

**T.C.**  
**İstanbul Üniversitesi**  
**Cerrahpaşa Tıp Fakültesi**  
**Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı**  
**Anabilim Dalı Başkanı: Prof. Dr. Gülyüz ATKOVAR**

**TRASTUZUMAB MONOKLONAL ANTİKOR TEDAVİSİ İLE**  
**RADYOTERAPİ ZAMANLAMASININ, PULMONER**  
**FİBROZİS VE KARDİAK TOKSİSİTE ÜZERİNE ETKİLERİ;**  
**BİR DENEYSEL SIÇAN ÇALIŞMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Cenk UMAY**

**İSTANBUL-2007**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince engin bilgi ve tecrübelerini bizlerden esirgemeyen, mesleki kariyerimde ilerlememi sağlayan Anabilim Dalı başkanımız Sayın Prof. Dr. Gülyüz ATKOVAR'a, değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Sait OKKAN'a, Sayın Prof. Dr. Sedat TURKAN'a, Sayın Prof. Dr. Ahmet ÖBER'e, Sayın Prof. Dr. Sedat Sadık KOCA'ya, Sayın Prof. Dr. Ömer UZEL'e, Sayın Prof. Dr. Fazilet Öner DİNÇBAŐ'a, Sayın Prof. Dr. İsmet ŐAHİNLER'e teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık tezimin hazırlanması sırasında ve eğitimim süresince bilgisini benimle paylaşan, her türlü destek ve yardımlarını benden esirgemeyen ve bana zamanını ayıran danışmanım Prof. Dr. Nuran Őenel BEŐE'ye, tez süresince bana tüm kolaylığı sağlayan, bilgi ve deneyimleriyle beni yönlendiren Prof. Dr. Tuncay ALTUŐ'a, tezimin başlangıç aşamasındaki ilgisi ve ilaç teminindeki yardımlarından dolayı Prof. Dr. Süheyla SERDENGEŐTİ'ye, deneyin uygulanım ve takibi aşamalarındaki yardımlarından dolayı tıbbi biyolog Çetin KARACA'ya, tezimin patolojik değerlendirmesinde tüm imkanları seferber edip yardımlarını esigemeyen Prof. Dr. Figen AKSOY'a patolojik incelemelerimizin her aşamasını büyük bir özveri ve titizlikle yürüten Dr. Nuray Kepil'e, sonuçlarımızın istatistiksel değerlendirilmesindeki yardımlarından dolayı Yard.Doç. Dr. Necdet SÜT'e, eğitim süresince ve tezim sırasında göstermiş oldukları yardımlarından dolayı asistan arkadaşlarım başta olmak üzere tüm Cerrahpaşa Radyoterapi Ailesine teşekkürü bir borç bilirim. Bu yoğun çalışma temposu içinde göstermiş olduğu manevi destek ve yardımlarından dolayı sevgili annem Rahime ERGÜN'e teşekkür ederim

**Dr. Cenk U MAY**

# İÇİNDEKİLER

|                                    |           |
|------------------------------------|-----------|
| <b>I. GİRİŞ ve AMAÇ</b>            | <b>1</b>  |
| <b>II. GENEL BİLGİLER</b>          |           |
| <b>Meme Kanseri</b>                | <b>3</b>  |
| <b>Tastuzumab (Herceptin)</b>      | <b>19</b> |
| <b>Akciğerin Radyasyona Cevabı</b> | <b>28</b> |
| <b>Kalbin Radyasyona Cevabı</b>    | <b>30</b> |
| <b>III. GEREÇ ve YÖNTEM</b>        | <b>31</b> |
| <b>IV. BULGULAR</b>                | <b>34</b> |
| <b>V. TARTIŞMA</b>                 | <b>40</b> |
| <b>VI. SONUÇ</b>                   | <b>46</b> |
| <b>VII. ÖZET</b>                   | <b>47</b> |
| <b>VIII. KAYNAKLAR</b>             | <b>49</b> |

## I. GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri kadınlarda en sık görülen kanser tipidir ve kanser nedeniyle ölümlerde akciğer kanserinden sonra ikinci sırada yer almaktadır. Meme kanseri tedavisi hastalığın evresine göre çok çeşitli tedavi seçeneklerine sahip bir kanser tipidir. Tedavisinde cerrahi, radyoterapi ve kemoterapi ile hormonoterapinin iç içe geçmesi nedeniyle çoğunlukla multidisipliner yaklaşım gerektirir.

Günümüzde meme koruyucu cerrahi uygulanmış hastaların tamamına, mastektomi uygulanan hastalarda ise lenf bezi tutulumu olanlar ile lenf bezi temiz fakat tümör boyutu 5 cm. in üzerinde olan hastalar başta olmak üzere çok geniş bir hasta popülasyonuna postoperatif radyoterapi uygulanmaktadır.

Meme ya da göğüs duvarı bölgesine radyoterapi uygulanımı sırasında risk altında kalan organlar arasında akciğer ve özellikle sol taraf yerleşimli tümöre sahip hastalarda ise kalp ilk akla gelenleridir. Tedavi alanına giren volümle ve uygulanan radyoterapi dozu ile doğru orantılı olarak bu organlarda erken ve geç dönemde çeşitli yan etkiler görülmektedir. Bu yan etkiler akciğerde erken dönemde pnömoni ve geç dönemde ise akciğer fibrozisi şeklinde karşımıza çıkarken, kalpte ise erken dönemde perikardit, geç dönemde koroner damar hastalığı ile kardiyomiyopati olarak görülmektedir. Tedavi sırasında bu organların radyoterapi alanına giren volümünün tedavi planlamaları ile mümkün oldukça azaltılması ve tolerans dozlarının aşılması ile bu risk en aza indirilmektedir.

HER2 neu geni pozitif olan meme kanserli kadınlarda (tüm popülasyonun yaklaşık %20si) daha agresif bir gidiş ve kötü prognoz görülmekle beraber bu gene karşı oluşturulmuş monoklonal antikör olan Trastuzumab (Herceptin)'in metastatik meme kanserli hastalarda göstermiş olduğu sağkalım avantajı sonrasında yapılan son çalışmalarda bu ilacın adjuvan

olarak kullanılması gündeme gelmiştir. İlacın bu yeni endikasyonu ile birlikte adjuvan kullanımı sırasında radyasyon tedavisi ile çakışması veya ardışık olarak kullanılması zorunlu hale gelmiştir. Ancak bu tür birlikteliğin veya ardışık uygulamaların getirebileceği ek yan etkiler henüz tam olarak bilinmemektedir.

Çalışmamızda trastuzumab monoklonal antikoru ile radyoterapi zamanlamasının akciğer fibrozisi ve kardiyak toksisite üzerine etkilerini deneysel bir sıçan çalışması ile patolojik olarak incelemeyi amaçladık.

## II. GENEL BİLGİLER

### MEME KANSERİ

Meme kanseri kadınlarda en sık görülen malignitedir ve kansere bağlı ölümler içinde akciğer kanserinin ardından, ikinci sırada gelmektedir.(1) Meme kanseri vakalarının büyük çoğunluğunda etyoloji bilinmemektedir. Hastalık için çok sayıda risk faktörleri belirlenmiştir. Bunlar arasında, kadın olmak, ilerleyen hasta yaşı en önemlileridir. Daha az hasta grubunda rol oynayan faktörler: ailede genç yaşta meme kanseri öyküsü, erken menarş, geç menopoz, geç yaşta ilk canlı doğum, uzamış hormon replasman tedavisi, daha önce terapötik toraks duvarı radyoterapisi uygulanması, benign proliferatif meme kanseri ve *BRCA1* ve *BRCA2* genleri gibi genetik mutasyonlardır.(2)

Son dönemlerde mammografik tetkiklerin yaygınlaşması, sentinel lenf nodu diseksiyonu ve moleküler tanı yöntemlerinin geliştirilmesi invazif meme kanserlerinin daha erken evrelerde saptanmasına yol açmıştır. Meme kanserinin doğal seyirinde gözlenen değişimler evreleme sisteminde yenilik yapılması gereksinimini doğurmuştur. Amerikan Birleşik Kanser Komitesi'nin altıncı baskısında yer alan son evreleme sisteminde beşinci baskısından farklı olarak mikrometastazların izole tümör hücrelerinden boyut olarak ayırımı vurgulanmış, sentinel lenf nodu diseksiyonu, immunhistokimyasal ve moleküler tanı yöntemleri ile ilgili yeni maddeler eklenmiştir. Ayrıca tutulan lenf nodu sayısı nodal evrelemede asıl belirteç olarak kabul edilmiş ve infraklaviküler lenf nodlarının tutulumu N3 olarak evrelemeye eklenmiştir. Mamarya interna lenf nodlarının durumu tanı yöntemi ve aksiller lenf nodları ile birlikteliği dikkate alınarak yeniden sınıflandırılmıştır. Supraklaviküler lenf nodu tutulumu yeni evrelemede N3 olarak sınıflandırılmıştır.(3)

Meme kanserinde 2002 yılı TNM sınıflaması şu şekildedir.(4)

T Evresi: Primer tümör

Tx Değerlendirilemeyen primer tümör

To Primer tümöre ait bulgu yok

Tis İn situ karsinom

Tis (DCIS) Duktal karsinom in situ

Tis (LCIS) Lobuler karsinoma in situ

Tis (Paget) Meme başının paget hastalığı (primer başka tümör yok)

T1 En büyük çapı  $\leq 2.0$  cm tümör

T1mic En büyük çapı  $\leq 0.1$  cm mikroinvazif tümör

T1a Tümör çapı  $> 0.1$  cm, ancak  $\leq 0.5$  cm

T1b Tümör çapı  $> 0.5$  cm, ancak  $\leq 1.0$  cm

T1c Tümör çapı  $> 1.0$  cm, ancak  $\leq 2.0$  cm

T2 Tümör çapı  $> 2.0$  cm, ancak  $\leq 5.0$  cm

T3 Tümör çapı  $> 5.0$  cm

T4 Aşağıda belirtilen dokulara direkt yayılımı olan herhangi büyüklükte tümör

A. Göğüs duvarı

B. Cilt

T4a Pektoralis major kası dışında göğüs duvarına yayılım

T4b Ödem, peau d'orange , cilt ülserasyonu, aynı memede satellit cilt nodülleri

T4c T4a ve T4b birlikte görülmesi

T4d Enflamatuvar karsinom

#### N Evresi: Bölgesel lenf Nodları (Klinik sınıflama)

Nx daha önce çıkarıldığı için değerlendirilemeyen nodal tutulum

No Bölgesel lenf nodu metastazı yok

N1 Hareketli , ipsilateral bölgesel lenf nodu metastazı

N2 Komşu dokulara yapışık ipsilateral aksiler lenf nodu metastazı veya aksiller metastazı olmaksızın klinik veya radyolojik olarak (lenfosintigrafi dışı) görülebilen ipsilateral Mİ lenf nodlarına metastaz

N2a Komşu dokulara yapışık , ipsilateral aksiler lenf nodu metastazı

N2b Aksiler metastaz olmaksızın klinik veya radyolojik olarak görülebilen ipsilateral Mİ lenf nodlarına metastaz

N3 İpsilateral infraklaviküler lenf nodu metastazı ve klinik ve radyolojik (lenfosintigrafi dışı) olarak görülebilen ipsilateral Mİ lenf nodu metastazı ve aksiler lenf nodu metastazı veya supraklaviküler lenf nodu metastazı

N3a İpsilateral infraklaviküler lenf nodu metastazı ile birlikte aksiler lenf nodu metastazı

N3b Klinik ve radyolojik (lenfosintigrafi dışı) olarak görülebilen ipsilateral Mİ lenf nodu metastazı ve aksiler lenf nodu

N3c Supraklaviküler lenf nodu metastazı

#### Patolojik sınıflama

pNx Değerlendirilemeyen bölgesel lenf nodları

pNo Bölgesel lenf nodu metastazı yok

pNo(i-) Bölgesel lenf nodu metastazı yok, İHK (-)

pNo(i+) Bölgesel lenf nodu metastazı yok, İHK (+), ancak tümör infiltrasyon alanı  $\leq 0.2$ mm

pNo(mol-) Bölgesel lenf nodu metastazı yok, RT-PCR (-)



pNo(mol+) Bölgesel lenf nodu metastazı yok, RT-PCR (+)

pN1 1-3 aksiller lenf nodu tutulumu ve/veya klinik ya da radyolojik olarak

görüntülenemeyen, ancak sentinel biopside saptanan Mİ lenf noduna mikrometastaz

pN1a 1-3 aksiller lenf nodu tutulumu

pN1mic Mikrometastaz, tümör infiltrasyon alanı  $>0.2$  mm,  $\leq 2.0$  mm

pN1b Klinik ya da radyolojik olarak görüntülenemeyen, ancak sentinel biopside saptanan

Mİ lenf noduna mikrometastaz

pN1c 1-3 aksiller lenf nodu tutulumu ve klinik veya radyolojik olarak görüntülenemeyen,

ancak sentinel biopside saptanan Mİ lenf noduna mikrometastaz

pN2 4-9 aksiller lenf nodu metastazı veya aksiller tutulum olmaksızın Mİ nodlarında klinik

ve radyolojik ( lenfosintigrafi dışı) olarak görüntülenebilen tutulum

pN2a 4-9 aksiller lenf nodu metastazı, en küçük tümör infiltrasyon alanı  $>2.0$  mm

pN2b Aksiller tutulum olmaksızın Mİ nodlarında klinik ve radyolojik ( lenfosintigrafi dışı) olarak belirgin tutulum

pN3 10 veya daha fazla aksiler lenf nodu metastazı veya infraklaviküler lenf nodu

metastazı veya klinik ve radyolojik ( lenfosintigrafi dışı) olarak belirgin Mİ lenf nodu

metastazı + en az bir lenf nodu metastazı veya sentinel biyopsi ile tanısı konan

mikroskopik Mİ lenf nodu metastazı + 3 den fazla aksiler lenf nodu metastazı

pN3a 10 veya daha fazla aksiler lenf nodu metastazı, en küçük infiltrasyon alanı  $> 2.0$ mm

veya infraklaviküler lenf nodu metastazı

pN3b Klinik ve radyolojik ( lenfosintigrafi dışı) olarak belirgin Mİ lenf nodu metastazı +

en az bir lenf nodu metastazı veya sentinel biyopsi ile tanısı konan mikroskopik Mİ

lenf nodu metastazı + 3 den fazla aksiler lenf nodu metastazı

pN3c Supraklaviküler lenf nodu metastazı

M : Uzak metastaz

Mx Değerlendirilemeyen uzak metastaz

Mo Uzak metastaz yok

M1 Uzak metastaz var

### **Meme kanseri tedavisi;**

Lokal hastalığın cerrahi, radyasyon tedavisi (RT) veya her ikisi kullanılarak; sistemik hastalığımsa sitotoksik kemoterapi, endokrin tedavi, biyolojik terapi veya bunların kombinasyonlarıyla tedavi edilmesini içerir. Çeşitli lokal veya sistemik tedavilere gerek duyulması ve bunların seçimi bir takım prognostik ve prediktif faktörlere bağlıdır. Bunlar arasında tümör histolojisi, primer tümörün klinik ve patolojik özellikleri, aksiller nod durumu, tümörün hormon reseptörü içeriği, HER2/*neu* düzeyi, saptanabilir metastatik hastalık olması veya olmaması, hastanın komorbid hastalıkları, yaşı ve menopoz durumu yer alır.(5,6) Hasta tercihi de, özellikle mevcut tedavi seçenekleri arasındaki sağkalım oranlarının eşdeğer olduğu durumlarda, karar verme sürecinin önemli bir unsurudur.

