak önemi saptanabilecektir.

GENEL BİLGİLER

Meme kanseri, daha çok kadınlarda görülen ve kadın kanserlerinin büyük bölümünü oluşturan bir hastalıktır. ABD'de kadınların kanserlerinin %27'sinin meme kanseri olduğu, kanserden ölümlerin ise kabini meme kanserinin oluşturduğu bildirilmiştir. 1986-1987 yılları arasında yıllık meme kanseri görülme sıklığı %4'dür. Türkiye'de ise 16 merkezli olarak yapılan bir çalışmada kadınlarda en çok görülen kanser türü meme kanseridir. Genel kanserler içinde kadınlarda meme kanseri yükü sürekli %20'lerde seyrederek 1985-1987 yılları içinde ikinci sırada olan meme kanserleri, 1988-1990 yıllarında birinci sıraya yükselmiştir.



Türkiye'de 1985-1990 yıllarında 16 merkezde kadınlarda ilk on'a giren kanserler

Hastalık doğası gereği uzun seyirlidir. Tanı öncesi, klinik dönem, metastatik dönem yıllarca sürmektedir. Ancak klinik takipte çok hızlı seyreden ve özellikle yaşı genç olan vakalar görülmektedir. Bu vakalarda prognoz kötüdür. Bazı olgularda ise sessiz seyretmekte, bu yüzden tanı koymak güçleşmektedir. Hastalığın uzun sürmesi, klinik olarak değişken seyredebilmesine yol açmaktadır. Tümörün birbirinden farklı çeşitli hücre klonları içermesi hastalığın gelişme hızını, metastaza yatkınlığını, tedavide kullanılan ilaçlara duyarlılığını etkilemektedir. Moleküler biyolojide ulaşılabilecek gelişmeler, belki de hastalığın prognozunun belirlenmesinde klinik değerlendirmelerden daha etkili olacaktır(1,3,28).

Etyo-Patogenez

ABD'li kadınların yaşamları boyunca Meme kanserine yakalanma riski %11'dir. Meme kanserinden ölme riski ise %3-4 olarak bildirilmiştir. Bir çok faktörün meme kanser riskini artırmakta olduğu bilinmektedir. Bu faktörler arasında ailede meme kanser öyküsü olması, üremede görülen bir takım özellikler, diyet, hormon kullanımı, radyasyon sayılabilir. Ancak bütün bu risk faktörlerine karşın, meme kanserli hastaların %70'nin bu risk faktörlerini taşımadığı gözlenmiştir (1,2,3,28).

Meme kanserinin, menarş, menapoz ve ilk doğum yaşıyla ilgili olduğu gösterilmiştir. Menarşın 12 yaşından önce başlamış olması bir risk faktörüdür. 12 yaşından önce adet görmeye başlamış olanlarda risk, 13 yaşından sonraki menarş görenlere nazaran 2 misli yüksektir. Bir başka çalışmada ise Overyal siklüsün gecikmesinin her yıl için, meme kanser

riskini %20 azalttığı bildirilmiştir (1).

Kadınların, fiziksel aktivitelerinin menstrüel siklusü değiştirmesi, meme kanseri riskini etkilemektedir. Meme kanseri insidensinin yaşla ilişkisine bakıldığında, yaşla beraber arttığı görölmektedir (1,3,6,7,28). Premenapozal kadınlarda bu oran 1/6 azalmaktadır. Bunun overyel aktiviteyle ilgili olduğu ileri sürölmektedir (17).

Menapoz yaşı, meme kanser oluşumunu etkileyen bir başka risk faktördür. 45 yaşından önce menapoz giren kadınlarda meme kanser riski normal yaşta menapoz giren kadınlara göre daha azdır (0.73) (1). 50 yaşından önce yapılan ooferektominin, meme kanser riskini azattığı bildirilmiştir. Menstrüel hayatın total süresi, meme kanser oluşumunda önemli bir risk faktörüdür. Ancak bunun mekanizması tam bilinmemektedir (1,3,6,7,28).

Meme kanserinde risk olabilen bir faktör de, ilk doğum yaşı ve doğum sayısıdır. Multipar kadınlar, nullipar kadınlardan meme kanserine yakalanma açısından daha az risk taşırlar. Nulliparlar yaklaşık 1.4 kez daha fazla risk altındadırlar. Meme kanseri üzerindeki gebeliğin etkisi ilk doğum yaşıyla yakından ilgilidir. ilk doğumunu 30 yaşından sonra yapan kadınlarda meme kanser riski, ilk doğumunu 18 yaşından önce yapan kadınlardan 2-5 kez daha fazladır (2,3).

Düşüklerin meme kanser riskini artırdığı bildirilmiştir. Düşükte görölen ve gebelikler ile ters ilişki içinde bulunan bu durumun açıklanması şöyle yapılmıştır; tüm gebelik süresince değişime uğrayan hücrelerin, malign dönüşümü çok güçtür. Gebelik düşüklikle sonlandığında, sadece kısa bir süre yüksek östrojenin etkisinde kalan meme gland doku hücrelerin-

de, östrojen seviyesinin aniden düşmesinin malign transformasyona yol açabileceği iddia edilmektedir (1,3).

Oral kontraseptifler ve postmenapozal östrojen kullanımı, çeşitli serilerde incelenmiştir. Bunların sonucuna göre bu uygulamaların, meme kanser riskini çok az oranda arttırdığıdır. Uzun dönemde, oral kontraseptif kullanan kadınlarda yapılan bir incelemede, meme kanseri riski 5 yıl kullananlarda 1.7 kat, 10 yıldan uzun süre kullananlarda ise 4.1 kat olarak saptanmıştır(1). Bir başka araştırmada ise hiçbir etkisi olmadığı ileri sürülmüştür. Bu konuyu aydınlatmak için çalışmalara gerek duyulmaktadır.

15-20 yıl süreyle, postmenapozal kadınların orta dozlarda östrojen kullanımı, meme kanser riskini küçük oranda (1.5-2) artırmaktadır. Kısa süre ile östrojen kullanmanın bir etkisi gösterilmemiştir. Uzun süre, küçük dozlarda östrojen kullanımının ise bir risk taşımadığı bildirilmiştir. Östrojen kullanırken osteoporozisi, buna bağlı fraktürü ve koroner kalp hastalıklarını, koruyucu yönünde düşünüp, değerlendirmek gerekir. Bütün bu etkiler düşünülerek, oral kontraseptiflerde östrojen miktarı azaltılmış, progestinlerle kombine verilmişlerdir.

Diyet alışkanlığının, meme kanserini etkileyen bir faktör olduğu ileri sürülmüştür. Yağ tüketimi ile meme kanseri insidansının, mortalitesinin arasında korelasyon vardır. Bu durumun genetik olmadığı, meme kanserinin daha az görüldüğü Japon kadınlarının, ABD'ye göç etmesinden sonra, meme kanser insidanslarının artmasıyla gösterilmiştir. Bunun, daha çok çevresel faktörlerin bir sonucu olduğu fikri, ağırlık kazanmıştır. Diyetin epidemiyolojik özelliği ve özel

diyetlerle meme kanser riski arasındaki ilişkiye dair çalışmalar sürmektedir. İngiltere'de bu konuda yapılan çalışmalarda; vegeteryan beslenen kadınlarla, normal rejim uygulayan kadınlar arasında meme kanser riski açısından fark bulunamamıştır. Yapılan çeşitli çalışmalarda total yağ, doymuş yağ, kolesterol, linoleik asid alınımları ve düzeyleriyle meme kanseri arasında, birbiriyle gelişen bulgular rapor edilmiştir. Uluslararası çalışmalarda, yağ alım miktarı ve kanserden ölüm araştırılmış, bu ilişki postmenapozal kadınlarda ($r=0.51$), premenapozal kadınlardan daha kuvvetli bulunmuştur ($r=0.66$) (1). Farelerde DMBA ile uyarımda yağlı diyet alanlarda meme kanseri yağsız diyet alanlardan çok daha kısa sürede gelişmiştir. Ç.Ü. Onkoloji Bilim Dalında yapılan bir çalışmada da, meme kanserli hastalarda, doymamış yağ asit kullanımı oranı düşük olarak bulunmuş olup, yağ tüketim oranları fazladır (1,3,27).

Alkol tüketimi ile meme kanseri arasında ilişki olduğu bildirilmiştir. Alkolün bu etkisi doza bağlıdır. Arasına alkol alanlarda, bu risk söz konusu değildir. Ancak sürekli alkol kullananlarda, bunun meme kanser açısından risk taşıdığı gösterilmiştir. Bu risk, 30 yaşın altındaki kadınlarda daha fazladır (1).

Birinci veya ikinci dereceden akrabalarında meme kanseri bulunanlarda, meme kanserine yakalanma riski artar. Annesinde veya kız kardeşinde meme kanseri olan kadınlarda, meme kanseri olma riski 1.5-3 kez artar. Bu kadınların akrabalarında da meme kanseri öyküsü varsa, bu risk daha da artar. Ayrıca akrabalarında, premenapozal, bilateral meme kanseri görülen kadınlar, meme kanseri açısından riskli gruba girerler.

Ailesinde meme kanseri olanlarda görülen meme kanseri riski, diğer faktörlerin oluşturduğu riskten fazla değildir. Riskin %30'dan fazla olması nadirdir (1,3,6,7,28).

Meme kanserli hastalar, tetkik edildiğinde, herediter meme hastalığı olanların oranı % 5 olarak saptanmıştır. Meme kanserli hastaların bir kısmının, ailesel kanser sendromlu hastalar olduğu saptanmıştır(1).