Randomize ve uzun takip süreli yapılan bir grup çalışma sonucunda, meme kanserinde geniş tümör eksizyonu ve aksilla disseksiyonunu takiben eklenen radyoterapinin lokal kontrolü sağlamada radikal mastektomiye eşdeğer olduğunu göstermiştir.(7,8,9,10)Bu nedenle, evre I,II meme kanserinde meme koruyucu tedavi tercih edilen bir tedavi olmuştur. Aksilla disseksiyonunun kendisine ait yan etkileri (kol ödemi, omuz hareketi kısıtlılığı ve deformitesi, kol kuvvet azlığı ve uyuşukluk vs.) ve aksillanın sadece prognostik bir faktör olarak kabul edilmesi, bu işlemin yapılmasını tartışma konusu yapmıştır. 5 ml 'isosulfan

blue' boyası tümör çevresine verilerek, tümörün lenf akımını aksillaya taşıyan maviye boyanmış lenf kanalı ve lenf nodülü (sentinel lenf nodülü ) bulunarak, bunların patolojik muayenesi yapılabilmektedir. Eğer sentinel nodül tümör hücrelerini içeriyorsa aksilla pozitif, içermiyorsa aksilla negatif kabul edilmektedir. Bu yöntem yaklaşık % 93 doğru sonuç vermektedir. Sentinel lenf nodülü (SLN) biopsisi, tümör çevresine radioaktif koloid madde verilerek de yapılmaktadır (lenfosintigrafi). Lenfosintigrafinin başarılı uygulama oranı %92, prediktif değeri %100 olarak verilmektedir. Sentinel lenf nodülü biyopsisi için mavi boya ve/veya radyokolloid enjeksiyonu; peritümöral intraparenkimal, subareolar, intradermal veya intratümöral olarak da yapılmaktadır. Burada, memenin deri ve parenkiminin aynı ektodermal orijinli olmasının enjeksiyon yerinin farklı olmasına rağmen, lenfatik drenajın aynı lenf nodülüne (nodüllerine) olacağını göstermektedir.(11,12,13,14)

## **ERKEN EVRE İNVAZİF MEME KANSERİ LOKAL BÖLGESEL TEDAVİSİ**

### **Cerrahi:**

Erken evre meme kanserinde genellikle ilk tedavi cerrahidir. Meme koruyucu cerrahi veya modifiye radikal mastektomi (MRM) şeklinde yapılabilir. Bir dizi randomize çalışma, evre I ve evre II meme kanserli kadınların çoğunda aksiller lenf nodu diseksiyonuyla birlikte mastektominin veya lumpektomi, aksiller diseksiyon ve tüm meme radyoterapisiyle birlikte meme korucu tedavinin tıbbi olarak eşdeğer primer tedavi seçenekleri olduğunu göstermektedir.(7-10)

Cilt koruyucu mastektomi (skin sparing mastektomi); Evre I meme kanserli kadınlarda tercih edilen bir yöntemdir. Bu yöntemde meme başı ve areola dahil tümör üzerindeki deri ile birlikte tüm meme dokusu çıkartılır ve geriye kalan meme derisi korunur.

Genellikle daha sonra Latissimus dorsi kasının pedükülü greft olarak kullanılarak rekonstrüksiyon yapılmaktadır.(15) Cilt koruyucu mastektomiden farklı olarak subkutanöz mastektomide, meme başı ve areola korunur ve sağlanan kozmetik görüntü daha iyidir. Ancak, bu yöntemle retroareolar meme dokusu da bırakılmış olacağından, lokal nüks olasılığı, cilt koruyucu mastektomiye göre daha fazladır. Klinik evre I veya evre II meme kanseri olan bir kadında, aksiller lenf nodu durumunun patolojik değerlendirmesi gereklidir. Geleneksel olarak, aksiller lenf nodlarının değerlendirmesi için I.seviyede ve II. seviyede aksiller lenf nodu diseksiyonu ile en az 10 lenf nodu çıkartılması gerektirmektedir.(16,17) Bu iki seviyedeki lenf nodlarında makroskopik hastalık bulunması durumunda, aksiler diseksiyon, III.seviye lenf nodlarını kapsayacak şekilde genişletilmelidir. Klinik olarak aksillası negatif olan hastalarda (cN0), deneyimli merkezlerde sentinel lenf nodülü biyopsisi yapılabilir. SLN(-) ise, aksiller diseksiyon yapılmayabilir.(18-20) Palpe Edilemeyen Meme Kanseri; (non-palpabl meme kanseri veya 1 cm'den küçük meme kanseri) ise işaretleme ve eksizyonel biyopsi tanı yöntemi olarak tercih edilir. Bu hastalarda cerrahi olarak, temiz cerrahi sınırların sağlandığı geniş tümör eksizyonu ve sentinel lenf nodülü biyopsisi uygulanır. SLN sonucu pozitif olan veya klinik olarak aksillasında gangliyon palpe edilenlerde, seviye I,II aksiller diseksiyon yapılmalıdır.

Meme koruyucu tedavi uygulanmasının kesin kontendike olduğu bazı durumlar mevcuttur. Bunlar arasında daha önce meme veya toraks duvarına orta veya yüksek dozda RT uygulanması, hastanın gebe olması, mamografide yaygın şüpheli veya malign görünümlü mikrokalsifikasyonların var olması, tatmin edici kozmetik sonuç sağlayıcı tek bir insizyon yoluyla lokal eksizyonla çıkarılamayan yaygın hastalığın olması veya temiz cerrahi sınırlara ulaşmak için reeksizyonlar yapılmış olmasına rağmen patolojik cerrahi sınırların pozitif olması sayılabilir. Meme koruyucu tedavinin göreceli kontrendikasyonları arasında, deriyi

tutan aktif bağ dokusu hastalığının (özellikle skleroderma ve lupus) varolması, tümör boyutunun 5 cm'den büyük olması ve fokal olarak pozitif patolojik marjinler bulunduğu halde reeksizyon yapılamayacak olması sayılabilir. Tüm bu yukarıda sayılan faktörlerin ışığı altında meme koruyucu cerrahi kriterlerini şu şekilde belirtebiliriz; cerrahi sınırlar histolojik olarak negatif olacak şekilde bütün tümör çıkarılmalı, hastada multisentrik kanser olmamalı, kozmetik sonuç iyi olmalı (tümör/meme oranı uygun olmalı), radyoterapi olanakları yeterli olmalıdır. Ve belki de en önemlisi hastanın memenin korunmasını istemesi gerekmektedir.(21)

### **Radyoterapi:**

#### **LENF NODU NEGATİF HASTALIK (T1-T3N0)**

Modifiye radikal mastektomi sonrası radyoterapi endikasyonlarına bakıldığında bunların yetersiz aksiller diseksiyon yapılması (<10 nod çıkarılması), cerrahi sınır veya pektoral fasya tutulumunun olması (öncelikle tekrar cerrahi girişim düşünülmeli), tümörün sınıra 2 mm ve daha yakın olması ve tümörün 5 cm den büyük olması sayılabilir.(22) Radyoterapi sahası toraks duvarı, aynı taraf supraklavikuler bölge aynı taraf meme lenf nodlarını içerecek şekilde belirlenmelidir. Tümör boyutu 5 cm ve daha küçük olan ve aksiller lenf nodu negatif olup, temiz cerrahi sınırları olan hastalarda RT uygulanmasına gereksinim yoktur..

Meme koruyucu cerrahi uygulanmış hastalarda radyoterapi endikasyonlarına bakılırsa bunun tümör çapı ne olursa olsun, koruyucu cerrahi yapılmış tüm invaziv meme kanserli olgular olduğu görülmektedir.(8,9) Tüm meme dozu 180-200 cGy/gün toplam 45-50 Gy' dir. 50 Gy sonrası 10-16 Gy boost ve 45 Gy sonrası 16 Gy boost tercih edilir.(23,24)

## LENF NODU POZİTİF HASTALIK

Modifiye radikal mastektomi sonrası göğüs duvarı ve bölgesel lenf nodu ışınlanmasıyla, nod -pozitif meme kanserinde sağkalım yönünden avantaj sağlandığını belirten çalışmalar nedeniyle bu durumdaki kadınlarda mastektomi sonrası ışınlama fikri kabul görmüştür. Bu çalışmalarda, yalnızca ipsilateral toraks duvarı değil, aynı zamanda ipsilateral lokal-bölgesel lenf nodları da ışınlanmıştır. (25-28) Buna karşılık bazı çalışmalar mastektomi sonrası radyoterapinin sağkalım avantajı sağlamadığını da göstermiştir.(29) Aksiller lenf nodunun tutulduğu ve tümörlerin 5 cm'den büyük olduğu veya mastektomi sonrasında pozitif patolojik sınırları bulunan kadınlara toraks duvarı ve supraklaviküler alanlara RT uygulanmaktadır. Dört ya da daha fazla sayıda pozitif aksiller lenf nodları bulunan hastalarda aksiler lenf nodları radyoterapi alanına katılmaktadır.(8)

Meme koruyucu cerrahi yapılmış her invaziv tümör taşıyan meme, tümör çapı ne olursa olsun ışınlanır.

Tüm meme dozu 180-200 cGy/gün toplam 45-50 Gy'dir. 50 Gy sonrası 10-16 Gy boost ve 45 Gy sonrası 16 Gy boost olarak uygulanır.(23,24)

## SİSTEMİK TEDAVİ

Sistemik tedavi seçimi için yapılan değerlendirme ve prognostik ve prediktif faktörlere bakıldığında en güçlü prognostik faktörlerin hasta yaşı, komorbidite, tümörün boyutu, tümörün gradı, tutulan aksiller lenf nodu sayısı ve olasılıkla HER2/*neu* ekspresyon düzeyi olduğu görülmektedir.(30) Lenf nodu tutulumu olmayan küçük invazif tümörler (çapı

en fazla 0.5 cm) cerrahi tedaviye o kadar iyi yanıt verirler ki, adjuvan sistemik tedavinin ek yararı çok azdır ve tavsiye edilmez. Çapı 0.6-1 cm olan invazif duktal veya lobüler tümörü olan ve lenf nodu tutulumu bulunmayan hastalar, rekürrens riski düşük olanlar ve adjuvan terapi düşündürecek kadar olumsuz prognostik faktörleri olanlar olarak ayrılabilir. Olumsuz prognostik faktörler arasında meme içi anjiyolenfatik invazyon, yüksek nükleer grad, yüksek histolojik grad, aşırı HER-2 ekspresyonu veya hormon reseptörünün negatif olması yer alır. Lenf nodu tutulumu olan veya çapı 1 cm'den büyük tümörü olan hastalar adjuvan kemoterapi için uygun adaylardır. Çapı 1 cm'den büyük, lenf nodu negatif, hormon reseptörü negatif tümörü olan kadınlarda, kemoterapi tavsiye edilir. Çapı 1 cm'den büyük, lenf nodu negatif, hormon reseptörü pozitif tümörü olanlarda ise, endokrin terapiyle birlikte kemoterapi tavsiye edilen tedavi seçenekleridir. Lenf nodu pozitif olan hastalar kemoterapi için ve eğer tümör hormon reseptörü pozitifse, endokrin terapi eklenmesi için adaydır.(31) Hasta hem kemoterapi hem de tamoksifen kullanılıyorsa, Intergroup 0100 çalışması verileri, tamoksifen başlamanın kemoterapi tamamlandıktan sonrasına dek geciktirilmesinin, eşzamanlı kullanımla karşılaştırıldığında hastalısız sağkalımı artırdığını göstermektedir.(32) Bu nedenle, önce kemoterapi, ardından endokrin terapi tercih edilen tedavi sıralaması olmalıdır.

## **ADJUVAN ENDOKRİN TEDAVİ**

Östrojen ve progesteron reseptörü pozitif olan invazif meme kanserli hastalarda, hastanın yaşından, lenf nodu durumundan veya adjuvan kemoterapi uygulanacak olup olmamasından bağımsız olarak adjuvan endokrin terapi düşünülmelidir.(33) Seçilmiş çalışmalar, HER2/*neu* onkogenini aşırı üreten meme kanserlerinin hormonlara nispeten refrakter olabileceğini göstermekte ise de, diğer çalışmalar bu bulguyu doğrulamamıştır.(34-

39) Östrojen reseptörü pozitif meme kanserli kadınlarda adjuvan tamoksifen, kemoterapiden, hasta yaşından, menopoz durumundan veya aksiller lenf nodu durumundan bağımsız olarak, yıllık rekürens olasılığını %39 ve yıllık ölüm olasılığını %31 oranında azaltmaktadır.(34) Prospektif, randomize çalışmalara göre tamoksifenin optimum süresi 5 yıl olarak gözükmektedir.(40) Randomize çalışmalar, hem tamoksifen hem de kemoterapi verilen hastalarda, önce kemoterapinin, ardından tamoksifenin verilmesi gerektiğini göstermiştir.(41) Erken evre meme kanseri olan postmenopozal kadınların tedavisinde aromataz inhibitörleri birkaç çalışmada değerlendirilmiştir. Bu çalışmalarda aromataz inhibitörleri ilk adjuvan tedavi, 2-3 yıl süreyle tamoksifen tedavisinden sonra ardışık terapi veya 4.5-6 yıl tamoksifen tedavisi sonrasında uzatılmış terapi olarak kullanılmıştır Çeşitli çalışmalar hormon reseptörü pozitif meme kanseri olan postmenopozal kadınlarda üçüncü nesil aromataz inhibitörünün ilk adjuvan tedavi, ardışık tedavi veya uzatılmış tedavi olarak kullanılmasının tamoksifenle kıyasla rekürrens riskini düşürdüğünü göstermektedir. Bu nedenle, erken evre meme kanserli postmenopozal kadınlara tedavinin bir bölümünde aromataz inhibitörü verilmelidir. Bu tamoksifenle ardışık olarak veya uzatılmış tedavi olarak verilebilir. ATAC ve ITA çalışmaları ER pozitif PR negatif tümörlerde anastrozolün daha üstün olduğunu göstermiştir.(42-44) Bu nedenle bu grup hastalarda başlangıç tedavisi olarak aromataz inhibitörü önerilebilir

Aromataz inhibitörleri overleri işlevsel olan kadınlarda etkin değildir, bu nedenle adjuvan tedavide menopoz öncesi dönemde kullanımı önerilmez.

Adjuvan sitotoksik kemoterapi uygulanacağı zaman, bir takım kombine kemoterapi rejimlerini düşünmek uygundur. Bu rejimler arasında şunlar yer almaktadır: Fluorourasil, doksorubisin ve siklofosamid (FAC/CAF) veya siklofosamid, epirubisin ve fluorourasil (CEF); doksorubisin veya epirubisin ve siklofosamid (AC/EC). Ardışık paklitakselle birlikte



AC (AC ardından Paklitaksel), fluorourasil, epirubisin, siklofosfamid sonrasında dosetaksel (FEC ardından dosetaksel). Son çalışmalara göre HER2/*neu* aşırı üretimi gösteren meme kanserlerinin adjuvan tedavisine trastuzumabın dahil edilmesiyle sonuçta önemli iyileşmeler olmaktadır.

Erken Meme Kanseri Araştırmacıları'nın polikemoterapi değerlendirmesinde, antrasiklin içeren rejimlerin CMF ile karşılaştırılması, antrasiklin içeren rejimlerde yıllık rekürens olasılığında ek %12 ( $p=0.006$ ) ve yıllık ölüm olasılığında ek %11'lik ( $p=0.02$ ) bir azalma sağlandığını göstermiştir.(45) Bu verileri temel alarak, nod pozitif hastalarda antrasiklin içeren rejimlerin tercih edilmesi uygundur Dört siklus doksorubisin ve siklofosfamid kemoterapisi randomize çalışmalarda araştırılmış, relapssız ve genel sağkalımda CMF kemoterapisine eşdeğer bulunmuştur.(46-47) Dosetaksel, doksorubisin ve siklofosfamid (TAC) ile FAC kemoterapilerinin aksiler lenf nodu pozitif meme kanseri hastalarında karşılaştırıldığı randomize bir çalışmanın kesin sonuçları, TAC'ın FAC'tan üstün olduğunu göstermektedir.(48) 5 yıllık hastalıksız sağkalım TAC'la %75 ve FAC'la %68'dir (risk oranı 0.72, %95 GA 0.59-0.88,  $p=0.001$ ); sağkalım ise TAC'la %87 ve FAC'la %81'dir. Aksiller lenf nodu pozitif olan meme kanserli kadınlarda ardışık paklitaksel içeren veya paklitakselsiz AC kemoterapilerini karşılaştıran iki randomize çalışmanın sonuçları, paklitaksel eklenmesiyle hastalıksız sağkalım hızlarında iyileşme ve bunlardan birinin sonuçlarına göre, genel sağkalımda iyileşme olduğunu göstermiştir.(49) Retrospektif analizde, paklitaksel içeren rejimin görünür üstünlüğünün östrojen reseptörü negatif meme kanserli kadınlarda daha büyük olduğu gözükmektedir.

Tüm bu yukarıda açıklamaya çalışılan çalışmalardan edinilen bilgiler ışığında meme kanserinde adjuvan sistemik tedavide genel yaklaşımlar şu şekilde özetlenebilir.T1N0M0 premenopoz hastalarda MKC yapılmış ise 4 AC veya 4 EC tercih edilebilir. MRM yapılan

hastalara, 4 AC, 4 EC, veya 6 CMF verilir Reseptör negatif, gradı yüksek tümörü olup riski daha yüksek hastalarda 6 siklus FAC/CAF, FEC/CEF önerilebilir. Reseptör pozitif (ER ve/veya PR) hastalarda tamoksifen 5 yıl süre ile verilir. Over supresyonu artı tamoksifenin sadece tamoksifenden daha üstün olduğu kabul edilmektedir Tümör 1 cm'den küçük olan hastalarda 10 yılda relaps riski % 10'un altındadır. Bu hastalarda grad III veya reseptör negatif ise adjuvan sitotoksik kemoterapinin yeri tartışmalıdır. T1N0M0 postmenopoze hastalarda ise reseptör negatif (ER ve PR) olan ve MKC yapılanlara 4 AC, 4 EC verilir. MRM yapılan hastalara, 4 AC, 4 EC, veya 6 CMF verilebilir. Reseptör pozitif hastalara endokrin tedavi verilir. Özel durumlarda kemoterapi verilebilir (örn. yüksek grad ve düşük reseptör pozitifliğinde veya HER2 pozitifliğinde).

T2T3N0 premenopoze hastalarda adjuvan sitotoksik tedavide 4 AC veya EC, veya 6 CMF (oral endoksanlı rejim) verilebilir. Yüksek riskli hastalarda 6 FAC/CAF veya 6 FEC/CEF verilir (Örn. reseptör negatif hastalarda veya reseptör pozitif olup büyük tümörlü hastalarda verilebilir) Taksanlı kombinasyonlar yüksek riskli hastalarda kullanılabilir. Kemoterapinin yan etkilerinden kaçınmak istendiği zaman veya düşük riskli hastalarda (küçük tümör ve reseptör kuvvetli pozitif ve düşük grad ve Her2 negatif) over supresyonu artı tamoksifen uygulanabilir Reseptör pozitiflerde endokrin tedavi en az 5 yıl verilir. Reseptörleri negatif (ER ve PR) tümörlülerde endokrin tedavi verilmez.

T2T3N0 postmenopoze riskli hastalarda kemoterapi verilebilir. Adjuvan sitotoksik tedavide, reseptör pozitif hastalarda 4 AC veya EC, 6 CMF (oral endoksanlı rejim) verilir. Yüksek riskli veya reseptör negatif hastalarda 6 FAC/CAF veya 6 FEC/CEF verilir. Bazı vakalarda taksanlı kombinasyonlar verilebilir.(41-49) Estrojen reseptörü yüksek pozitif olup, düşük riskli hastalarda sadece tamoksifen verilebilir. Bu durumda Her2'nin negatif olması tercih edilir. Pozitif olduğu takdirde hastaya mutlaka sadece endokrin tedavi verilmesi

gerekiyorsa aromataz inhibitörünün tercih edilebileceği öne sürülmüştür. ER+, PR- hastalarda aromataz inhibitörü tercih edilebilir. Tamoksifen reseptör pozitif hastalara verilir

Lenf nodu pozitifliği saptanan premenopozde tüm hastalarda sistemik sitotoksik tedavi önerilebilir. Reseptör pozitif hastalara kemoterapilerin bitiminde tamoksifen başlanır. Postmenopozde hastalarda ise sistemik sitotoksik tedavi endikasyonu vardır. Ancak reseptör kuvvetli pozitif olup lenf nodu 1-3 pozitif olan ve performans statusu uygun olmayan veya medikal nedenlerle kemoterapiyi tolere edemeyeceği düşünülen hastalarda kemoterapi verilmeyerek sadece endokrin tedavi verilebilir. İleri yaşta performans statusuna göre sistemik tedavi belirlenir. Aromataz inhibitörleri adjuvan tedavinin bir bölümünde mutlaka kullanılmalıdır. Başlangıç tedavisi olarak 2-3 yıl tamoksifen sonrası veya 5 yıl tamoksifen sonrası verilebilir. Reseptör pozitif hastalara tamoksifen 20 mg/gün dozla verilir. Tamoksifenin yan etkileri olduğu takdirde (tromboz, vajinal kanama, endometrial hiperplazi veya tolere edilemediği zaman, veya bu tip yan etki riski yüksek olan hastalarda) aromataz inhibitörü kullanılabilir.

Büyük klinik tümörü olan (büyük klinik evre 2a ve 2b tümörler ve T3N1M0 tümörler) meme koruyucu tedavi kriterlerine uyan hastalar için preoperatif kemoterapi düşünülebilir. Eğer preoperatif kemoterapi planlanıyorsa tümör ve şüpheli aksiller lenf nodlarına ince ya da kalın iğne biopsileri planlanmalı ve histolojik tanı elde edilmelidir. Kemoterapi sonrası azımsanmayacak oranda hastada tam veya tama yakın klinik yanıt görülebilmesi olasılığı göz önüne alınarak ultrason eşliğinde tümör alınımlı belirleyen perkütan klips yerleştirilmesi rezeksiyonda yardımcı bir yöntemdir. Klinik muayenede aksiller lenf nodları negatif olan kadınlarda tedavi öncesi sentinel lenf nodu rezeksiyonu yapılabilir. Sentinel lenf nodu histolojik olarak negatifse, lokal cerrahi tedavi sırasında aksiller diseksiyonun atlanması düşünülebilir. Sentinel lenf nodu histolojik olarak pozitifse, o zaman primer cerrahi tedavi

sırasında I. ve II. düzeyde aksiller diseksiyon gerçekleştirilmelidir. Kemoterapi öncesi sentinel lenf nodu eksizyonu yapılmamışsa, primer cerrahi tedavi sırasında I. ve II. derece aksiller diseksiyon veya sentinel lenf nodu eksizyonu (sentinel lenf nodu pozitifse, I.ve II. düzeyde aksiller diseksiyon) yapılmalıdır. NSABP B-27, 4 siklus AC sonrasında 4 siklus dosetakselle tedavi edilenlerde, cerrahi sırasında tam patolojik yanıt oranının daha yüksek olduğunu göstermektedir(50) Adjuvan tedavi koşullarında tavsiye edilen rejimler preoperatif kemoterapi için de uygundur. Tümörün preoperatif kemoterapiye yanıt vermesi durumunda, meme koruyucu tedavinin şartları mevcutsa, lumpektomi artı aksiller lenf nodu diseksiyonu düşünülebilir. Birkaç siklus preoperatif kemoterapiden sonra tümör hala yanıt vermiyorsa, yanıt minimalse veya hastalık herhangi bir noktada ilerliyorsa, meme rekonstrüksiyonu olsun veya olmasın, mastektomi artı aksilla diseksiyonu yapılmalıdır. Bu hastalarda postoperatif tedavi; bireye özel olarak belirlenmelidir.

Evre 3 invazif meme kanseri hastalarına uygulanabilecek tedavi seçeneklerine bakıldığında, Evre 3A hastalarda primer tedavi olarak sistemik ilaç tedavisi önerilir. Neoadjuvan tedavi uygulanamayacak bazı hastalarda cerrahi primer tedavi olabilir. Başlangıç tedavisi olarak cerrahi uygulanmış hastalarda, sistemik adjuvan tedavi evre 2 hastalığı bulunan hastalarınkiyle benzerdir. Evre 3A premenopoze hastalarda cerrahi sonrası en az 6 siklus kemoterapi ,bitiminde RT uygulanır. Hormon reseptör pozitif hastalara tamoksifen ve aromataz inhibitörleri tedaviye eklenebilir. Evre 3A postmenopoze hastalarda cerrahi sonrası en az 6 siklus kemoterapi, KT bitiminde RT uygulanır. Hormon reseptör pozitif hastalara tamoksifen başlanır. Aromataz inhibitörleri diğer bir tedavi seçeneğidir. Tamoksifenin yan etkileri olduğu takdirde yine aromataz inhibitörleri kullanılabilir.

İlk seçenek tedavi metodu olarak cerrahi rezeksiyona uygun olmayan, lokal ileri hastalarda ise (T3N1M0 hariç klinik 3a, ile Evre 3b veya inflamatuvar meme Ca) başlangıçta

seçilebilecek tedavi antrasiklin bazlı preoperatif kemoterapidir.(51) Preoperatif tedavi sonrası lokal tedavi uygulanır. Bu MRM ya da Lumpektomi ve aksiller diseksiyon şeklinde olabilir. Her iki tedavi grubunda da göğüs duvarına ya da memeye ve periferik lenf nodlarına radyoterapi uygulanması lokal nüks riskini azaltır.(52) İnoperabl lokal ileri tümörü neoadjuvan kemoterapi altında progrese olan hastalarda, lokal kontrolü artırmak amacıyla palyatif meme ışınlaması uygulanır. Bütün hasta alt gruplarında, lokal tedavi sonrası ek sistemik adjuvan kemoterapinin standart kabul edilmesi gerektiğine inanılmaktadır. Hormon reseptör pozitif olan vakalara KT bitiminde tamoksifen 20 mg/gün başlanır. Postmenopoze hastalarda aromataz inhibitörü tedavinin bir parçası olmalıdır. Premenopoze hormon reseptörü pozitif tümörlü hastalarda over ablasyonu/supresyonu tedaviye eklenir. Neoadjuvan kemoterapi rejimi olarak meme kanseri adjuvan tedavisinde kullanılan rejimler uygulanabilirler.