Sendrom	Herediter Sendromlarda Meme Kanseri ve Sendromun diğ er tümörleri
Li fraumeni Sendrdomu	Yumuş ak doku ve kemik sarkomu, beyin tümörtü lösemi, adrenokortikal karsinomu
Cowden Hastalığı	Facial trichilemmas pupillamatosıs , dudak ve ağı z boş luğ unda crıs polipleri, Akral keratoz, uterusta leiomyoma
Muir Sendromu	Bazal hücreli karsinom, iyi ve kötü huylu malign GiS tümörleri

Epidemiyolojik çalışmalarda, meme kanserinin ionize radyasyonla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Japonya'da, atom bombası atılmasından sonra meme kanserinin görölme sıklığı nın artması gibi). Bir çok kez floroskopi yapılan, mastitis için veya timuse radyasyon uygulanması, bu grupta meme kanseri görölme riskini artırır. Bu olgularda, çok uzun bir zaman sonra meme kanserinin ortaya çıktığı bildirilmiştir. Burada etkili olan bir diğ er faktörde yaştır. 40 yaşından sonra bu uygulama meme kanser riskini fazla artırmaz. Ancak adolesan çağında bu risk çok fazladır (1,3,28).

Benign meme hastalıkları ile meme kanser arasındaki ilişki, bir grup patoloğ ların histopatolojik klasifikasyonuna göre düzenlenmiştir. Buna göre; benign proliferatif meme hastalıkları ve nonproliferatif benign meme hastalıkları olarak ayrılmışlardır. Bunların meme kanserile ilişkileri gözden geçirilmiş, proliferatif meme hastalıklarında, meme kanseri geliş im riski 1.9 fazla bulunmuştur. Atipik hiper-

plazi gösteren grupta ise, bu risk 4.4 kez artmıştır. Nonproliferatif meme hastalıklarında bu risk artmamaktadır (1).

Proliferatif meme hastalığı tanısı konulduktan ilk 10 yıl sonra, meme kanser gelişme riski büyüktür. Memede atipik hiperplazi ve ailesinde meme kanser öyküsü olanlarda risk 11 kez artar. Bu hastalarda 15 yılda meme kanser riski %5'tir. Histopatolojik olarak, proliferatif meme hastalığı olanlarda, biopsi sonrası östrojen kullanımı, meme kanseri riskini artırmaz (1,3,28).

Hastaların, özellikle risk faktörleri taşıyan ve postmenapozal durumda olan kadınların, memelerini kendilerinin düzenli muayene etmesi ve 4-6 ayda bir kontrol olmaları önerilir.

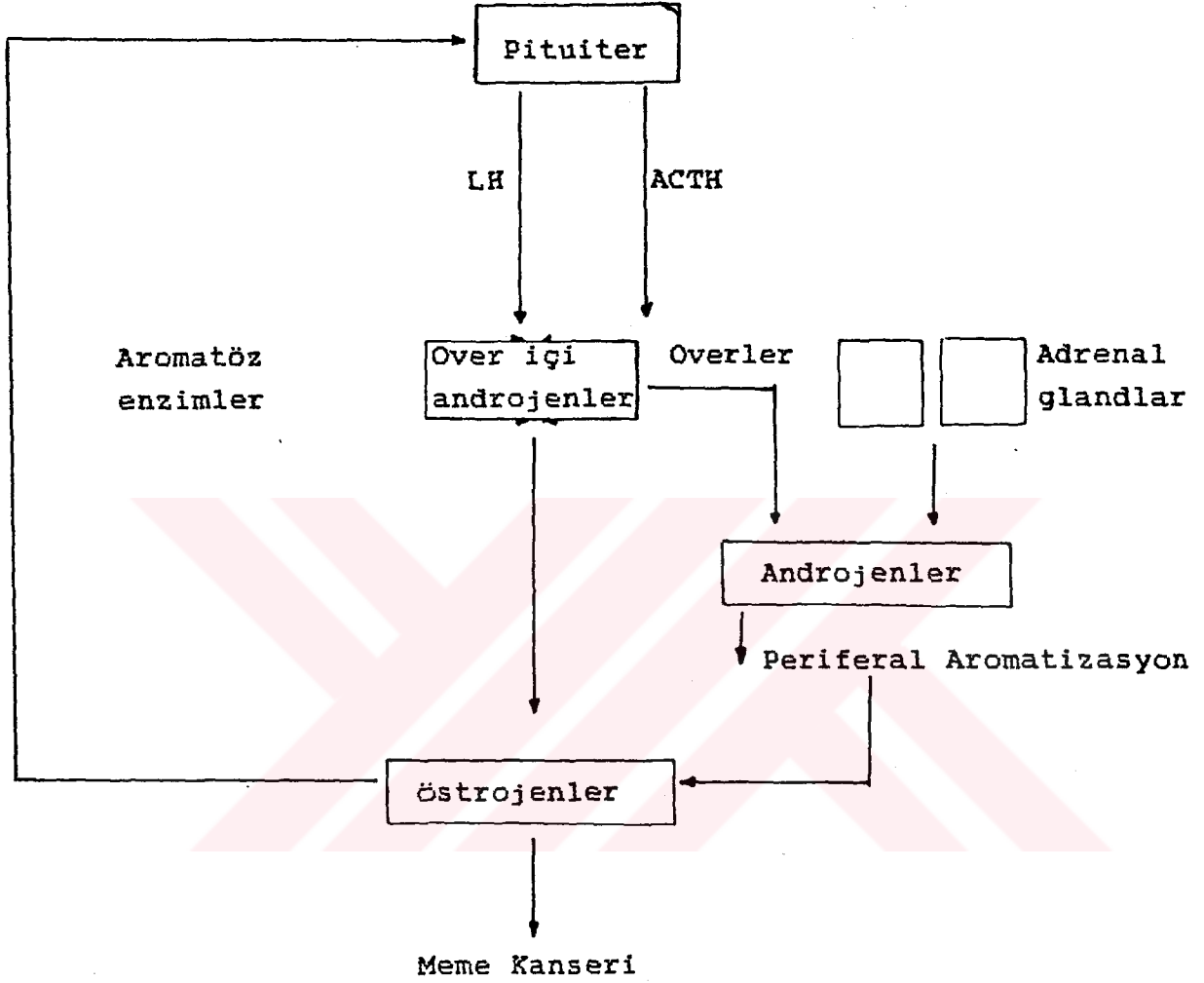
PATOGENEZ

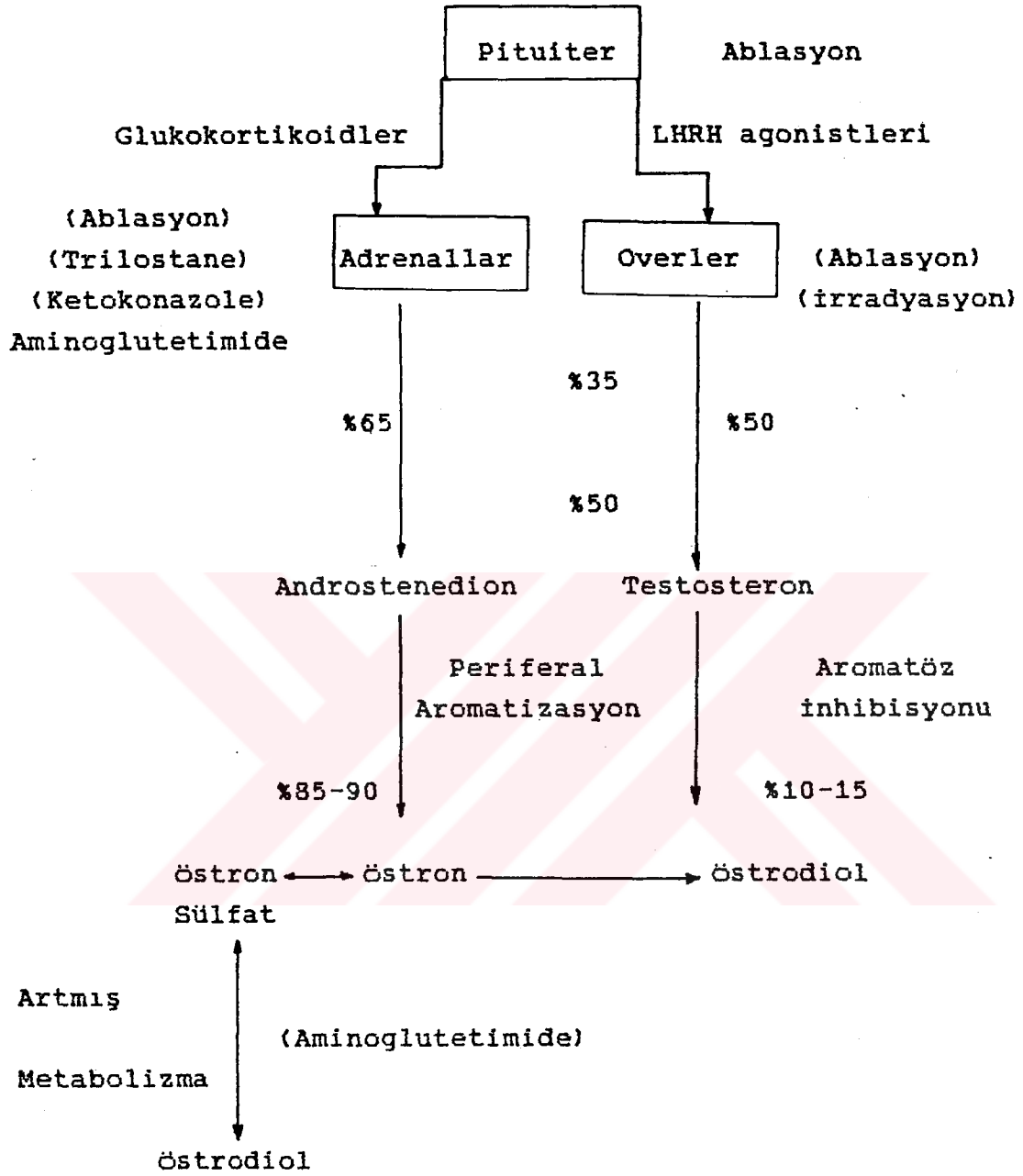
Meme kanserinin patogeneğinde bir çok faktör etkili olmaktadır. Bunlar arasında genetik predispozisyon, mutasyon, östrojen, büyüme faktörleri, bunların reseptörleri, radyasyon, kimyasal maddeleri sayabiliriz. Bu faktörlerin etkileri, hücresel düzeyde tam olarak açıklanamamıştır (1,3,11,28).