## TRASTUZUMAB (Herceptin)

HER2/neu geni (ya da c-erbB-2 ) 1980'lerde sıçan nöroblastomalarında tanımlanan neu geninin insandaki analogudur. Bu onkogen 17q21 kromozomunda yerleşmiştir ve HER2 reseptörünü kodlar. 1255 aminoasit ve 185 kD transmembran glikoprotein (p185<sup>HER2/neu</sup> olarak da adlandırılır) yapısındadır ve tirozin kinaz aktivitesine sahiptir. HER2 bir epidermal büyüme faktörü reseptörüdür (Epidermal growth factor receptor, EGRF) HER1 (c-erbB-1), HER3 (c-erbB-3).ve HER4 (c-erbB-4) ile birlikte epidermal büyüme faktör reseptörleri içeren ailenin bir üyesidir. HER2 ailenin diğer üyeleri ile sıralı bir homoloji oluşturma özelliğine sahiptir. Bu reseptörlerden birine bağlanan bir ligand homodimerlerin (örn: HER1-HER1)ve /veya heterodimerlerin (örn: HER1-HER2, HER2-HER3 vb) oluşumu ile sonuçlanır. HER2 ve HER3 heterodimerlerinin insan neoplazi gelişiminde daha önemli olduğunu gösteren kanıtlar mevcuttur.(53)

Transmembran bölümünün nokta mutasyonu ve gen aşırı yapımının her ikisinin birden HER2 protein aktivasyonu ile sonuçlandığına inanılmaktadır. Hücrede HER2/neu aşırı yapıldığı zaman, protein kinaz'ın belirgin bir şekilde aktive ve ligandan bağımsız hale gelir. Protein aktif durumda kaldığı zaman, reseptör homodimerizasyon ve heterodimerizasyon devam ettiği sürece bunu mitojen aktif protein (MAP) kinaz, PI 3-kinaz, csrc, shc ve Grb2 gibi değişik substratların aktivasyonu takip eder.Tüm bu olanlar malign transformasyonda rol alırlar.(54-57) HER2'nin aktivasyonu, birçok farklı moleküller ile kastat şeklinde ilişkiyi tetikler ve bunlardan birkaçının hücre içi sinyal yolunu bloke edecek potansiyel hedeflerden biri olması olasıdır. Bununla birlikte bu proteinlerden birinin bloke edilmesi HER2/neu'nun onkojenik etkisini engellemeye yeterli olmayabilir. Bu nedenle HER2/neu gen amplifikasyonu veya reseptör aktivasyonunu baskılayacak adımlara gereksinim duyulmuştur.

HER2/neu amplifikasyonu ya da aşırı üretiminin %25 -30 meme kanserli hastada var olduğu ve kötü prognoz ve cevaptan sorumlu olduğu gösterilmiştir.(58) HER2/neu geninin amplifikasyonu ile ifade edilmek istenen şey, bir hücre başına normalde iki kopya gen olması yerine , 50-100 HER2/neu gibi çok sayıda gen kopyasının olması demektir. Bu malign tümörlerde tek hücre başına 2.000.000 HER2 reseptör molekülüne çevrilebilir. HER2/neu'nun hücre büyümesindeki rolü ana hatlarıyla Rubin ve Yarden (59) tarafınca açıklanmıştır.Buna göre HER2/neu normal miktarda yapıldığında, HER2 reseptörüne bağlanan ligandlar sadece birkaç HER2 heterodimeri oluşturur, dolayısıyla bu büyüme faktörlerine karşı cevap göreceli olarak zayıftır. Bununla birlikte HER2/neu'nun kanser hücrelerinde olduğu gibi aşırı yapımında, primer olarak stromadan veya tümör hücrelerinin kendinden köken alan çok sayıda ligand HER2 yi heterodimer oluşturmaya iter. Bu heterodimerler hücre yüzeyinde daha fazla sabit kalmakta ve hücre içi sinyalleri arttırmaktadır. Bu sinyal artışı büyüme faktörlerinin yanıtının artışı ile sonuçlanmaktadır ki bu da malign büyümeye neden olur.

1989 yılında farelerde HER2 reseptörünün hücre dışı bölümüne karşı bir spesifik antikör bulundu. Bu antikör insan epidermal büyüme faktörü ile çapraz reaksiyona girmeden HER2'yi tanıyordu.(60) Bu antikör muMAb 4D5 (murine monoklonal antibody 4D5) olarak adlandırıldı. p185<sup>HER2/neu</sup> proteininin ekstrasellüler parçasına karşı muMAb 4D5 HER2/neu tarafınca yapısı değiştirilmiş murine hücrelerinde ( insan malign hücre kültürü ve bu onkogeni aşırı salgılayan xenograflarda olduğu gibi) antiproliferatif cevabı ortaya çıkarma yeteneğine sahipti.(61-65)Bu büyümenin inhibisyon etkisi HER2/neu aşırı salınımı yapan hücrelerde sınırlı olduğu görülmüştür. muMAb 4D5'in p185<sup>HER2/neu</sup> proteini ile etkileşimi reseptör tirozin fosforilasyonuna, reseptör üretiminde yavaşlamaya, antikör-reseptör

kompleksinin iç yapıya dahil olmasına(66), ve p185<sup>HER2/neu</sup> proteini ile onun heterodimerik eşleri olan HER3 ve/veya HER4 ile bağlantılarında azalmaya yol açar.(67-69)

Murine monoklonal antikorların kullanımının immünojenik potansiyeli insanlarda klinik kullanımını kısıtlamıştır. Bu problemin üstesinden gelmek için muMAb 4D5 antijen bağlayan halkası ile IgG 1c yapısı, insan V bölgesi iskeletine birleştirilerek muMAb 4D5 tekrar yapılandırılmış (70)ve bu yeni insanlaştırılmış antikora rhuMAb HER2/neu ya da Trastuzumab adı verilmiştir. Trastuzumab p185<sup>HER2/neu</sup> reseptörünün ekstrasellüler parçasına karşı muMAb 4D5 den çok daha fazla aktivite göstermiştir. Labarotuarda trastuzumab HER2/neu aşırı salınımı yapan hücrelerde HER2/neu sisteminin büyüme sinyali fonksiyonu bloke ederek ve antikor bağımlı hücrel sitotoksisite oluşturmaları ile büyüme inhibisyonuna neden olur.(71,72)

#### **Mab 4D5 ile PREKLİNİK ÇALIŞMALAR:**

HER2 proteininin ekstrasellüler kısmının çeşitli epitoplara karşı yönlendirilmiş monoklonal murine antikorları ile ilgili birkaç çalışma yayınlanmıştır. Bu antikorlar yüksek seviyelerde HER2 reseptörü barındıran tümörlerin ve başkalaşmış hücrelerin büyümesini inhibe ederler.(63,73-78)Aslında anti HER2 monoklonal antikor muMAb 4D5 aşırı HER2 üreten insan meme kanseri hücreleri yüzey proteinine karşı güçlü bir inhibisyon gösterir.(60,64,65)

Humanize 4D5 antikor rhuMAb 4D5 ve kemoterapi kombinasyonları ile prelinik çalışmalar in vitro ve in vivo olarak tasarlanmıştır.Bir çalışmada yedi sitotoksik ajan ile HER2 aşırı salınımı yapan SK-BR3 insan meme karsinomu hücrelerine karşı rhuMAb4D5 kombinasyonunu in vitro ve HER2/neu aşılınmış MCF-7 insan meme karsinomu xenograflarıyla in vivo karşılaştırmak amacıyla tasarlanmıştır. Bu çalışmalardan elde edilen



veriler, in vitro koşullarda HER2/neu aşırı salınımı yapan SK-BR3 meme kanseri hücrelerinde, sisplatin, alkilleyici ajan thiotepa ve etoposid ile sinerjistik etki gösterdiği gösterilmiştir. p185<sup>HER2/neu</sup> nun salgılanma seviyesi ve /veya kinaz aktivitesi sitotoksik ilaçlarla maruziyet sonrası değişmediği bilinmekle olduğu halde bu sinerjinin moleküler seviyedeki nedeni tam olarak anlaşılamamıştır. rhuMAb 4D5 ile paklitaksel, vinka alkaloidleri, doksorubisin ve metotreksat kombinasyonu sinerjistik etkiden çok additif etki göstermektedir. Bu sonuçlar in vivo verileri için de benzer şekildedir ve rhuMAb 4D5'in siklofosfamid, doksorubisin, paklitaksel, metotreksat, etoposid ve vinblastin ile kombinasyonu, tek başına kemoterapiye göre xenograf hacminde belirgin azalma ile sonuçlanmıştır(p< 0.005) Bunlara ilaveten fare modellerinde de kemoterapiye rhuMAb 4D5 eklenmesinin, tek başına kemoterapi uygulanmasına göre toksisite profilinde artışa yol açmadığı gözlenmiştir.(79)

Pietras ve ark.(80) insan meme kanser xenograflarına HER2 aşırı salınımın karşı rhuMAb 4D5 in sisplatin veya doksorubisin ile kombinasyonunu denemişlerdir. Antikor tedavisi, bitiminde tümör büyümesinde tekrar bir artış olmasına rağmen (bunun sitotoksikten çok sitostatik etki olduğu düşünölmektedir) tümör boyutlarında küçölme saptanmıştır.Bu sonuçlar başka bir çalışma ile de onaylanmıştır.rhuMAb 4D5in doksorubisin ve paklitaksel ile kombinasyonu HER2/neu aşırı salgılayan atimik fare xenograflarına karşı test edilmiştir. Tek ajana oranla kombinasyonlarda daha iyi büyüme inhibisyonu elde edilmiştir. Paklitaksel'e antikor eklenmesi ise en iyi büyüme inhibisyonunu sağlamıştır. Tüm bu prelinik çalışmalar ışığında klinik çalışmalara hız verilmiştir.

## TRASTUZUMAB ile KLİNİK ÇALIŞMALAR

Trastuzumab ile yapılan faz 1 çalışmalarda (81) refrakter kanserli hastalarda kullanılma güvenilirliğinin değerlendirmesine ve maksimal tolere edilebilen ile en uygun olan dozların belirlenmesine çalışılmıştır. 10 ile 500 mg arası dozlar I.V. uygulama yolu ile değerlendirilmiştir. Genel olarak birkaç grad 3-4 yan etki haricinde trastuzumab iyi tolere edilmiştir.(81) Sisplatin ile kombine edildiğinde tek başına sisplatin uygulamasına benzer yan etki profili gözlenmiştir. Bu çalışmada trastuzumaba karşı insanda otoantikör gelişmediği gösterilmiştir. Ayrıca trastuzumab'ın farmakokinetiği doz bağımlıdır, dozun artışı ile birlikte serum yarılanma ömrü artmaktadır.

Memorial Sloan Kettering Kanser Merkezince yürülmüş olan bir faz 2 çalışmada metastatik hastalıkta trastuzumab ikinci seri tedavide tek ajan olarak etkinliği incelenmiş, çalışmaya HER 2/neu aşırı salınımı olduğu immünohistokimyasal olarak belirlenmiş tümöre sahip metastatik meme kanserli 46 hasta dahil edilmiştir. Başlangıç dozu 250 mg IV ve idame dozu olarak 100mg haftalık uygulamalarla on defa kullanılmıştır.tam cevap %11,6 ,minör cevap %5 ve %33 ile stabil hastalık oranları gözlenmiştir. En sık gözlenen advers etkiler trastuzumab'ın ilk uygulanımında gözlenen ateş, kızarıklık ile sınırlı kalmıştır.(82) Bu sonuç bir büyük çok merkezli çalışma ile desteklenmiştir. Bu çalışmaya dahil edilen daha önce antrasiklinli ve taksanlı güçlü bir şekilde KT almış olan 222 hastaya 4 mg/kg yükleme dozu ve 2mg/kg idame dozu ile trastuzumab uygulanmıştır. Çalışmada tam cevap oranı %15 minör cevap %6 ve sabit hastalık %29 olarak saptanmış, trastuzumab iyi tolere edilmiştir. Medyan progresyona kadar geçen süre 3.1 ay olarak saptanmıştır, trastuzumab alan hastalarda yanıtın devam süresi 9,1 ay olarak bulunmuştur. (83)

Trastuzumab'ın birinci seri tedavide tek ajan olarak uygulananının güvenilirliği ile ilgili bir faz 2 çalışmada, daha önce metastazı için KT alan hastalarda tek ajan trastuzumab

haftalık olarak hastalık progresyonuna kadar uygulanmıştır. Tam ve parsiyel cevap oranı %26 ve klinik yarar oranı %38 olarak bulunmuştur.(84)Bu çalışmanın analizinde HER2 reseptörü 3+ olan hastalarda cevap oranlarının daha yüksek olduğu görülmüştür. Klinik yarar oranı bu grupta %48 dir. 12 aydan uzun takip ile %57 hastanın objektif yanıt ve, %51 klinik yarar sağlamış olarak hastalık progresyonu göstermeksizin hayatlarını sürdürmekte oldukları görülmüştür. Çalışmada tedavi iyi tolere edilmiş ve ciddi yan etki olarak 3 hastada kardiyak disfonksiyon saptanmış.