Meme kanseri gelişiminde, en önemli etkiyi gösteren hormon östrojendir. Östrojenin biyolojik, epidemiyolojik moleküler düzeydeki etkileri bunu göstermektedir (1,3,11).

Östrojen, produktive kadınlarda overlerde, teka interna ve granuloza hücrelerinde sentezlenirler. Ayrıca surrenal ve overlerden salgılanan androjenler, periferde aromatize olarak östrojen sağlarlar. Menapozda da östrojen kaynağı, bu aks üzerinden sağlanır (29).

Meme Kanserli Premenapozal Kadınlarda Östrojen Sentezi





Postmenapozal Östrojen Sentezi Yolu

Meme kanseri üzerine estrojenin etkisi, bir çok yönüyle araştırılmıştır. Neoplastik büyümenin kontrolünde de, normal meme epitelinin proliferasyon ve diferansiasyonundaki gibi, mekanizmanizma östrojence yönlendirilir. Östrojen normal ve malign meme epiteli için bir mitojendir. Hormona bağlı meme kanserinde, bu direkt etki gösterilmiştir, ancak normal meme dokusunda tam olarak gösterilememiştir(1,11).

Östrojenin karsinojenik etkisini, lokal etkili hormon ve büyüme faktörleri üzerinden yapmakta olduğu, gösterilmiştir. Bu etkiyi tam açıklamak için, modeller geliştirilmiştir. Bu modellere göre, hücre siklusunu kısıtlayan noktanın bu faktörler tarafından kaldırıldığıdır. Östrojen, ortamdaki inhibitör faktörleri aşır, diğer büyüme faktörleriyle işbirliği yaparak, bu sürece yardım eder. Bu büyüme faktörlerinin bu süreçte, östrojen tarafından modüle edildiğine inanılmaktadır (1,11).

Östrojen, ayrıca bir çok enzimide uyararak etkili olmaktadır (1,2,11). Bu enzimler, nükleik asit sentezinde yer almakta olan proteinlerdir. DNA polimeraz, C-myc, timidine ve uridine kinaz, timidilat sentetaz karbomil fosfat sentetaz, asportat transkarbomilaz, dihidroureteaz,, glukoz 6 fosfat dehidrogenaz, dihidrofolat reduktaz bunlar arasındadır. Östrojen, bu enzimleri mRNA düzeyinde etkileyerek transkripsiyonu artırır. Burada muhtemel bir ikincil mesaj sistemi, olaydan sorumlu tutulmaktadır. Ancak bu gösterilmemiştir.

Östrojen fosfotidil inositolü, diaçil gliserol ve inositol trifosfata dönüştürür.

Östrojenin aktive ettiği proteaz grubunun bir üyesi de protein kinazdır. Protein kinaz, Na^+ / H^+ porter sistemini

etkileyerek proliferasyonu uyarmaktadır (1,2,11).

Ornitine Dekarboksilaz (ODC), bir çok büyüme sürecine etkilidir. ODC, spesifik bir fosfolipazla hücre membranındaki inositoldan ayrılarak aktif hale geçer ve proliferatif olayları başlatır (11,12).

Östrojenin etkilediği bir diğer faktör ise progesterondur. Progesteronun etkisi mRNA düzeyindedir ve etkisi tümörü önleme yönündedir. Tümörün progesteron reseptör seviyesi, hastalığın seyri hakkında fikir verebilir (1,6,7,11).

Östrojenler büyümede etkili olan, ancak etkileri tam aydınlatılmayan bir çok proteinin sentezini, sekresyonunu etkilemektedir. Bu proteinler, bir çok inaktif mitojeni aktif hale getirebilirler. Örneğin, somatomedin C yi taşıyıcı proteinlerden ayırarak, aktif hale getirirler. Bu faktörlerin reseptörlerinede direkt etkilidirler (1,11).

Bu protein grubunda, hücre sitoplazmasında bulunan LDH ve katepsine benzeyen mitojenik etkili proteinde bulunmaktadır. Östrojen, hücre yüzey reseptörüne ve laminine bağlanan proteinlerin yapımını artırarak, hücrenin bazal membranına yapışmasına ve invazyonuna neden olur.

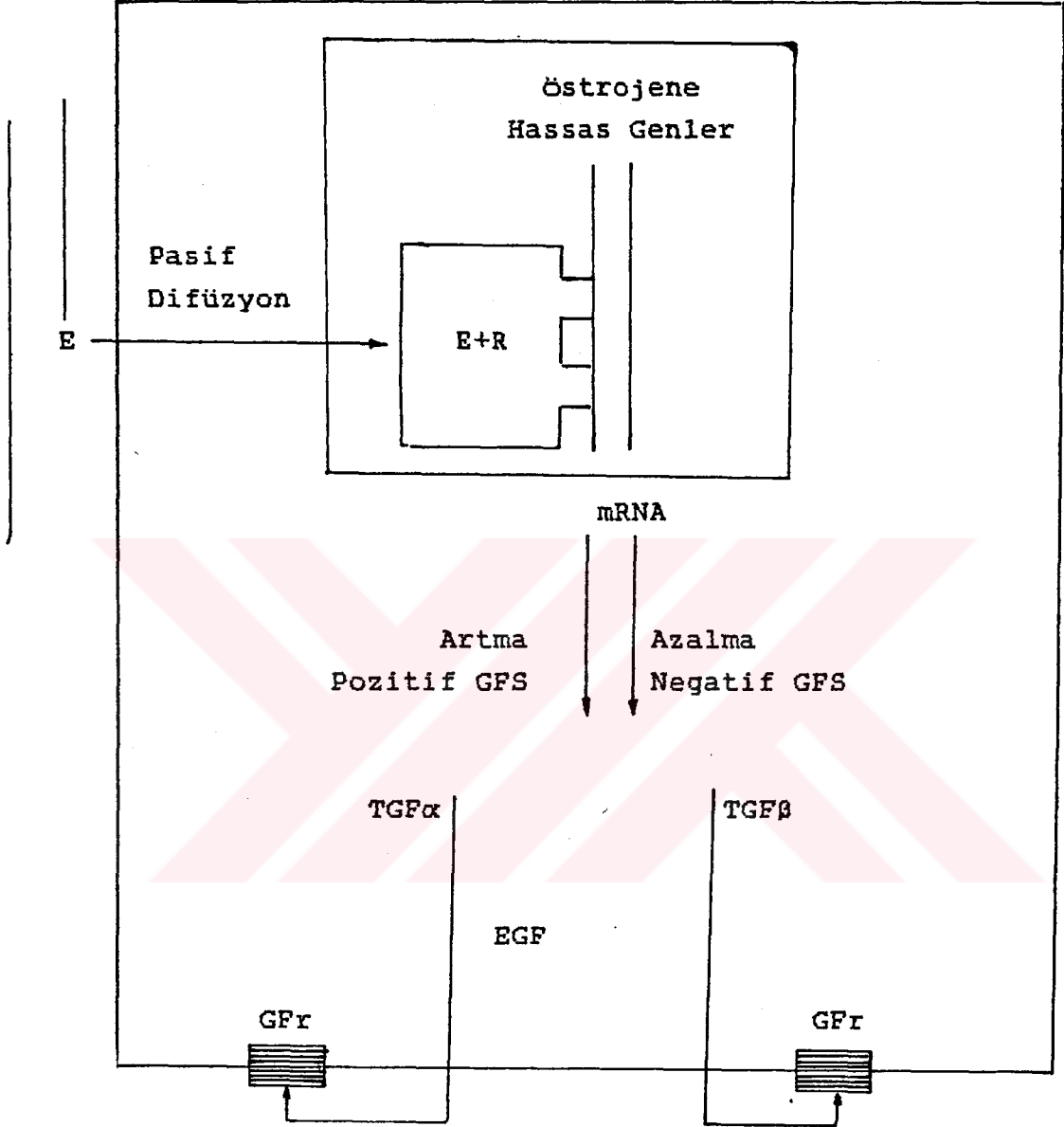
Östrojenin, görüldüğü gibi geniş bir etkileşim alanı mevcuttur. Östrojen reseptörü pozitif (ER(+)) meme kanserlerinde östrojenin bu reseptörlerle etkileşim içinde olduğu, tümörün fenotipini tayin ettiği, gen yapısını değiştirdiği saptanmıştır(11).