Trastuzumab çeşitli kemoteropötik ajanlarla kombinasyonlarını inceleyen faz 2 çalışmalar yapıldı. Bu çalışmalar sonucu elde edilen verilere göre vinorelbine, dosetaksel, karboplatin ve sisplatinin trastuzumab ile kombinasyonu sinerjistik etki gösterirken ,paklitaksel ve doksorubisinin trastuzumab ile kombinasyonu additif etki göstermiştir. Sisplatin ile yapılan çalışmada trastuzumab 250 mg yükleme dozu sonrası 100 mg haftalık idame dozuyla 9 kez ve sisplatin 75mg/m<sup>2</sup> doz ile ayda bir toplam 3 kez uygulanmıştır. Toplam cevap oranı %24,3 (yalnız parsiyel cevap) olarak saptanmıştır.(85)

Paklitaksel ile yapılan çalışmada tek ajan haftalık paklitaksel ile haftalık paklitaksel trastuzumab kombinasyonu karşılaştırılmış. Bu çalışmaya tümörü HER2 aşırı salınımı yapan hastalarla birlikte FISH testi ile normal HER2 değerlerine sahip olan hastalar da dahil edilmiş,ilacın bu hastalardaki etkisi de gözlenmiştir.Başlangıç dozu olarak 4mg/kg trastuzumab ve 90mg/m<sup>2</sup> paklitaksel ardışık uygulanmış ,ilerleyen haftalarda trastuzumab idame dozu olan 2mg/kg dan paklitaksel daha önceki dozdan uygulanmıştır. Tedavi hastalık progresyonu ya da tolere edilemeyen toksisiteye kadar sürdürülmüştür. Tedavi iyi tolere edilmiş en sık görülen yan etki nöropati olmuştur. Yedi hastada sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu %20 azalmıştır. Ciddi kardiyak etki 3 hastada gözlenmiştir. Toplam cevap oranı

populasyonun tamamında %56,8 , HER2/neu seviyesi normal olanlarda %41-%46 ve de HER2/neu aşırı salınımı olanlarda %67-%81 olarak saptanmıştır.(86)

Vinoralbine ile yapılan çalışmada HER2/neu aşırı salınımı olan 40 metastatik hastaya standart haftalık trastuzumab rejimi ve haftalık vinoralbine 25mg/m<sup>2</sup> doz ile progresyona ya da toksisite gözlenmesine kadar uygulanmıştır. Tedaviye cevap oranı %75 olarak saptanmıştır. Metastaz sonrası ilk tedavi olarak trastuzumab –vinoralbine kombinasyonu alan hastalarda bu oran %84, ikinci veya üçüncü seri tedavi olarak alanlarda %60 olduğu saptanmıştır.(87)

Dosetaksel ile ilgili çalışmalara bakıldığında bir faz2 çalışmada haftalık dosetaksel 35mg/m<sup>2</sup> ile trastuzumab 2mg/kg dozlarla uygulanmış tedaviye 3 haftada 1 hafta ara verilmiştir. Tedaviye cevap oranı %63, progresyona kadar geçen süre 9ay olarak saptanmış.Bir hastada konjestif kalp yetmezliği gelişmiştir.(88)

Trastuzumab ve kemoterapi kombinasyonunun geçerli olan kemoterapiden üstün olup olmadığını sınamak amacıyla randomize faz 3 çalışma düzenlenmiş, trastuzumab ile KT nin tek başına KT'ye göre etkinliği ve güvenirliliği karşılaştırılmıştır. Primer sonlanım noktası olarak hastalık progresyonuna kadar geçen süre kabul edilmiştir. Çalışmaya metastazları nedeniyle daha önce KT uygulanmamış olan HER2/neu aşırı salınımı olan ileri metastatik meme kanseri hastaları dahil edilmiştir. 469 hasta Doksorubisin (A) 60 mg/m<sup>2</sup> ya da Epirubisin(E) 75 mg/m<sup>2</sup> artı siklofosfomid(C) 600mg/m<sup>2</sup> tek başına veya bu kemoterapiye trastuzumab(T) eklenmesi olarak iki gruba randomize edilmiştir. Daha önce antrasiklinli KT alan hastalar paklitaksel 175mg/m<sup>2</sup> trastuzumab ya da tek başına trastuzumab koluna ayrılmıştır.trastuzumab standart dozlar ile haftalık diğer KT rejimleri 3 haftada bir uygulanmıştır. Tedavi hastalık progresyonuna kadar uygulanmış, kemoterapi ya da kontrol grubunda progresyon saptanan hastalarda (neredeyse hastaların yarısı), tek başına

trastuzumab ya da trastuzumab ile kombinasyon grubuna girebilmesine olanak sağlanmıştır. Trastuzumab ve KT kolunda progresyona kadar geçen süre 7,4 ay, tek başına KT kolunda ise 4,6 ay olarak saptanmıştır.( $p<0,001$ ) Tedaviye yanıt oranlarına bakıldığında trastuzumab ve KT kolunda %50 iken tek başına KT kolunda %32 olarak bulunmuştur. Otuz aylık ortanca takip süresinde trastuzumab ile tedavi relatif ölüm riskini %20 azaltmıştır. En önemli advers etki kardiyak disfonksiyon olduğu gözlemlenmiştir. Tek başına Antrasiklin ve siklofosfamid (AC)'ye göre trastuzumab+AC kolunda kardiyak toksisite riskinin artmış olduğu gözlemlenmiştir. Paklitaksel ve trastuzumab kolunda tek başına paklitaksel koluna göre daha küçük bir riske sahip olduğu görülmüştür.(89)

Tüm bu yan etki profiline rağmen kemoterapiye trastuzumab eklenmesinin belirgin klinik yararı gösterilmiştir. Bu çalışma sonucunda HER2/neu aşırı salınımı yapan metastatik meme kanseri hastalarının tedavisinde birkaç KT sonrası progrese hastalarda tek ajan olarak ya da ilk seri tedavide taksanlar ile kombine olarak kullanılması Birleşik Devletler İlaç ve Yiyecek Araştırmaları Federasyonu (FDA) tarafınca onaylanmıştır.

### **ADJUVAN TRASTUZUMAB TEDAVİSİ:**

Trastuzumab aşırı HER2 ekspresyonunda etkili olan bir antikordur. Trastuzumabın adjuvan tedavi olarak test edildiği üç randomize çalışmanın ilk sonuçları yayımlanmıştır. (90-93) HERA çalışmasında, lokal terapiden ve çeşitli standart kemoterapi rejimlerinden sonra bir ya da iki yıl süreyle verilen trastuzumab, trastuzumab verilmemesiyle karşılaştırılmıştır. Medyan bir yıl süren izlemden sonra, 1 yıl süreyle trastuzumab verilen grupla trastuzumab verilmeyen grup karşılaştırıldığında, trastuzumabla rekürens riskinde %46 azalma olduğu

görülürken (Risk oranı 0.54; %95 GA 0.43 - 0.67,  $p<0.0001$ ), genel sağkalımda bir fark saptanmamıştır ve kardiyak toksisite kabul edilebilir düzeyde bulunmuştur. (92)

NSABP B-31 çalışmasında aşırı HER2 ekspresyonu yapan nod pozitif meme kanserli hastalar randomize edilerek, 4 siklus AC (3 haftada bir) ardı sıra 4 siklus paklitaksel (3 haftada bir) veya aynı rejimin paklitakselle birlikte trastuzumab başlanarak 52 hafta verildiği gruplara ayrılmışlardır. NCCTCG N9831'de aşırı HER2 ekspresyonu yapan meme kanserleri hastalarda paklitaksel 12 hafta süreyle haftalık bir düşük doz şemasıyla verilmiş ve üçüncü bir kolda trastuzumab, paklitaksel tamamlanıncaya dek ertelenmiştir. 3351 hastada medyan iki yıl takip sonrasında birleşik analiz yapılmıştır. B31 ve NCCTCG N9831 çalışmalarının bu birleşik analizinde, iki çalışmanın kontrol kolları, paklitakselle eş zamanlı olarak trastuzumab başlanılan kollar ile karşılaştırılmıştır. (92) Rekürens riskinde %52'lik bir düşüş (Risk oranı 0.48; %95 GA 0.39-0.59, log-sıra  $p<0.001$ ) ve ölüm riskinde %33'lük (Risk oranı 0.67; %95 GA 0.48-0.93, log-sıra  $p=0.015$ ) bir düşüş olduğu gösterilmiştir. Kalp toksisitesi artmış olmasına karşılık, kabul edilebilir sınırlarda bulunmuştur. (93)

Yayımlanan üç çalışma, uygun hastalarda hastalısız sağkalım ve genel sağkalımda klinik olarak anlamlı iyileşmeler olduğunu ve bu sırada genellikle geriye dönüşlü ve kabul edilebilir düzeyde kardiyak toksisiteye neden olduğunu göstermiştir. (90-93)

Kardiyak toksisite herceptin kullanımına başlama antrasiklinli tedaviye daha yakın bir zamanda olduğu takdirde daha fazla olmaktadır. (91) Buna karşılık paclitaxel ile birlikte verildiği takdirde daha sonra verilmesine göre sağkalım avantajı daha fazla olmaktadır. (92-93)

## AKCİĞER'İN RADYASYONA CEVABI

Akciğer radyasyona orta ve geç dönemde etki gösteren bir organdır. Akciğer hasarı başlıca iki grupta toplanabilir; tedavi sonrası 2 ile 6 ay içinde gelişen akut pnömoni ve yavaşça, aylar ya da yıllar içinde gelişen fibrozis.

Radyasyonun akciğerler üzerine olan erken etkisi radyoterapiden sonra 1 ile 3 ay arasında görülmektedir ve pnömoni (pnömopati)nin neden olduğu konjesyon, öksürük, dispne, ateş ve göğüs ağrısı ile karakterizedir. Erken dönemde doku histolojisine bakıldığında tip2 pnömositlerde artış ve parankimal hücreler ile sülfaktan konsantrasyonunda azalma görülmektedir. Doku içinde ödem ve inflamatuvar hücreler bulunmaktadır ve alveolar makrofajlar olaya hakimdir. Hematojenöz eksuda sıvısı alveoelleri doldurur ve fibrin artışı sonucu hyalen membranlar meydana gelir.(94) Bu dönemde radyolojik olarak ışınlanan alanla uyumlu infiltrasyon tanımlanabilir.

Pnömoni genelde birkaç hafta içinde geriler ve bu aşamayı radyoterapiyi izleyen aylar ve yıllar içinde gelişen kronik inflamasyon ve fibrozis safhası takip eder. Bu safhada vasküler hasar ve kollagen birikimi belirgin hal alır.(95) Eğer hacim etkisi ufak ise hasta asemptomatik olarak seyir gösterir, sadece bu dönemde olarak belirlenebilir. Eğer daha büyük hacim ışınlandıysa hastada öksürük, nefes darlığı, difüzyon kapasitesi ve respiratuvar hacim azalmasına bağlı sıkışma hissi ortaya çıkabilir.

Pnömoni ile fibrozis arasındaki ilişki hala tam olarak açıklanabilmiş değildir. Hayvan ve insan çalışmalarından toplanan ortak veri, vasküler hasar, koagülasyon kaskadı, hücresel adesyon molekülleri, proinflamatuvar ve profibrotik sitokinler ve oksidatif stresin bu olaya katkıda bulunduğunu göstermiştir. Proinflamatuvar sitokin interlökin 1 ve profibrotik sitokin interlökin 6 ve TGFB plazma konsantrasyon seviyelerinin radyoterapi öncesi ve esnasında

artmış olanlardaradyasyona bağlı pnömopati gelişmesi daha belirgin. Radyoterapi sonunda yüksek TGF B konsantrasyonuna sahip hastalar radyoterapi sonrası 6 ay ile 2 yıl gibi bir sürede daha fazla semptomatik radyasyona bağlı pulmoner hasar gelişmesi riskine sahiptirler.(96)

. Progresif pulmoner fibrozis daha önce çoğunlukla asemptomatik olan çoğu hastada radyasyondan yaklaşık 1 yıl kadar sonra görülür. Zamanla birlikte solunum fonksiyonlarındaki zorlukta ciddi artışlar gelişir ve genellikle geri dönüşümsüzdür. Bu ciddiyet üç ana faktöre bağlıdır; ışınlanan hacime, doza ve fraksiyon büyüklüğüne. Akciğer fraksinyasyona kısmi olarak hassas olup,  $\alpha/\beta$  oranı 3 Gy olarak kabul görmektedir.

Akciğer geç etki gösteren organların en duyarlısıdır. Akciğerin fonksiyonel subünitesi pulmoner lobüldür ve terminal bronşiol ve respiratuar parankimden oluşur. Fonksiyonel subüniteler çok büyük sayılarda bronşiol ve alveollerin birlikte çalışmasını sağlayacak şekilde paralel olarak ayarlanmış olduğundan dolayı doz kadar hacim de önem kazanmaktadır. Fonksiyonel subünitelerin bu şekilde organizasyonu sonucu, organ olarak akciğerin doz kısıtlayıcı bir hal alabilmesi ancak çok büyük hacimlerin ışınlanması ya da kalan akciğer dokusunun yaşam için gerekli yeterliliği göstermemesi durumunda söz konusudur.(97)

Akciğer hasarı ayrıca kemoterapi ajanlarının özellikle de bleomisin, siklofosfamid ve mustine kullanımıyla da görülebilir. Radyasyonun bu ilaçlarla birlikte kullanımı akciğer toleransını düşürür.



## KALP'İN RADYASYONA CEVABI

Radyasyona duyarlılık bakımından kalp, akciğer ile santral sinir sistemi arasında bir yerde bulunur. En sık görülen radyasyona bağlı kalp hasarı akut perikardittir ve oldukça ender olarak radyoterapi sonrası ilk yılda gözlemlenir. Genellikle benign karakterde olduğu bilinen transient perikarditten, kardiyak konstrüksiyon ile birlikte görülen yoğun skleroza varan değişik ciddiyette görülebilmektedir. Nefes darlığının eşlik ettiği ön göğüs ağrısı ve düşük dereceli ateş benzeri bulgular gözlemlenir. Eşik doz değeri eğer kalbin % 50 sinden fazlası ışınlanıyor ise 20 Gy kadar düşük değerlerde olabileceği gibi parsiyel ışınlamalarda daha yüksektir. Konvansiyonel fraksinyasyonlar uygulanarak 45- 50 Gy ışınlama yaklaşık % 11 oranında insidansa neden olmaktadır. Kalp için  $\alpha/\beta$  oranı 1 Gy gibi düşük değerlerdedir, bu nedenle fraksinyasyon önemli bir koruyucu etkiye neden olmaktadır.

Radyasyon bağımlı kardiyomyopati , yavaş gelişen ve yıllar içinde ilerleyen yoğun ve yaygın fibrozis sonucu gelişir ve fonksiyon kaybına yol açar. Azalmış kardiyak fonksiyonlar kalbin büyük bölümüne 30 Gy kadar doz uygulanmış olan Hodgkin Lenfoma hastalarında daha sık görülmüştür ve kalbin bir bölümünün korunması saptanan insidansı azaltmaktadır.

Kemoterapi ajanlarından adriamisin radyasyona bağlı komplikasyonların sıklığını arttırmaktadır. Adriamisin radyasyon tedavisinden yıllar sonra gizli radyasyon hasarını ortaya çıkartabilir(97)

### III. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarında hayvan etik kuralı olarak benimsenen 3R (Reduction azaltma, Replacement-yerine koyma, Refinement-özen gösterme) kurallarına uygun olarak yetiştirilmiş olan 60 adet dişi genç erişkin Wistar Albino sıçanı toplam 6 gruba ayrılmıştır. Gruplar şu şekilde özetlenebilir.

- 1.Grup: Eşzamanlı trastuzumab ve radyoterapi grubu
- 2.Grup: Trastuzumab sonrası radyoterapi grubu
- 3.Grup: Radyoterapi sonrası trastuzumab grubu
- 4.Grup: Yalnız trastuzumab grubu
- 5.Grup: Yalnız radyoterapi grubu
- 6.Grup: Kontrol grubu

Çalışmada kullanılan trastuzumab (Herceptin) İ.Ü.C.T.F. Medikal Onkoloji Bilim Dalı polikliniğinde hastalara uygulanan ilacın artan ve atık olarak imha edilmesi planlanan dozlarının toplanması süreti ile elde edilmiş olup, soğuk zincir kurallarına uygun olarak korunmuş ve taşınmış ve aynı gün içinde sıçanlara uygulanmıştır.

Gerek Trastuzumab gerek ise radyoterapi uygulamaları öncesinde tüm sıçanlar intramusküler yolla 50 mg/kg Ketamin HCl uygulanması suretiyle anesteziye edilmişlerdir.

Trastuzumab uygulanımı öncesi sıçanların ağırlıkları ölçülerek belirlenmiş ve trastuzumab 6mg/kg doza karşılık gelen miktarda sıçanların kuyruk venlerinden puşe olarak uygulanmış ve aynı anda 2cc serum fizyolojik subkutan yolla sıçanlarının sırt derilerinin altına uygulanmıştır.

Trastuzumab ile eşzamanlı radyoterapi grubunda, ilk olarak trastuzumab uygulanmış ve bunu takiben 2 saat içinde sıçanlar nakledilerek ışınlamaları yapılmıştır. Trastuzumab

sonrası radyoterapi ve radyoterapi sonrası trastuzumab gruplarında ise uygulamalar arasında 1 hafta süre bırakılmıştır.

İşinlama öncesi sıçanlar ketamin HCl ile anestize edildikten sonra hazırlanmış olan köpük düzenek üzerine simülasyon ile ölçümleri yapılarak tespit edilmiş olan 4x30 cm boyutlarındaki radyoterapi alanına toraks bölgeleri uygun gelecek bir şekilde flasterlerle sırtüstü konumda kollar ve bacaklarından sabitlenmiş ve işinlamaları uygulanmıştır. Bir seferde en fazla iki sıçan işinlanmıştır. İşinlamalar Co 60 teleterapi cihazı ile 4x 30 cm alan boyutunda 64 SSD ile ve 2 cm derinliğe tek fraksiyonda 12Gy doz ile tek ön alandan uygulanmıştır.

Uygulamalar sonrasında gruplar içlerinde en fazla 5'er sıçan bulunacak şekilde ayrı ayrı kafeslere bölünmüş ve deney hayvanları laboratuvarında , çalışma sonlanıncaya kadar geçen süre boyunca günlük taze çeşme suyu ve ad libidum ile beslenmiş ve bakımları yapılmıştır.

Çalışmaya ilk uygulamaları takiben 16 hafta sonunda son verilmiş, deney hayvanları eter inhalasyonu ile sedatize edildikten sonra servikal dislokasyon uygulanması ardından toraks bölgeleri diseke edilerek akciğer ve kalpler en-blok çıkartılmış ve steril bir kap içinde % 10 formaldehit ile muhafaza edilerek ve her bir sıçana ait parçaya ayrı bir numara verilmesi suretiyle patoloji incelemesi için nakledilmiştir.

Patolojik incelemede bulunan patolog grupların hangi işleme tabi olduğunu ve sıçanların hangi gruplara dahil oldukları konusunda bilgilendirilmemiş, dolayısıyla incelemenin kör olarak yapılması sağlanmıştır.Öncelikle akciğerlerin ve kalbin çeşitli bölgelerinden örnekler alınıp, parafin bloklama yöntemini takiben seri kesitleri Hemotoksilen-Eosin ve Mason-Trikrom boyası ile boyandıktan sonra ışık mikroskopisi ile her kesitte görülen fibrozis oranının skorlanması sureti ile her sıçana ait akciğerin ve kalbin totaline ait

ortalama fibroz skoru elde edilmiştir. Fibrozis alveol duvarlarının kollegen birikimine bağlı olarak kalınlaşması olarak tanımlanmıştır. Fibrozis skorlaması 0 ile 4 arasında değerlere göre sayısal olarak derecelendirilmiş olup, gözlemlenen fibroz yoğunluğunu belirten skorlama şu şekildedir.

Skor 0: Hiç fibrozis olmaması ya da alveol/ bronsiol duvarında minimal fibrozis

Skor 1: Akciğer yapısına belirgin derecede hasar oluşmayan orta derecede fibrozis

Skor 2: Akciğer yapısında belirgin hasar oluşturan artmış fibrozis varlığı ve fibröz bant ya da küçük fibröz kitle yapısı içermesi

Skor 3: Akciğer yapısının ciddi şekilde değiştiren fibrozis ve büyük fibröz alanlar içermesi

Skor 4: Total fibrozis varlığı

Patolojik değerlendirme sonucunda her sıçanın kalbine ve akciğerlerine ait ortalama skor değerleri istatistik bölümüne iletilmiş ve istatistiksel değerlendirme yapacak kişilere yine benzer şekilde grupların neler olduğu bilgisi herhangi bir yorumlamaya gidilmemesi için belirtilmemiş, sadece hangi sıçanların grup oluşturduğu belirtilmiştir. Çalışmadaki grupların normal dağılıma uygunluğu yani gruplar arasında homojen bir dağılım olup olmadığı Kolmogorov simirnov testi ile değerlendirildi. Grupların homojen bir dağılım izlemesi üzerine gruplar arası karşılaştırmalarda Tek yönlü ANOVA testi ve farklılığın hangi grup(lar) arasında olduğunu belirlemek için ise Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık sınırı olarak  $p < 0.05$  değeri kabul edildi.

#### IV.BULGULAR:

Çalışmanın 16 haftalık bekleme süresini sonunda gruplarda birer kayıp olması üzerine hiçbir uygulama yapılmaksızın izlem yapılan kontrol grubundan dokuz sıçan sakrifiye edilmiş ve toplamda 54 sıçan değerlendirilmeye alınmıştır.

Çalışmamızın patolojik değerlendirmesi sonucunda tüm gruplardaki sağkalan 54 adet sıçana ait kalplerin Mason-trikrom boyaması sonrasında miyokardial fibrozisin değerlendirilmesinde ışık mikroskopisi ile sıçanlar arasında herhangi bir fark saptanmamış hiçbir kardiyak fibröz görülmemiş ve tamamı 0 olarak skorlanmıştır

Sıçanların tamamının pulmoner fibrozis skor dağılımlarına bakacak olursak 54 sıçanın 14 ü (%27,5) skor 0, 18'i (%35,3) skor 1, 15'i (%29,4) skor 2, 3'ü (%5,9) skor 3 ve 1 tanesinde ise (%2) skor 4 olarak değerlendirilmiştir.(grafik1) . Akciğer skorlamalarına ait örnekler ise Resim 1-4 ile belirtilmiştir.

Akciğerin istatistiksel değerlendirmelerinde ise grupların fibrozis skorları normal dağılıma uygunluğu tek örneklem Kolmogorov simirnov testi ile incelenmiş ve homojen özellik gösterdiği görülmüştür. Grupların fibrozis değerleri ortalama ve standart sapma olarak şu şekilde bulunmuştur. (Grafik 2)

Grup1 (eşzamanlı trastuzumab+RT ): 1,44 +/- 0,72 std

Grup2 (Trastuzumab sonrası RT ): 1,77 +/- 1,20 std

Grup3 (RT sonrası trastuzumab): 1,75 +/- 0,70 std

Grup4 (Tek başına trastuzumab): 0,25 +/- 0,46 std

Grup5 (Tek başına RT): 1,62 +/- 0,74 std

Grup6 (kontrol): 0,33 +/- 0,50 std

Gruplar arası karşılaştırmalarda ise Tek yönlü ANOVA testi kullanılmış olup, farklılıkların hangi gruplar arasında anlamlı olduğu ise Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Tüm bu değerlendirmelerde  $p<0,05$  istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edilmiştir. Tüm bu değerlendirmeler sonucunda

G1 ile G4 ve G6 arasında istatistiksel anlamlı fark saptandı.G1 skoru hem G4 hem de G6 skorlarından anlamlı derecede yüksek bulundu.

G2 ile G4 ve G6 arasında istatistiksel anlamlı fark saptandı.G1 skoru hem G4 hem de G6 skorlarından anlamlı derecede yüksek bulundu.

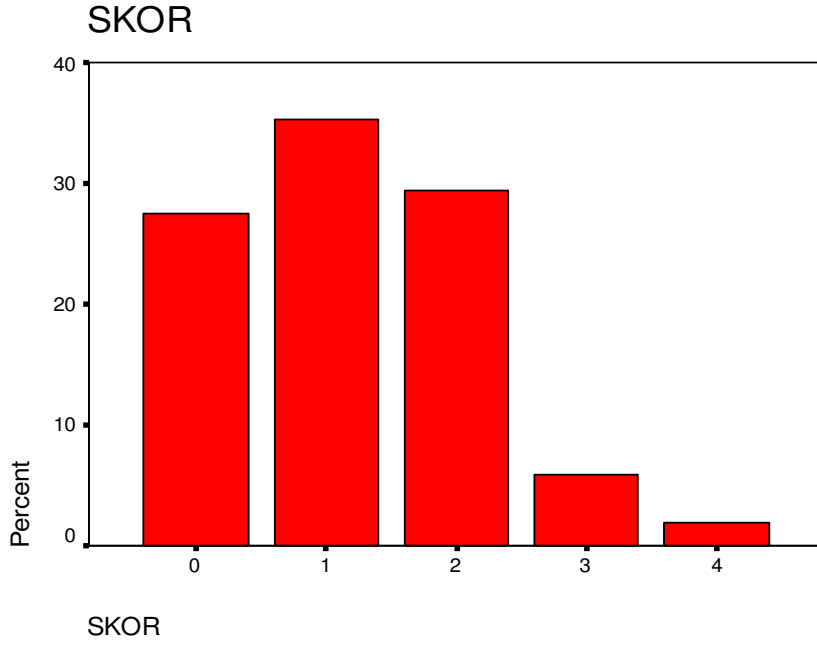
G3 ile G4 ve G6 arasında istatistiksel anlamlı fark saptandı.G1 skoru hem G4 hem de G6 skorlarından anlamlı derecede yüksek bulundu.

G4 ile G1 , G2, G3 ve G5 arasında istatistiksel anlamlı fark saptandı.G4 skoru tüm bu G1, G2, G3 ve G5 skorlarından anlamlı derecede düşük bulundu

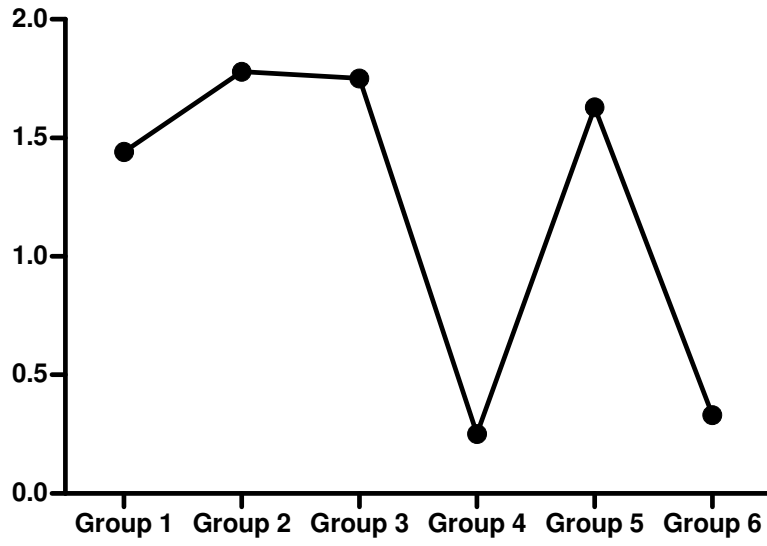
G5 ile G4 ve G6 arasında istatistiksel anlamlı fark saptandı.G1 skoru hem G4 hem de G6 skorlarından anlamlı derecede yüksek bulundu.