Meme kanserlerinin, moleküler biyolojideki gelişmeler sonucu patogenezinde rol alabilecek, yeni ajanlar bulunmuştur. Çeşitli büyüme faktörlerinin otokrin etkiyle (Transforming growth factor (TGF)), (Insulin like growth hormon

(IGF)) veya parakrin etkiyle (platelet derived growth faktör (PDGF)), (transforming growth faktör β (TGF- β)) östrojenin kontrolü altında etkili oldukları gösterilmiştir. Östrojenin bu etkisi, özellikle östrojen ER(+) tümörlerde gösterilmiştir (1,2,11)

Meme kanseri, hormonal tedaviye cevap veren insan tümörlerinden birisidir. Östrojen reseptörü pozitif olan tümörlerde, birçok büyüme faktörünün östrojenin modülasyonu altında olması, bu tedavinin izahı için kullanılır. Ancak tam olarak açıklayamaz. Çünkü, östrojenin tam bloke edildiği durumlarda görülen tümör regresyonu ile bu faktörler bloke edildiğinde görülen tümör regresyonu, aynı ölçüde bulunmamıştır. Bununla beraber tümörün östrojen reseptörü içeriği, hastalığın hormonal tedaviye cevabının takibi ve hastalığın prognozunu belirlemede çok sık kullanılmaktadır. Bu reseptör bir cytosol protein yapısındadır(1). Primer tümör ve metastazında bulunurlar. Bu reseptörü tayinde, işaretlenmiş östrojen kullanılmakta, bu östrojen daha sonra, hücrede mRNA düzeyinde saptanmaktadır. Östrojen pozitif tümörlerde, hastaların hormonal tedaviye cevap indeksi % 60-80 civarında bulunmuştur (4,6,7).

Östrojenin Etki Mekanizması



immünocytokimyasal (ICA) yöntemle tayin edilen ER, PgR içeriği ile tümör histopatolojisi, hormonal tedaviye yanıt, yaşam süresi, tümör grade'i arasındaki ilişkiler, tekrar değerlendirilmiştir. Bu sonuçlara göre, çeşitli gruplarda ICA'nın daha hassas, daha belirleyici olduğu ortaya çıkmıştır (7).

ER (ICA) stage I ve II hastalarda %53 pozitif, stage III ve IV'de %36 bulunmuştur. Stage I ve II premenapozal hastaların %30'ünde ER(+), postmenapozal hastalarda %52 ER(+) bulunmuştur. P (0.002). Yaşla doğru orantı görülmüştür.

Etnik yapıyla ilgili değerlendirmelerde, beyaz hastalarda ER(+)'liği %53, siyah hastalarda %44 saptanmıştır. (p=0.01) (7).

Tümör stage'i ilerlediğinde, östrojen reseptör pozitifliği artmaktadır. Tümör histopatolojisi ile ilgisinde, insitu, invazif lobuler karsinomda sıklıkla pozitif, medüller karsinomda ise az oranda pozitif bulunmuştur (7).

Tümörün diferansiasyonu ile ilgisinde, iyi diferansiye tümörlerde ER(+)'liği sıklıkla artmakta, iyi diferansiye olmayanlarda ise azaldığı görülmüştür (7).

Hormonal tedavinin yanıt indeksi, bu yöntemle %84-%100 arasında saptanmıştır. ER(-) tümörlerde yanıtızsızlık indeksi ise %89-100 civarında saptanmıştır(7).

Meme kanserinin tedavi yanıtının değerlendirilmesinde ve prognozunu belirlemek amacıyla, tümör belirleyicilerinden de yararlanılmıştır. Bu amaçla ilk önce, karsinoembriyojenik antijen (CEA) kullanılmıştır. Ancak CEA'nin duyarlılık ve spesifitesi az olduğu için yeni tümör belirleyici arayışları sürmüştür. Monoklonal antikolar aracılığı ile, meme tümöründe birçok tümör belirleyicisi saptanmış, bu tümör belirleyicilerine prognozu tayin etmede, ve tedaviye cevap indeksini ne kadar doğru yansıtabildikleri, araştırılmıştır (8,9,10). Bunun sonucunda, bu tümör belirleyicilerinden CA

15-3'ün, içlerinde en duyarlı olduğu saptanmıştır. CA 15-3'ün metastatik ve nüks gösteren, ileri evrede olan meme kanserlerinde yüksek olduğu saptanmıştır. Progresyon gösteren hastalarda yüksek saptandığı gibi, regresyon gösteren hastalarda da CA 15-3 düzeylerinde düşme gözlenmiştir. Bununla birlikte, progresyon gösteren bazı hastalarda düşük, stabil hastalarda ise yüksek saptanabilmiştir (8,9).

Tümör belirleyicilerinin, tek başlarına spesifite ve duyarlılıklarının, prognozu belirlemedeki eksikliklerini gidermek için kombine kullanılmışlardır (10). Bunun sonucu olarak tümör belirleyici sayısının artmasıyla, prognozu belirlemede duyarlılığın arttığı ileri sürülmüştür. Yine tümör belirleyicilerinin, tümörün strüktüründen çok dinamizmini yansıttığı, hastalığın prognozundaki değişikliği erken ortaya koyduğundan, klinisyene zaman kazandırdığı bildirilmiştir (10).

Meme kanseri patogeneğinde etkili olabilen birçok büyüme faktörü mitojenik faktör olabildiği gibi, inhibitör faktörlerde vardır. Bunlardan birisi de TNF'dir (5,11,12,13).

TNF

Hücre büyümesi ve farklılaşması ile ilgili bir çok biyolojik süreçte cytokin'lerin, modülatör ve mediatör olarak rol oynadığı kanıtlanmıştır. Bu moleküller birçok fizyolojik ve patolojik olayın regülasyonunda gereklidir. Cytokinlerin aktiviteleri çok geniş olan bir alanı kapsamaktadır. Cytokin ailesi çok geniştir. Her bir cytokinin etkisi diğerinin

etkisiyle karışmaktadır. Birbirlerini motive edebilmektedirler (1,12,13).

Bu ailenin üyelerinden birisi TNF'dir. TNF'nin ilk saptanan etkisi antitümoral etkisi olmuştur. Önce Avrupalı araştırmacıların gözlemlediği, sonra Coley'in ortaya koyduğu gibi, tümörlü hastaların streptococ enfeksiyonları esnasında klinik durumlarının düzeldiği gözlenmiştir. Coley, bu enfeksiyonlara ait lezyonlardan elde ettiği süpernatantlarla, tümör tedavisi yapmıştır. Ayrıca bu faktör, tümörlü hayvanların enfeksiyonu sırasında tümörlerinde hemorajik nekroza yol açmaktadır. Bundan dolayı da tümör nekroz faktörü denilmiştir (1,13).

TNF'nin yapılış kaynağı daha çok makrofajlar ve lenfositlerdir. Kaşektik hastalarda da izole edilerek, kaşektin ismi verilmiştir. Bakterilerin lipopolisakkaridi TNF yapımını uyarmaktadır. Bu molekül, 1970'li yıllarda tanındı. 1980'li yıllarda formüle edildi ve sentezlendi. DNA rekombinant tekniği ile üretilmektedir (13).

TNF α ve TNF β ile ilgili genler, 6. kromozomda lokalize olmuştur. TNF mRNA, 233 a.a. bir prokürsörü kodlar. 17300 dalton ağırlığında, nonglikozid, tek sülfat bağı içeren bir proteindir. Dimerik ve trimerik yapıda olabilir. Bu yapının her bir ünitesi β sandviç yapısındadır. TNF- β ve TNF- α ayrı reseptörlere eşit derecede bağlanırlar. TNF- β aktive olmuş lenfositlerce üretilir (1,13).

TNF, immünite ve inflamatuvar olaylarda rol alan mediatördür. Geniş etki alanları vardır; diğer sitokinleri

uyarırlar, antiviral etkinlikleri vardır, kemik resorpsiyonu yaparlar, angiogenezi ve fibroblast büyümesini uyarırlar. TNF'yi BCG aşısı Coryne Bacterium Parvum, Brucella Abortus INF τ uyarmaktadır (1,2,5,13,17,22,23,25).

Prostaglandinlerin TNF α üzerine, baskılayıcı etkileri bulunur. Glikokortikoidlerde TNF transkripsiyonunu baskı- larlar. Periferik kandaki monositler ve doku makrofajları, değişik uyanlarla uyarıldığında, farklı düzeylerde TNF salgırlar. Alveoler makrofajlarda TNF düzenlenmesi değişik şekilde olur. Ki bunlar, prostaglandinler ve glikokortikoid- lere dirençlidirler (1,2,13).

Değişik hücre türlerinde TNF reseptörleri bulunur; mak- rofajlar, lenfositler PMN, fibroblastlar, endotel hücreleri, yağ hücreleri, myeloblastlar, tümör hücreleri gibi. Reseptör sayısı ile hücrenin TNF'ye duyarlılığı arasında bir ilgi bu- lunmamıştır. Sitolitik etkisi daha çok reseptör sonrası ile ilgilidir. TNF ve reseptörünün hücreye internalizasyonu gerekli gibi görülmektedir. TNF ve IL-1 etkileri birbirine karışabilir. Ancak reseptöre bağlanmada yarışmazlar (1,2,13,14).

Tümör üzerine Etkisi: ilk bilinen etkisi, tümörlere karşı olan etkisidir. Sitotoksik etkileri, invitro L929 ve U937 hücrelerinde gösterilmiştir. Bu etki, meth A sarkoması olan farelerde de gösterilmiştir. TNF'nin DNA rekombinant tekniği ile elde edilmesiyle, tümör üzerindeki etkilerinin anlaşılması kolaylaşmıştır. Bu molekülün sitotoksik ve

sitolitik etkilerinin, değişik tümör hücrelerinde ortaya konması onun etki alanının genişliğini göstermektedir. Bunun tümörün reseptör sayısı ve afinitesi ile ilgisi yoktur. İleri sürülen uyarının iletilmesinde bir eksiklik sonucu hücre duyarsızlığının ortaya çıkmasıdır. TNF'ye duyarsızlık, onun reseptör sayısı ve afinitesi ile ilgili değil, onun reseptör sonrası süreciyle ilgilidir. TNF'nin sitolitik etkisi onun araşidonik asidin prostaglandinlere dönüşürken oluşan serbest radikaller ve lizozomlar aracılığı ile olmaktadır. TNF'ye direnç gösteren hücrelerde TNF yapımı artar. Tümör hücreleri TGF ile TNF'den korunmaktadır.