G6 ile G1 , G2, G3 ve G5 arasında istatistiksel anlamlı fark saptandı.G4 skoru tüm bu G1, G2, G3 ve G5 skorlarından anlamlı derecede düşük bulundu

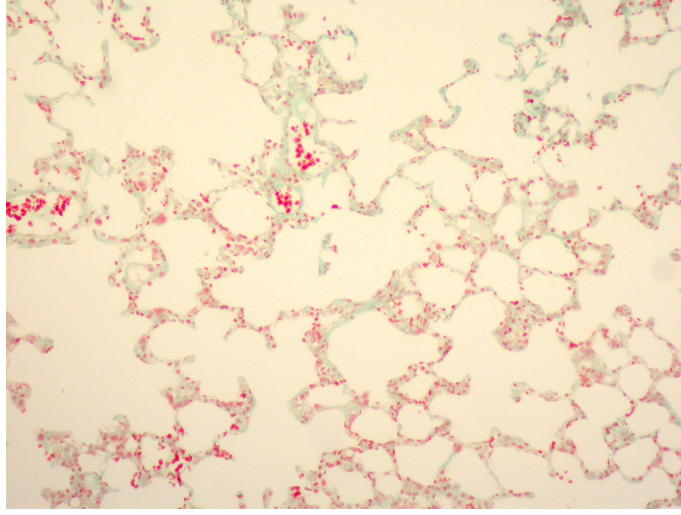
Özetlenecek olunursa G1, G2, G3,ve G5 arasında anlamlı fark saptanmamış , Bu grupların tamamı G4 veG6 ile anlamlı derecede belirgin farklılık saptanmış, bu iki gruba kıyasla fibrozis skorları belirgin derecede yüksek bulunmuştur.( $p<0,05$ ). İçinde radyoterapi bulunan yani eşzamanlı veya ardaşık tedaviler ile tek başına radyoterapi kolları kendi aralarında karşılaştırıldıklarında aralarında anlamlı fark olmamasına rağmen bu grupların tamamı radyoterapi içermeyen tek başına trastuzumab ve hiçbir tedavi almayan kontrol gruplarıyla kıyaslanınca aralarında istatistiksel olarak anlamlılık gösteren farklar bulunmuştur.



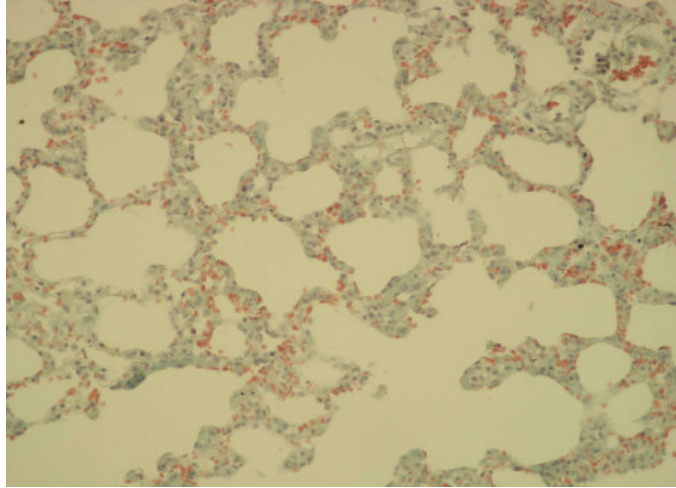
**Grafik 1** Akciğer fibrozis skorlarının tüm denekler içinde dağılım oranları



**Grafik 2:**Akciger ortalama skorlarının gruplara göre dağılımı

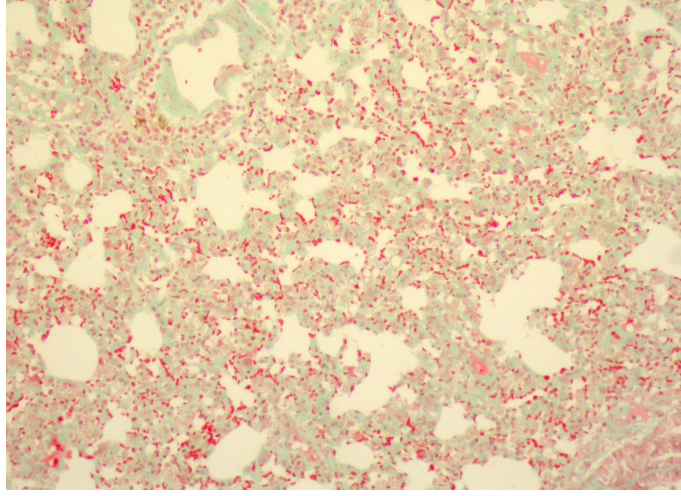


**Resim 1:** Skor 0. Hiç ya da Minimal fibrozis Mason-trikrom boyaması ile x 200 büyütme

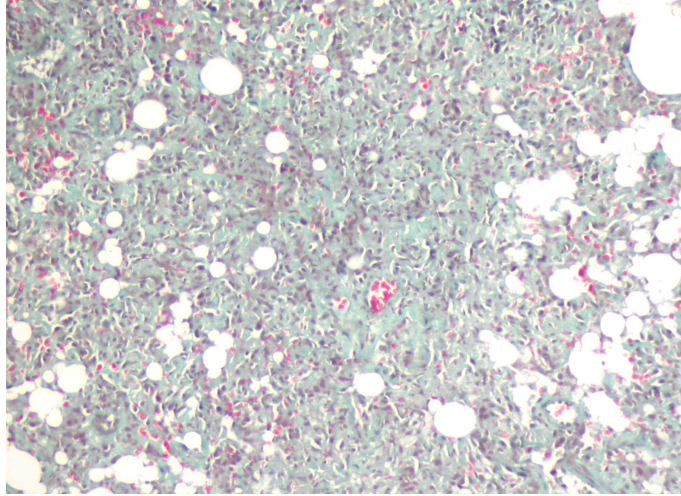


**Resim 2:** Skor 1 Orta derecede Akciğer fibrozisi Mason-trikrom boyaması ile x 200 büyütme

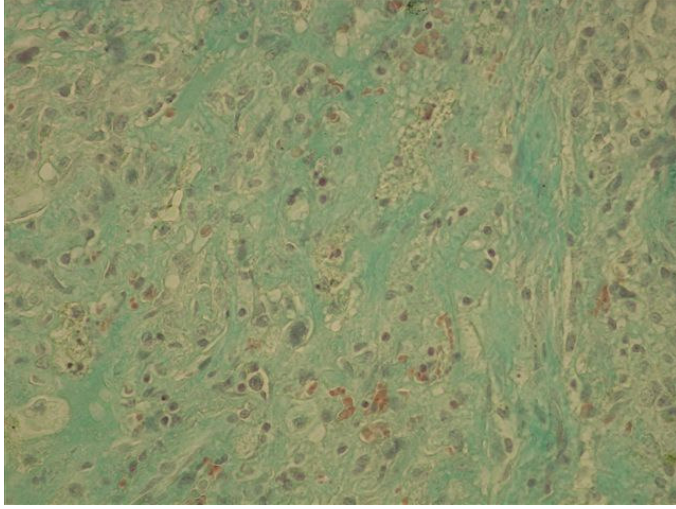




**Resim 3:** Skor 2 İleri derecede akciğer fibrozisi Mason-trikrom boyaması ile x 200 büyütme



**Resim 4:** Skor 3 Ciddi akciğer fibrozisi Mason-trikrom boyaması ile x 200 büyütme



**Resim 5:** Skor 4.Total Akciğer fibrozisi Mason-trikrom boyaması ile x 200 büyütme

## V. TARTIŞMA:

Çalışmamızdaki dozların seçiminde çalışma kurgusunda tek fraksiyon radyoterapi ve bir kez trastuzumab uygulaması yapılacağı göz önüne alınarak trastuzumab dozu olarak insanlarda 3 haftalık kürlerde standart idame doz olarak kabul edilen 6mg/kg kabul edilmiş, ilacın insandaki önerilen uygulanım şekli olan 250 cc izotonik içinde infüzyon benzeri bir uygulamanın sıçanlarda volum artışına ve dolayısıyla kardiyak yüklenmeye neden olacağı düşünüldükten, trastuzumab intravenöz yolla puşe olarak uygulanmış ancak bu uygulama ile eş zamanlı olarak 2 cc izotonik sıvı subkutan yolla uygulanmak sureti ile ilaç dilüe edilmiştir.

Herceptin'in (trastuzumab) insanda yarılanma ömrü 3 hafta iken sıçanlarda bu sürenün 1 hafta olduğunu gösteren çalışmalardan yola çıkılarak ardışık uygulamaların yapıldığı 2. ve 3. gruplarda uygulamalar arasında 1 hafta ara verilmiştir.(98)

Çalışmamızın planlama aşamasında daha önce deneysel olarak yapmış ve benzer şekilde sıçanlarda Akciğer fibrozisini değerlendirmiş olduğumuz çalışmamızı model olarak kullandık.(99) Kullanılan doz ve ışınlama modeli ile akciğerlerde radyasyona bağlı fibrozis gelişmesi için gereken süreler bu çalışma ile benzer şekilde planlanmıştır. Daha önceki çalışmalarımızdan akciğerde radyoterapi ilişkili fibrozis konusunda tecrübe sahibi olmakla beraber kalpte bu etkinin görülmesi konusundaki deneysel modeller hususunda tecrübe sahibi değidik. Fakat gerek ışınlanılan alanın kalbi de içermesi gerekse de Trastuzumabın çeşitli kemoterapilerle birlikte kullanımıyla kardiyotoksik etkilerinin görülmesi üzerine çalışmamızdaki patolojik incelemelere kalbi de dahil etmeyi uygun bulduk Çalışmamızın patolojik değerlendirilmesi sonucunda 54 sıçanın hiçbirisinde miyokarda fibrozis görülmemesinin nedenini sorguladığımızda literatürdeki radyoterapi ve kalp toksisite deneylerde uygulanan dozun 16 ile 20 Gy /fr gibi bizim dozumuza oranla bariz derecede

yüksek olduğunu ve daha düşük dozlar kullanıldığında myokarda radyoterapi etkisinin görülmesi için 300 ile 400 gün kadar süre beklenmesi gerektiği bilgisiyle karşılaştık.(100, 101) Bu bilgiler eşliğinde bizim sonuçlarımızda ki histolojik bulgunun olmamasını dozumuzun kardiyak etkiyi gözlemleyemeyeceğimiz kadar düşük kaldığı ya da bu dozlarla etkiyi görmemiz için geçmesi gereken süreye ulaşmadan deneyi sonlandırma gereksinimi duymamız gösterilebilir. Kardiyak etkiyi inceleyen çalışmalarda kardiyak ışınlama sırasında akciğerler bloklanmış ve ışın alması engellenilerek yüksek dozlara çıkılmıştır. Akciğer geç etki konusunda en hassas organlardan biridir, bu nedenle toraks bölgesinin tamamı ışın alanımızda olan çalışmamızda kardiyak etkiyi görmemizi sağlayacak dozlarda akciğer toksisitesi beklenenden çok fazla görüleceğinden erken dönemde görülecek hayvan kayıpları nedeniyle kalp etkisini göreceğimiz süreler kadar beklememiz imkansız görülmektedir, bu nedenle çalışmamızın kurgusunu geç etkiye hassas olan akciğere göre planladık ve akciğerde radyasyona bağlı fibrozis gelişmesi için gerekli olan 16. hafta sonunda deneyimizi sonlandırdık.

Çalışmamızın sonuçlarını akciğer fibrozisi yönünden değerlendirecek olursak trastuzumab'ın tek başına kullanımı ek toksisiteye neden olmazken, ilacın radyoterapi alan hastada eşzamanlı ya da ardışık kullanımlar arasında yan etki bakımından radyoterapinin akciğerde beklenen etkisine herhangi bir ek toksisite eklenmediği görülmüştür.