Bulgular, TNF'nin tümörü tahrip ettiği yolundadır. invitro olarak neoplastik hücrelere litik etkisi olmasa da neoplastik hücrelere indirekt etki gösterdiği öne sürülmüştür. invitro olarak, meme kanseri hücre klonlarında TNF α 'nın etkisi ortaya konmuştur. TNF α 'nın hücre klonlarının büyümesini inhibe ettiği, DNA sentezini durdurduğu gözlenmiştir. Bu etkisi, doza bağımlı olarak ortaya çıkmıştır. Hücrelerin, TNF- α etkisiyle hücre siklüsünün G₁ fazında yığıldığı görülmüştür. TNF- α 'nın etkinliğinin, postreseptörel süreçlerde ilişkisi araştırılmıştır. Önceleri TNF α 'nın inhibisyonu esnasında, protein kinazın iki kat arttığı bulunarak inhibisyonun sorumlusu tutulmuştur. Ancak protein kinazın inhibisyonuyla TNF α 'nın inhibitör etkisinin devam etmesi, protein kinazın etkin olmadığını göstermiştir. Bu etkinlik, protein kinaz olmadan veya başka yollarla gerçekleşmekte olabilir. CAMP'nin arttığı durumlarda TNF α 'nın inhibitör etkinliğinin

arttığı görülmüştür. Bu yönde çok çeşitli çalışmalar devam etmekte ve aydınlatılmaya çalışılmaktadır (1,3,19,20,22, 24,30,32,33).

Tümör nekrozu vaskülarize neoplazilerde görüldüğünden, bu nekrozun TNF'nin tümör dolaşımını etkileyerek oluşturduğu sanılmaktadır. Meth A sarkomu ile oluşturulan modelde, TNF'nin tümörün damarsal yapısına etki ederek, iskemi ve nekroza yol açtığı gösterilmiştir. Meth A sarkoma ve WEHI 164 tümör hücrelerine TNF verildiğinde; Meth A sarkomada rölatif duyarsızlık saptanırken WEHI 164 hücrelerinde duyarlılık bulunmuştur (16,24). I^{125} ile işaretli TNF'nin doku dağılımında TNF'nin çok az bir kısmının Meth A sarkomaya bağlandığı görülmüştür (13).

intraperitoneal implante edilen Meth A sarkomalı farelerde, TNF'nin yaşamı uzatmadığı görülmüştür. Meth A sarkoma yerine değişik hücre dizileri aynı şekilde implante edilip TNF uygulandığında, aynı sonuç elde edilmiştir. Ancak IFN γ 'nın, bu hücrelere karşı etkili olduğu görülmüştür. Burada TNF'nin tümöre direkt bir etkisinin söz konusu olmadığı, indirekt etkili olduğu sonucu çıkarılmıştır (16).

Meth A sarkoma subkütan implante edilip değişik yollarla ve dozlarda TNF uygulanmıştır. Bu tümörde doza bağlı olarak, gerileme saptanmıştır (Fig.2). Bu çalışmada, tümöre karşı özgün bir immünite geliştiği gözlenmiştir. Bu farelere rejekte edilen tümör, yeniden implante edildiğinde rejeksiyon görülmektedir. Aynı farelere başka bir hücre veya tümör implante edildiğinde, bu rejeksiyon görülmemektedir. Bu fare

serumlarının incelenmesinde, büyük çoğunluğunda tümöre karşı reaksiyon saptanmıştır. Tümörlerin TNF ile tedavi sonrası histopatolojileri incelendiğinde, tümörde diffüz olarak dejenerasyon ve nekroz saptanmıştır. Küçük arter ve venlerde trombozis görülmüştür. Bütün bunlar, TNF'nin tümöral etkisinin damarsal yapıya etki ederek indirekt yoldan olduğunu göstermektedir (13,16).

TNF myeloid lösemilerde, lösemik hücreler için selektif toksik etki gösterir. Akut myeloid lösemi hücrelerinin klonik transformasyonu, KML blastik krizinde blastlar, kronik myelomonositer lösemide ise lösemi hücreleri TNF tarafından baskılanır. Bu verilere dayanarak, TNF'den tedavi amacı ile yararlanma fikri gelişmiştir. Doz yanıt ilişkisi gözönüne alınarak, tedavi cetvelleri hazırlanmıştır (13,16).

TNF, büyüme faktörü olarak da etki edebilmektedir. Bu etki Hairy Cell lösemide, kronik B hücreli malignansilerde görülmüştür. TNF, mRNA'yı uyarmakta ve proliferasyonu başlatmaktadır (otokrin etki). TNF ile INF γ Hairy cell lösemi hücrelerinin naturel killer hücrelere duyarlılığını artırır. Bu işlemde INF γ TNF reseptörünü artırarak değil, post reseptör düzeyde etkileyerek yapmaktadır (13).

inflamasyon Etkisi: inflamasyonun başlangıcında, gelişiminde, iyileşiminde hücreler arası iletişim önemli yer tutar. Lenfokinler, hücre sel hemostazisi etkiler. TNF, çeşitli sitokinler arasında anahtar rol oynar. Lokal antienflamatuar etki oluşurken, damar endotelinde TNF'nin etkisiyle değişik-

likler oluşur. Bu etki önemlidir. TNF anjiogenezisi uyarır ve endotel hücrelerin yanıtını değiştirir. Endotel hücrelerinin, nötrofil kemotaksik faktör salgılamasını sağlar. Transendotelial nötrofil akışını sağlar. Endoteldeki Class 1 antijenlerini artırır. Ayrıca prokoagülanları artırır, thrombomodülünün sentezini en aza indirir. Böylece, damar endotelini koagülan yüzeye çevirir (thrombomodülün protein C ve protein S'i bağlayarak koagülasyonu önler). inflamatuvar hücrelerin de endotele yapışmasıyla kan akımı kesilebilir ve nekroz gelişebilir (1,2,13,20,25).

TNF, lokal olarak nötrofilleri toplayarak inflamatuvar yanıtı başlatabilir. TNF kemotaksik etkiye sahiptir. Zararlı ajanlara karşı, direnç oluşturmak amacıyla fagositik hücreleri toplar. Bu hücrelerin fagositik özelliklerini süperoksidasyon yapımını artırarak güçlendirir. immün süreç bir kez başladımı TNF, bu etkileri sürdürür (1,2,13,17,18).

TNF, ayrıca hipotalamusta prostoglandin E₂ ve IL-1 yapımını başlatarak, vücut ısısını artırır. PGF, yanıt olarak artar. Prostosiklin, osteoklast aktive edici faktör, hemopoietik growth faktör (G-CSF, GM-CSF) aktive olur. Fibroblastların büyümesini ve çoğalmasını uyarır. INF β IL-1, CSF, ciltteki fibroblastları, sinovyal dokuyu, PGF ve kollagen yapımını uyarır (1,2,13).

TNF, endotoksik şoktan sorumludur. Rekombinant DNA tekniği ile elde edilen TNF'lerin etkisinde, doku yıkımı yoktur.

TNF'nin farelere yüksek doz infüzyonunda; diyare, pilo

ereksiyon, hemokonsantrasyon, şok, metabolik asidoz, hiperglisemi, takiben hipoglisemi, lökostazis, ödem, iskemi, değişik organlarda hemorajik lezyonlar görülür. TNF'nin bu etkileri, TNF'ye karşı geliştirilen antikorlarca insan olmayan primatlarda önlenebilmiştir. TNF, akciğerin septik yaralanmasına pulmoner geçirgenliği artırarak yardım etmektedir. Tripanazomlu tavşanlarda, lipaz baskılandığından trigliseridler yükselmiştir (1,2,13,16).

IL-1 sentezi, Fc reseptör yapımını, klas I antijenlerinin yapımını, PGF_2 ve prostaglanadin E_2 yapımını artırır. TNF, lenfositler uyarıldıktan sonra etki eder. Çünkü lenfositler, uyarıdan sonra reseptörlerine sahip olurlar. T lenfositlerini doza bağlı olarak uyarırlar. B lenfositlerinin farklılaşmasını ve proliferasyonunu yönlendirir. Lenfoblastik null lösemik hücrelerinin salgıladığı, IL-2R'yi artırır. Yüksek konsantrasyondaki TNF, T lenfositlerinden IFN γ salgılatır. TNF ile IL-2, LAK hücrelerinin oluşumunda rol oynarlar (1,7,13,20).

TNF'nin antiviral etkisi de vardır. Bu etkinin, INF β üzerinden olduğu ileri sürülmüştür. Ancak virüsle enfekte hücrelere direkt etkisi gösterilmiştir (Herpes enfeksiyonunda olduğu gibi) (1,2,13,23).

TNF düzeyi bir çok hastalıkta artar. Transplantasyon rejeksiyonunun aktif fazında, barsak ve cilt lezyonunun olduğu dönemde artar. Serebral malaryada, BCG'nin granülasyonlarında yüksek saptanmıştır. Mürin fibroblastlarında, TNF'ye karşı antikorlarca, TNF'nin tüm etkileri, ortadan kaldırıl-

miştir. Buradan yola çıkarak, bu antikörlerin tedavideki rolleri gündeme gelmiştir (13).

Meningokok enfeksiyonlarında TNF yüksek saptandığında, kötü prognoza işarettir. Yersinia artriti geçirenlerin monositleri uyarıldığında, normal insanların monositinden fazla TNF salgılar. Sarkoidoz, parazitoz, bazı malignansiler, otoimmün hastalıklarda TNF yüksek saptanır. Kanserli hastalarda rastlanan kemikiliği nekrozundan, TNF sorumlu tutulmuştur. AIDS'li hastalarda da TNF yüksek saptanır. Bu yüksekliği, AIDS'le beraber görülen kaşeksiye bağlayanlar bulunur. Bu hastaların, bronkoalveoler lavajlarındaki makrofajlarda TNF artmıştır (13).

Tavşan serumunda TNF'nin yarılanma ömrü 6-7 dakika olarak saptanmıştır. İşaretli TNF'nin dokulara dağılımı; karaciğer, cilt, böbrekler, GIS'deki lenfositlerde tutulduğu görülmüştür.

TNF ve INF γ ile çalışmalar over kanserinde etkili bulunmuştur. Mürin sarkomasının tedavisinde de gerileme gözlenmiştir. Bunlar TNF'nin tümör üzerine olumlu etki yaptığını gösterir. insanda TNF'nin antineoplastik ajan olarak kullanımı araştırılmakta, bunun için çeşitli yöntemler denenmektedir. Bir çalışmada 5 günlük infüzyon şeklinde, 1-400 ug/m² dozunda, ortalama 200 ug/m² dozunda verilmiştir. Bu esnada yorgunluk, ateş, kusma, başağrısı, şiddetli hipotansiyon, sıvı retansiyonu, sertlik, diyare görülür. Hepatit saptanmamış ancak transaminazlar yükselmiştir. Trombositopeni, lökopeni, saptanmış ancak, tedavi kesildiğinde kaybol-

muştur. Febril reaksiyon indometazin ve parasetamol ile azalmıştır. Araştırmacılar bu tedaviyi hipotansiyonlu, hipertansiyonlu, KOAH'lı hastalarda önermemektedir (16).

Bu çalışmaların sürdürülmesi için enjeksiyonların ve dozların standardize edilmesi gereklidir. Şimdiye kadar alınan sonuçlarda, lenfokinlerin küçük etkileri görülmüştür. Tek başına TNF ile yapılan kemoterapi ile, kolon, pankreas, B hücreli lenfoması olan hastalarda, düşük oranda, kısmi cevaplar elde edilmiştir. Bu sebeple, TNF'nin tek ajan olarak değil de, tümöre karşı immün sistemi desteklemek amacıyla, diğer immün modülatörlerle birlikte kullanılması önerilmektedir. TNF'nin etkisi, diğer sitokinlerle potansiyelize olmaktadır. IL-2 ile TNF sinerjik etkileşim gösterir ve LAK hücrelerini aktive ederler. Suboptimal düzeyde stimüle edilen lenfositlere, TNF ilave edildiğinde, IL-2 10 kat fazla etki gösterir. Bu kombinasyon yan etkileri azaltır. T lenfositlerinin sitotoksitesini artırır (16,22,23).

TNF'yi, malign hastalıkların tedavisinde rutin olarak kullanmaya başlamak için henüz erkendir. Bu konuda pek çok merkezde, farklı tümörlerle ilgili klinik ve laboratuvar araştırmalar sürmektedir.

MATERYAL ve METOD

Bu çalışmaya, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı ve Onkoloji Bilim Dalı'na başvuran 30 meme kanserli hasta alınmıştır. Bu hastaların ikisi erkek, 28'i kadındı. Kadınlar evli ve çocukluydu. 16 kadın menstürüasyon görmekteydi. 12'si ise postmenapozal dönemde idi. Yaş ortalaması 46.60 ± 9.81 olarak saptandı. Kontrol grubu ise 29 kişi olarak alındı. ikisi erkek 27'si kadındı. Kadınlar evli ve çocukluydu. Kadınların 16'sı adet görmekte, 11'i postmenapozal dönemde idi. Kontrol grubunun yaş ortalaması 44.13 ± 9.81 olarak saptandı. Hasta grubu ile kontrol grubunun yaş ortalamaları arasında uyumsuzluk yoktu.

Hastaların hepsine hikaye ve fizik muayeneyi takiben akciğer grafisi, kemik sintigrafisi, üst-alt abdominal ultrasonografi yapıldı. Rutin biyokimyasal ve hematolojik değerlendirmenin yanısıra tümör işaretleride (CEA, CA15-3) periyodik olarak araştırıldı.

CEA: Hasta CEA serum düzeylerinin saptanmasında, Cobos Core CEAEIA kitleri kullanıldı. Cobos Core CEAEIA sandwich prensibiyle yapılan solid faz enzim immünoassay temeline dayandırılmıştır. Bu ölçümlerde, fare hibridoma tekniğiyle CEA'ya karşı oluşturulan yüksek afiniteli monoklonal antikor-

lar kullanıldı. İlk etapta monoklonal anti CEA antikorlarla kaplı boncuklar ve birleştiginde peroksidaz salgılatan ikincil fare anti-CEA antikorlarıyla inkübe edildi. Bu işlem esnasında CEA, eş zamanlı olarak, boncukta bağlanmış bulunan monoklonal antikorlar ve enzimle birleşmiş monoklonal antikorlarla reaksiyon verir. CEA molekülündeki belli antijenik kısımlar, yüksek spesifikliğı olan bu iki antikorca ortaya çıkarıldığından, boncuk ve konjugat ile eş zamanlı olarak inkübe edildi. Yıkama işleminden sonra, boncuklara direkt bağlanan anti-CEA peroksidazın direkt değerlendirilmesini renk oluşturarak sağlayan enzim substrate solusyonuyla inkübe edildi. Bu reaksiyonda oluşan renk 450 nm'de okundu. Sonuç spesmendeki CEA konsantrasyonuyla uygundur (Cobos Core CEA-EIA. Schweiz Hoffman La Roche A.G. LH-4002 Basel, Tel: (061) 688 555).

CA15-3: Kantitatif CA15-3 ölçümü, forward sandwich prensibine dayanmaktadır. Monoklonal antikör 115D8 ile kaplanmış boncuklar, spesmen veya uygun standart ve kontrollerle inkübe edilir. Bu esnada spesmendeki CA15-3 solid fazda antikorlarca bağlanır. Spesmendeki bağlanmayan materyal, sıvının aspirasyonu ile uzaklaştırılır ve boncuklar yıkanır. İkinci adımda boncuklar tekrar inkübe edilir, 125 I ile işaretlenmiş monoklonal DF3 boncuklarla, birinci boncuklara bağlanan CA15-3 belirlenir. Bağlanmayan antikörler, yıkanarak uzaklaştırılır. Bağlanan radyoaktivite, ki gama counter kullanılarak ölçülebilir, spesmendeki CA15-3 konsantrasyonuna uygundur.

Preoperatif ve postoperatif TNF α düzeyini saptamak amacıyla, hastalardan kan örnekleri alındı(30). Kan örnekleri alınırken, TNF α düzeyinin yanlış sonuç vermesine yol açacak bir takım faktörler göz önüne alınarak, gerekli önlemler alındı. Bu nedenle, kan örnekleri steril şartlarda alınıp, koagüle olduktan sonra, süratle serumlarını ayrıştırılıp kuru tüplere konulup -20°C 'de muhafaza edilmek amacıyla saklandı. Aynı sayıdaki, yaş grupları uygun kadınlardan, kontrol grubunu oluşturmak amacıyla aynı yöntemlerle kan örnekleri alınıp saklandı. Bu örneklerin hepsi, aynı anda çalışıldı.

TNF - α

1. Çalışma solusyonlarının hazırlanması

- Standartlar: Her bir standart 2 ml bidistile su ile sulandırıldı ve kortekslendi.
- Yıkama solüsyonu: %20'lik Tween-20 solüsyonu 400 ml distile su içinde dilüe edilip ve homojen hale gelmesi için magnetik karıştırıcıda karıştırıldı.

2. Monoklonal anti-TNF alfa ile kaplı tüplere, standartlar ve numuneler (hasta ve kontrol serumları) 200 μ l miktarlarda kondu.

3. Bunun üzerine 50'şer μ l tracer I^{125} ile işaretli anti TNF- α ilave edildi ve el ile 1-1 dk. hafifçe çalkalandı.

4. Oda ısısında, 16-20 saat (1 gece) inkübasyona bırakıldı.

5. Bu süre sonunda, tüplerdeki sıvılar aspire edildi.

6. Bütün tüplere 2 ml yıkama solüsyonu kondu ve 2 dk.

bekletildikten sonra aspire edildi.

7. Madde 6'daki işlem bir kez daha yapıldı.

8. Her bir tüp gamma counter'da 60 sn. süreyle okundu.

9. Daha sonra standartların konsantrasyonlarına karşı okunan cpm değerleri kullanılarak, standart grafik çizildi ve sonuçlar pg/ml cinsinden elde edildi.

Madde 9'daki grafik çizme ve sonuçları bu grafikten elde etme işlemini, Merkez Lab.daki gamma counter cihazı otomatik olarak yaptığı için, bizim ayrıca grafik çizmemize ve sonuçları hesaplamamıza gerek kalmadı.

TNF α 'nın epitoplarına karşı antikörlerin reaksiyonunun sonucu, ölçülen immünoradyometrik olarak saptanmaktadır. Bunun için TNF α -iRMA kiti kullanılmıştır (Medgenix TNF α iRMA) (Medgenix Diagnostic CA B 6220. Belgium Tel: 32171/829595, Fax 32/71/81.03.00).

Bu hastaların, formalin ile fikse edilmiş ve parafine gömülmüş cerrahi spesimenlerde elde edilen hematoksilen eozin kesitler, yeniden değerlendirilerek, immünohistokimyasal çalışma için, uygun parafin bloklar seçildi. Bu bloklardan elde edilen 5 μ kalınlığındaki kesitlere, poliklonal anti-östradiol (Biogenex-PA 038 5P) Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) metod ile kullanıldı (Universal kit Str. Avifen Multilink HRP-LP 500-5L). Bu belirleyicinin doku düzeyindeki ışık mikroskopik değerlendirilmesi, iki ayrı histopatolog tarafından yapıldı.

istatistiki Değerlendirme:

istatistiki değerlendirme SPSS/PC istatistik paketi kullanılarak yapıldı. Preoperatif ve postoperatif dönemde araştırılan verilerin, olgulara göre dağılım ve bu dağılımdaki farklılıklar, χ^2 testi kullanılarak değerlendirildi. Eğer $p > 0.05$ ise farklılık önemli kabul edildi. Araştırılan parametreler preoperatif ve postoperatif dönemdeki miktarları, ortalama \pm standart deviasyon olarak belirlendi. Bu ortalamaların farklı gruplarda gösterdiği değişimlerin önemi "student T" testi kullanılarak saptandı.

Farklı parametrelerin birbirleriyle ilişkileri araştırılırken ise varyans analizi yapıldı. Yine P değeri 0.05'in üzerinde ise ilişkiler önemsiz olarak yorumlandı.

BULGULAR

Hastaların preoperatif TNF α ortalama değeri 15.91 \pm 20.35 pg/ml bulundu. Kontrol grubunun TNF- α ortalama değeri ise 22.39 \pm 41.32 pg/ml olarak saptandı. Her iki grubun TNF- α değerleri arasında anlamlı bir sonuç bulunmadı (T=0.76, p>0.05). Hastaların postoperatif TNF-ortalama değeri 25.25 \pm 40.5 pg/ml olarak saptandı. Bununla kontrol grubunun ortalama değeri arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı (p<0.798) (T= 0.27).

Hastaların preoperatif ve postoperatif TNF- α değerleri karşılaştırıldı, ancak anlamlı bir sonuç elde edilmedi (p<0.266) (T= -1.13). Hasta grubu içerisinde, 3 hastanın metastazi saptandı. Bu hastalar istatistiksel olarak grup oluşturmayacak kadar az olduğundan istatistiksel işlem yapılamadı. Ancak bunların TNF- α seviyeleri diğer gruptan çok fazla yüksek olarak saptandı.

Hastaların östrojen reseptör tayini yapılmış, bunların 9'unda östrojen reseptörü (ER) negatif saptanmış, 21'inde pozitif saptanmıştır. Bu açıdan TNF- α seviyeleri değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç çıkmamıştır.

Preoperatif değerler; ER(-) için TNF- α ortalaması 36.44 \pm 12.14, ER(+) için TNF- α ortalama değerleri 12.43 \pm 5.22

saptandı. Student T testi uygulandı ($p= 0.370$, $T= 0.95$).

Postoperatif değerler; ER(-) için ortalama değer 23.72 ± 30.30 , ER(+) için 25.90 ± 44.00 saptandı. Student T testinde, $p=0.878$, $T=-0.16$ çıktı.

Hastaların tümör büyüklüğü, lenf nodu statüsüne göre TNF- α seviyeleri değerlendirildi. Buna göre hastaların 16'sı T^3 , 12'si T^2 , ikisi T^1 olarak değerlendirildi. Buna göre preoperatif ve postoperatif TNF- α seviyelerinin tümör büyüklüğü ile arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla varyans analizi uygulandı. Ancak anlamlı bir sonuç bulunmadı ($p> 0.05$).

Lenf nodu statüsüne göre hastaların 12'si N^0 , 10'u N^1 , 8'i N^2 olarak saptandı. Preoperatif ve postoperatif TNF- α seviyeleri bunlar gözönüne alınarak varyans analizi uygulandı. Ancak anlamlı bir sonuç çıkmadı ($p>0.05$).

Bu hastalarda diğer tümör belirleyicilerinden CEA ve CA15-3 seviyeleri de ölçüldü. TNF- α düzeyleri normal olan 26 hastanın preoperatif CA15-3 değerleri 16 olguda yüksek (ortalama 62.4 ± 10.2 U/ml), 10 olguda ise normal seviyede (ortalama 11 ± 5.6 U/ml) saptandı ($p=0.001$). Bunlardan postoperatif dönemde sadece 2'sinde CA15-3 daha da yükselirken (ortalama 74.1 ± 8.3 U/ml), 24'ünde önemli ölçüde düştü (ortalama 14.3 ± 8.2 U/ml) ($p<0.02$). CEA seviyeleri preoperatif dönemde 11 olguda yüksek (ortalama 45 ± 14.4 ng/ml), 15 olguda ise normal sınırlarda (ortalama 1.6 ± 0.7 ng/ml) saptandı. Postoperatif dönemde ise preoperatif olarak yüksek bulunan 11 hastanın 2'sinde yüksek kalırken (ortalama 30.8 ± 4.6), diğer 24 hastada ise normal seviyelerde (ortalama 1.8 ± 0.2) saptandı ($p=0.03$).

TNF- α seviyesi yüksek olan ve hematogen metastazı olan hastalarda CA15-3 seviyesi ortalama 64.9 \pm 5.7 U/ml, CEA seviyesi ortalama 34.2 \pm 64 ng/ml saptandı. Postoperatif seviyeleri ise ortalama CEA: 29.4 \pm 7.2 ng/ml, CA15-3: 61.4 \pm 49 U/ml saptanmış olup önemli ölçüde duyarlı bulundu. Metastaz gelişmeyen tek hastada ise preoperatif CA15-3: 49 U/ml, CEA: 19.2 ng/ml iken postoperatif evrede CA15-3: 21.2 U/ml, CEA seviyesi 1.8 ng/ml düştü. Preoperatif TNF- α seviyesi yüksek bulunan hasta sayısı az olduğundan, burada istatistikî bir değerlendirme yapmak mümkün olmadı.

TARTIŞMA

TNF- α seviyesinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu, metastatik hastalarda yükseldiği, provakatif TNF- α 'nın salınımının azaldığı ve spontan TNF- α 'nın salınımında değişme olmadığı gibi birbirleriyle gelişen çeşitli araştırmalar mevcuttur. Hatta solid tümörlü hastalarda TNF- α düzeyinin araştırıldığı birçok çalışmada TNF- α 'nın hiç saptanamadığı veya yüksek saptandığı ya da metastazlarda yükseldiği bulunmuştur. TNF- α 'nın düzenli bir reaksiyon vermediğini göstermektedir (26,30,31,32,33).

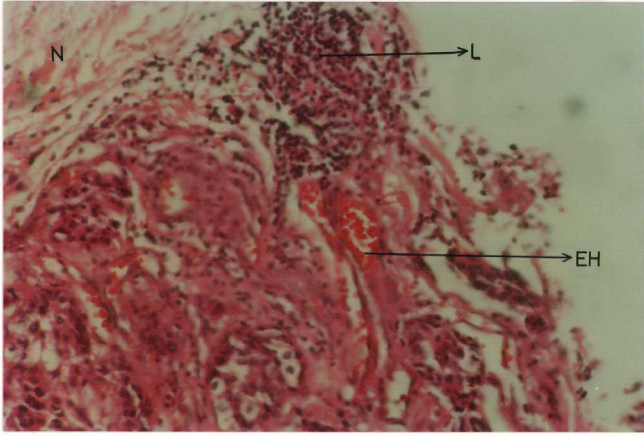
Bizim grubumuzda ise, özellikle postoperatif evrede hematojen metastaz gelişen 3 olguda ve postoperatif takibin 10. ayına kadar metastaz gelişmemiş olan ve halen hastaliksız yaşayan bir tek olguda preoperatif TNF- α yüksek bulundu. Metastazla ilgili olarak yüksek TNF- α bulunması Ardizzoia ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmayla da uygunluk göstermektedir (31).

Metastatik hastalığı gelişen 3 olguda, postoperatif 1. aydaki TNF- α seviyeleri daha da yükseldi. Preoperatif TNF- α seviyesi yüksek bulunan diğer hastada ise, henüz metastaz gelişmedi. Fakat bu olguda da, ilk 3 olgu gibi preoperatif

serum CA15-3 ve CEA seviyeleri de yüksek olup, postoperatif dönemde metastatik hastalığı gelişenlerde bu tümör belirleyicilerinin serum düzeyleri yüksek kaldığı halde, bu hastada CEA ve CA15-3 normal sınırlara indi ($p < 0.01$). Serum TNF- α seviyesi, kontrol grubundan yüksek olmayan diğer 26 hastada ise, preoperatif değerlendirmede 16 olguda CA15-3, 10 olguda hem CEA hemde CA15-3, sadece tek olguda CEA düzeyi yüksek, 9 olguda ise her ikisi de normal sınırlarda bulundu.

Postoperatif dönemde ise 10 olgunun 2'sinde, her iki tümör belirleyicisinin de seviyelerinin yüksek kalması ve diğer tüm olgularda normale dönmesi, TNF- α ile diğer tümör belirleyicileri arasında bir ilişki olmadığını göstermektedir.

Öte yandan TNF- α düzeyi yüksek olan tümörlerde, nekrozun daha yaygın, tümör çevresindeki küçük lenfositik infiltrasyonun ve tümördeki vasküler endotelial hiperplazinin çok daha belirgin olması, serum TNF- α seviyesinin antitümör immünite ile bir paralellik gösterebileceğini düşündürmektedir. Biz, teknik ve maddi olanaksızlıklar nedeniyle hastalarda NK hücre, iL-2 reseptörleri, T ve B hücrelerinin miktar ve tiplendirmeleri gibi diğer immünolojik parametreleri çalışmadık. Ayrıca, takip süresi 2 ile 12 ay gibi oldukça kısa bir süre olduğundan, adjuvant tedaviyi takiben hastaları yeniden değerlendirme olanağımız olmadı.



Resim 1: Meme Kanser Dokusu
(TNF- α seviyesi yüksek bir hastadan alınmıştır)

L: Lenfositik infiltrasyon

N: Nekroz, EH: Endotelial Hiperplazi

Bundan sonraki aşamada çok sayıda meme kanserli metastatik olan ve olmayan hastanın, diğer immünolojik parametrelerde kullanılarak periyodik olarak araştırılması ve izlenmesi TNF- α 'nın tümöre karşı oluşan immün cevabın bir parçası mı olduğu veya hematogen metastazla ilgili bir belirleyici mi olduğu yoksa bulgumuzun sadece düşük bir hasta grubunda gözlenen nonspesifik bir veri mi olduğu konusu, aydınlık kazanacaktır.

SONUÇ

TNF- α bazı virutik ve bakteriyel infeksiyonlar, paraziter infestasyonlar, bazı otoimmün hastalıklar ve malign hastalıklarda yüksek bir sitokindir. Özellikle metastatik meme kanserlerinde yüksek bulunması ve serum TNF- α seviyesi yüksek olan tümörlerde çok geniş nekroz alanları, lenfosit infiltrasyonu ve tümörde endotel hiperplazisinin belirgin olarak artmış olması bu sitokinin bir tümör belirleyicisi değil, vücudun immün sisteminin kansere karşı, özellikle hematojen yayılım yapmış meme kanserine karşı oluşturduğu bir cevap olarak yorumlanmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Vincent T DeVita, Jr Samuel Helman, Steven A Rosenbry. Cancer, 1993.
2. Daniel P, Hites Abbot Terr. Immunology,1991.
3. Wyngaarden, Smith, Bennett. Cecil Text book of Medicine, 1993
4. Cristoph C .Zielinski; Chriation Mueller. Impaired Production of Tumor Necrosis factor in Breast Cancer , Cancer 1990.
5. Aderka D, Fisher J, Levo Yaltmur. Cachectin Tumor-Necrosis factor. Production by Cancer Patients. 1 Lancet 1985, 2: 11190-11192.
6. F.Montoyo MJ, Barbazan,J Schneider, R.Matorros, FJ Rodriguez, Escudero. Variations in Estrogen and Progesterone Receptor. Levels after short term. Tamoxifen treatment in Breast Carcinoma. Oncology 1992; 49: 422-426.
7. Louis P.Pertschuk,DV. Dong, S. Kim MD. Kamran Nayer MA; Joseph C Feldmon DPH, Karen B Eisenberg, RN MPS. Anne C Carter,MD, Theng Tian Rong MD. Immunocytochemical Estrogen and Progesterone Receptor Assays in Breast Cancer with Monoclonal Antibodies. Cancer 1990
8. OP Kallioniemi, H.Oksa R.K Aaran, T.Hietanen M, Lehtinen T.Koivula. Serum CA 15.3 Assay In the Diagnosis and follow up of breast Cancer.
9. JFR Robertson,D.Pearson, MR Price, C Selby, R.W.Blomey, A.Howell. Objective measurement of therapeutic response in breast cancer using tumor markers. Br J Cancer 64. 757-763.

10. Daniel F. Hayes, Vincent R, Zurawski and Donald W. Kufe. Comparison of Circulating CA13-3 and Carcinoembryonic antigen Levels in Patients with Breast Carcinoma. Journal of Clinical Oncology Vol 4, No 10 (October) 1986: pp 1547-1550.
11. More E Lippman and Robert B Dickson. Mechanisms of Normal and Malignant Breast epithelial Growth Regulation. J Steroid Biochemical Vol 34, No 1-6 pp 107-121, 1989.
12. V. Craig Jordan, M.M. Gottardis, S.P. Robinson and A Friedl. Immune Deficient Animals to Study Hormone-dependent Breast and Endometrial Cancer. J Steroid Biochem. Vol 34, No 1-6, pp 169-176, 1989.
13. G. Semenzato. Tumor Necrosis Factor, a cytokine with multiple biological activities. Br J Cancer 1990, 61, 354-361.
14. DW Miles, D Aderka, H. Engelmann, D. Allach. Induction of Soluble tumour Necrosis factor receptors during treatment with interleukin-2. Br J Cancer 1992, 66, 1195-1191
15. Mogolalene K, Sgagios Attun Kasid, and David N, Donforth JR. Interleukin-1 α and Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) Inhibit growth and Induce TNF Messenger. RNA in MCP-7 Human Breast Cancer Cells. . Molecular Endocrinology 1991 415, No 11
16. Michael A. Pallodino JR, M. Refoot Sholaby. Susan M Kramer. Characterization of the antitumor Activities of Human Tumor Necrosis Factor- α and Comparison with other Cytokines. Induction of Tumor specific Immunity. The Journal of Immunology Vol 138, 4023-4032 No 11, June 1987.
17. Carole Elbim, Sylvie Chollet Martin, Sabine Bailly, Jacques Hakim, and Marie Anne Gougerot-pocidolox. Priming of Polymorphonuclear Neutrophils by Tumor Necrosis Factor- α in Whole Blood Identification of two polymorphonuclear Neutrophil subpopulations in Response to formyl Pep-dides Corole Elbim, Blood Vol 82, No 2, 1993, pp 633-640.

18. Masahiro Kizaki, Akiko Sakashita, Amitabha Karmakar, Chi-Whei Lin, and H. Phillip Koeffler. Regulation of manganese Superoxide Dismutase and other antioxidant genes in Normal and Leukemic Hematopoietic Cells and Their Relationship to Cytotoxicity by Tumor Necrosis Factor. *Blood* . Vol 82, No 4, 1993, pp 1142-1150.
19. LC Lai, CTM, CHAN, C. CORNELL and TWJ. Lenhard, Growth Inhibitory Substances in Human Breast Cyst Fluid. *Anticancer Research* 13: 225-228, 1113.
20. J. Sedlak, P. Spenser, R. Zeillinger, W. Krigluger, C. Wiltschke, E. Kubista, B. Chorvoth. Cytokine (IFN alpha, IFN gamma, IL-1 alpha, TNF alpha) Induced modulation of HLA cell surface expression in human breast cancer cell lines. *Neoplasia*. 39-5, 1992.
21. Didier Branellec, Patricia De Cremaux, Patricia Borreau, Fabien Calvo and Salem Chouaib. Tumor Necrosis Factor Mediated cell Lysis invitro: relationship to CAMP accumulation and guanine nucleotid binding protein. *Eur j Immunol* 1992, 22; 963-967.
22. W. Bollog, R. Peck and JR. Frey. Inhibition of Proliferation by retinoids cytokines and their combination in four human transformed epithelial cell line. *Cancer Letters* 62 (1992) 167-172.
23. R. K. Tiwari, G. Y. Wong, J. Liu, D. Miller and M. P. Osborne. Augmentation of cytotoxicity using combination of interleukin (types I-II), tumor necrosis factor α and tamoxifen in MCF-7 cells. *Cancer Letters* 61(1991) 45-52.
24. R. Kircheis, J. Milleck, V. G. Karabka, L. N. Shingarova, D. Behnke, H. E. Schmidt. Biological Activity of Mutants of human tumor necrosis factor alpha. *Immunology* 1992 76; 433-438.
25. Daniel J. Mc. Carty, William J. Koopman. Arthritis and Allied Conditions A textbook of rheumatology. Loag⁸ Sebiger Philadelphia 12th Edition, Pg. 359, 1993

26. Don Aderko, Shimshon Fisher, Yaram Lewo, Helmut Holtman, Talia Hahn, David Wallach. Cachectin Tumor Necrosis Factor Production By Cancer patients. The Lancet, November, 1985.
27. Çukurove Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 18:2, 124-127.
28. Kısa Patoloji. Prof.Dr. Talia Bali Aykan.
29. Endokrin Hastalıkları. Prof.Dr. Senay Molvalılar. Prof.Dr. Haluk Alp.
30. Montovani C., Moccio A., Lai P, Turnu E, Del Giacco G.S. Serum Levels of TNF-Alpha, IL-6 and IL-1 beta in A series of Cancer Patients, 1992. Ann Oncol J (Suppl 5): 5, 1992.
31. Ardizzoia A, Lissoni P, Briviox Tisi E, Perego MS, Grassi MG, Pittülis S, Crispino S, Barni S, Toncini G. Tumor Necrosis Factor In Solid Tumors: Increased Blood Levels In The Metastatik Disease 1992. J Biol Regul Homeost Dent. 6(3); 103-7, 1112.
32. Pusztai L., Lewis C.E., Mc Gee J.O. Growth Arrest of the Breast Cancer Cell Line, TD7D. By TNF Alpha, Cell Line Specificity and Signal Transduction. Br J Cancer 67 123 280,1993.
33. Pusztai L, Lewis CE, McGee JO. Modulation of TNF Alpha Induced Cytostosis of Breast Cancer Cell Line, T47D, By Growth Factors and Extracellular Matrix Component. J Pathol 167 (Suppl) 144 A, 1992.
34. Tuncer i, Burgut R, Bozdemir N, Coşar EF: Türkiyede kanser sıklığı, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adana; 1994.