Klinikte Trastuzumab'ın adjuvan tedavide kullanımı yeni olduğundan Trastuzumab ile radyoterapi beraberliği ile ilgili çok sayıda veriye ulaşamamakta. Birkaç adet klinik çalışmanın ön sonuçları sunulmuş ve ancak özetlerine ulaşmak mümkün olmuştur.. Bu çalışmalardan ilki Horton ve ark.tarafından yapılmış, kemoterapiye refrakter lokal ileri ve rekürren meme kanserli hastalarda herceptin ve radyoterapi beraberliğinin incelendiği bir fazI/II çalışma olarak tasarlanmış. Kardiyak sorunu saptanmış ya da tümörleri HER2neu aşırı

salınımı yapmayan hastalar yalnız radyoterapi alırken, kardiyak sorunu olmadığı çeşitli klinik taramalarla saptanmış olan hastalara haftalık 2 mg/kg Herceptin + 50 Gy radyoterapi meme ve periferik lenfatik bölgesine 5 haftada uygulanmış ve tedavi bitiminde hastalar cerrahiye verilmiş. Primer radyoterapi planlanan hastalarda 70 Gy doza çıkılmıştır. Çalışmada tedavi cevabı yanı sıra akut ve subakut yan etkiler de değerlendirilmeye alınmış. Çalışma hasta sayısındaki yetersizlik nedeniyle erken sonlandırılmıştır. Çalışmaya alınan 19 hastanın 7sinde kardiyak taramalarda bozukluk çıkması nedeniyle eşzamanlı herceptin-RT grubuna alınamamış. Hastalar medyan 26 ay takipte tutulmuşlar. Akut toksisite olarak 2 adet grad3 cilt toksisitesi ve 1 adet lenfopeni saptanırken sadece 1 hastada %10 dan fazla asemptomatik kardiyak fonksiyonlarda azalma saptanmış. Kardiyak bakımdan semptomatik hastaya rastlanmamış. Çalışmanın sonucunda toplan sağkalım herceptin+RT grubu 35 aya karşılık primer RT kolunda 29 ay olarak bulunmuş ve istatistiksel anlamlık göstermemiş. Herceptinin Radyoterapi ile eşzamanlı uygulanmasının yan etkileri arttırmadığı vurgulanmıştır.(102)

Raben ve ark. tarafınca yürütülen çalışmada, eşzamanlı herceptin ile ya da herceptin uygulamaksızın eksternal radyoterapi ile tedavi edilen hastalarda akut meme ve göğüs duvarı toksisitesi karşılaştırılmış. Çalışmaya post-opere 35 hasta AC kemoterapisini takiben alınmış. Hastalar toksisite açısından haftalık takibe alınmışlar. Halsizlik, Karnofski performans skoru, döküntü ya da dermatit, ödem ve ağrı bakımından değerlendirilmişler. Hastalar meme veya göğüs duvarlarına 50Gy ve insizyona 10 Gy ek doz ile tedavi edilmişler. Çalışmanın değerlendirilmesinde grad 2 ve üstündeki akut toksisiteler karşılaştırılmış ve KPS, halsizlik, ödem, cilt reaksiyonu ve meme ağrısında herceptin alan ve almayan grup arasında anlamlı bir fark gösterilememiş. Geç etkiler için değerlendirmeler halen devam etmekte olduğu belirtilmiş.(103)

Bellon ve ark nın Meme kanserinin adjuvan tedavisinde eşzamanlı Trastuzumab ve radyoterapi başlıklı çalışmalarında evre 2 ve 3 meme kanserli 26 hasta retrospektif olarak irdelenmiş. Hastalardan 21 i eşzamanlı haftalık Herceptin 2mg/kg, 5 tanesi ise 3 haftada bir 6mg/kg dozunda herceptin almış ve tüm hastalara ek tedavi rejimleri uygulanmış. Bu rejimler neoadjuvan herceptin/vinoralbin sonrası adjuvan doksorubisin ya da adjuvan AC takiben dosetaksel şeklindeymiş. Bu KT ler ile radyoterapi başlangıcı arasında 1 ay kadar süre ara bırakılmış. 5 hasta sadece tanjansiyel alanlardan ve 21 hasta buna ek olarak anterior supraklavikular bölgeden (bu hastaların 10 tanesinde aksilla RT+) radyoterapiye alınmış. 26 aylık ortalama takip süresinde 2 hastada (%8) grad2 radyasyon pnömonisi saptanmış.öksürük ve eforla artan dispne yakınmaları olan hastaların toraks BT lerinde her ikisinde RT alanlarında opasiteler saptanmış. İki hastanın bulguları da herhangi bir ilaç ya da steroid uygulamasına genel duyulmaksızın gerilemiş. Yapılan incelemede her iki hastanın göğüs duvarına 50.4 Gy + 10 Gy elektron boost ve supraklaviküler fossaya 45 Gy (hastalardan birine 6 Gy nodal rekürrense yönelik ek doz uygulanmış) uygulanmış olduğu görülmüş. Başka bir hastada ise tedavi bitiminden 6 ay kadar sonra egzersiz dispnesi ve göğüs ağrısı semptomları gelişmiş ve toraks BT de buzlu cam görüntüsü saptanan hastanın semptomları zaman içinde kendiliğinden gerilemiş, bu hasta pnömoni olarak değerlendirilmemiş.Bunların dışında 12 hasta (%46) grad1 akut cilt reaksiyonu, diğer 12 hasta grad 2 ve 8 hasta grad 3 toksisite göstermişler. Hiç grad 4 cilt toksisitesi görülmemiş. Çalışmanın sonucunda Radyoterapi ile eşzamanlı Herceptin uygulanmasının kabul edilebilir toksisiteye yol açtığını belirtilirken, %8 pnömoninin ardışık tedavilerde görülenlerden daha fazla olduğunu fakat eşzamanlı sistemik tedavi-RT uygulamalarına kıyasla uyumlu olduğu belirtilmiştir.(104)

Belkacemi ve ark.nın Eşzamanlı trastuzumab ve radyoterapi uygulanmasının riski başlıklı çalışmalarının özetinde evre2 ve 3 meme kanseri olan ve trastuzumab ve Radyoterapi

ile eşzamanlı olarak tedavilerini tamamlamış olan 53 hasta incelenmiş.12 hasta haftalık ve 41 hasta 3er haftalık kürlerle trastuzumab kullanmış. 27 hastaya neoadjuvan KT olarak Antrasiklin ve Taksan içeren kombinasyonlar ardışık olarak kullanılmış, Trastuzumaba Antrasiklinli KT bittikten sonra başlanılmış. Radyoterapi dozu olarak tüm meme 45-50Gy ve /veya 10-16 Gy boost , ya da göğüs duvarına 50Gy uygulanmış. 41 hastada M.Internal zincir ve supraklaviküler bölge tedaviye alınmıştır.Toksisite değerlendirmelerinde dermatit, özefajit ve sol ventriküler disfonksiyonu incelenmiştir.Grad2 cilt toksisitesi%51 ve özefajiyal toksisite %13 olarak bulunmuş. Radyoterapi sonrası sol ventrikül disfonksiyonu 22 hastada gözlemlenmiş, bunlardan 14'ü grad1, 6'sı grad2 ve 2'si grad3 toksisiteymiş. Grad 2 ve daha fazla akut kardiyak toksisite için olumsuz faktörler arasında postmenopozal durum, mamma interna radyoterapisi ve haftalık herceptin uygulaması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş. Multivariye analiz sonucu haftalık herceptin ve radyoterapinin eşzamanlı kullanımının akut kardiyak toksisite ve grad 2 veya daha fazla dermatit için bağımsız prognostik faktör olduğu bulunmuştur. Özefajit için (grad2 ve üstü) haftalık herceptin-RT eşzamanlı uygulaması ve total mastektominin iki bağımsız olumsuz prognostik faktör olduğu belirtilmiştir. Çalışmanın sonucunda 3'er haftalık herceptinli uygulama ile kıyaslandığında eşzamanlı haftalık herceptin-RT uygulanmasının cilt ve özefagus toksisitesini arttırdığı ve sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunu düşürdüğü görülmüştür.(105)

Perez ve ark.'nın NCCTG N9831 çalışmasının kardiyak güvenliği ile ilgili verilerini açıkladıkları, Radyoterapi ve eşzamanlı Trastuzumab HER2-pozitif meme kanserli hastaların adjuvan tedavisinde iyi tolere edilmiştir başlıklı oral presantasyonun özetinde belirtildiği üzere, çalışmaya HER2-pozitif invazif meme kanseri olan 3505 hasta katılmış ve çalışmada Doksorubisin(A), Siklofosfamid(C) 'i takiben Paklitaksel(T) ve ardışık ya da eşzamanlı Herceptin(H) uygulamasının etkinliği değerlendirilmiştir. Radyoterapi(RT) lumpektomi

uygulanan ya da 3'den fazla lenf nodu pozitif olan hastalara kemoterapiyi takiben Herceptin ile eşzamanlı olarak uygulanmış. 1,5 yıllık izlem sonrası yapılan ilk incelemelerde Herceptinin hastaliksız sağkalımı belirgin olarak arttırdığı görülmüş. Hastaların yaklaşık %80'i radyoterapi ve eşzamanlı herceptin almış. Tedavi iyi tolere edilmiş ve 3 yıllık kardiyak olay kümülatif insidansına bakıldığında AC-T kolunda %3, AC-T-H kolunda %2,5 ve AC-TH kolunda %3,3 olarak saptanmış. Kardiyak olay insidansı AC-T-H koluna dahil olan hastalardan RT almayanlarda %2 iken, sol taraf RT alanlarda %2 ve sağ taraf RT alanlarda yine %2 olarak bulunmuş. AC-TH kolunda ise bu oran RT almayanlarda %4 iken sol taraf RT alanlarda %2 ve sağ taraf RT alanlarda %2 olarak bulunmuştur. Kardiyak olay bakımından sağ veya sol taraf RT alanlar arasında ve RT alan veya RT almayanlar arasında belirgin fark saptanmamış. Herceptin ile Radyoterapi birlikteliği kardiyak olay bakımından güvenli görülmektedir.(106)

Yukarıda bahsedilen çalışmaların çoğu geç yan etkiler bakımından takipleri sürmekte ve sonuçları henüz tam olarak açıklanmış olmamalarına rağmen bizim çalışmamızın sonuçlarına benzer bir şekilde Trastuzumab ve RT birlikteliğinin pulmoner fibrozis ve kardiyak toksisite bakımından belirgin bir katkı sağlamadığı yönündedir.



## VI. SONUÇ

Çalışmamızın sonucunda Radyoterapiye Trastuzumab eklenmesinin akciğer fibrozisi bakımından gerek eşzamanlı tedaviler, gerek ise ardışık uygulamalarda radyoterapinin beklenen yan etkilerine belirgin bir toksisite ekmediği patolojik olarak belirtilmiş olup bu bulguların klinik çalışmalarla desteklenmesi ilacın kullanımının zamanlaması hakkında daha net fikir sahibi olunmasını sağlayacaktır. Kardiak fibrozis değerlendirmesi için daha yüksek radyoterapi dozları ya da daha uzun takip süreli çalışmalar gerekmektedir.

## VII. ÖZET

Adjuvan Trastuzumab'ın (T) kemoterapi ile kombine edilmesinin HER2 pozitif meme kanserinde genel sağkalımı arttırdığı gösterilmiştir. Bu nedenle adjuvan kullanımı sırasında postoperatif radyoterapi(RT)ile eş zamanlı kullanımı gerekebilir. Ancak T'ın RT ile kombinasyonunun geç yan etkilerini belirten yeterli veri bulunmamaktadır. Radyasyonun geç etkilerini gözlemlenmede en duyarlı organlardan biri akciğerdir. Bu çalışmada eşzamanlı veya ardışık T uygulamalarının sıçanlarda RT'ye bağlı pulmoner fibrozis ve kardiyak toksisite gelişimine katkısının olup olmayacağı araştırılmıştır.

54 adet dişi Wistar albino sıçanı 6 deneysel grupta değerlendirmeye alınmıştır.. İlk gruba (Grup1, Eşzamanlı T) T uygulamasını takiben 2 saat içinde tüm torasik bölgeye ışınlama yapılmıştır. İkinci grup hayvan (Grup 2, ardışık T-RT) T uygulanmasından 1 hafta sonra ışınlanmıştır. Üçüncü gruba ise (Grup 3, ardışık RT-T) ilk olarak torasik ışınlama yapılmış ve ardından 1 hafta sonra T uygulanmıştır. Dördüncü grup sıçana (Grup 4, tek başına T) sadece trastuzumab verilmiş ,beşinci gruba ise (Grup 5, tek başına RT)sadece torasik ışınlama yapılmıştır. Altıncı gruba (Grup 6, kontrol) her hangi bir uygulama yapılmamış olup diğer hayvanlarla benzer şartlarda izlenmiştir. Işınlama dozu tek fraksiyonda 12Gy olup, her iki akciğere simülasyon sonrası belirlenen ön alandan 2cm derinlikte verilmiştir. T insan dozu olan 6 mg/kg eşdeğeri dozda her sıçan ağırlığına göre hesaplandıktan sonra, kuyruk venlerinden enjekte edilmiştir. Ardışık uygulamalarda T ile RT arasında Trastuzuma'ın sıçanlardaki yarı ömrüne karşılık gelen 1 hafta süre ara olarak bırakılmıştır. Hayvanlar RT'yi takiben sıçanlarda radyasyona bağlı akciğer fibrozisi gelişmesi için yeterli süre olan 16 hafta sonrasında anestezi ile sedatizasyon sonrası sakrifiye edilmişlerdir. Her iki akciğer trakeadan %10 formol enjekte edilerek fiske edildikten sonra

akciğerler ve kalp en-blok çıkartılmış ve parafin bloklanmıştır. Beş mikrometre kalınlıkta kesitler fibrozis ve kollagen gözlenebilmesi için gerekli mason-trikrome boyası ile boyanmıştır. Nicel değerlendirme için her kesitteki fibrozis ölçüsü bir skala yardımıyla değerlendirilmiştir. Skala 0'dan( normal akciğer veya alveol ya da bronşial duvar kalınlaşması) 4'e( akciğerin total fibrozisi) kadar değişmektedir. Kalp için myokardial fibroz oranı değerlendirilmiştir. Her bir gruptaki hayvanın fibrozis skoru belirlendikten sonra gruplar arası homojenizasyon hesaplanmış ve ortalama fibroz skorları elde edilerek, gruplar birbirleri ile karşılaştırılmıştır. İstatistiksel yöntem olarak Tek yönlü ANOVA metodu ve Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır.

Ortalama fibrozis değerleri Grup1, Grup 2, Grup 3 ve Grup 5 için sırasıyla 1.44, 1.77, 1.75 ve 1.62 olarak bulunmuştur ve bu 4 grubun karşılaştırılmasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır( $p>0.05$ ). Ortalama fibroz değeri Grup 4 için 0.25 ve Grup 6 için 0.33 bulunmuştur Bu iki grup karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel anlamlı farklılık yoktur( $p>0.05$ ). Öte yandan torasik ışınlama yapılan grupların (Trastuzumab uygulansın ya da uygulanmasın) kontrol veya sadece T grupları ile karşılaştırılmalarında fibroz skorları açısından aralarında istatistiksel anlamlı farklılık olduğu görülmüştür(  $p<0,05$ ). Hiçbir kalpte myokardial fibroza rastlanmamıştır

Bu çalışma torasik ışınlamaya ardışık ya da eşzamanlı T eklenmesinin sıçanlarda radyasyona bağlı akciğer fibrozisini arttırmadığını kardiak değerlendirme için daha yüksek dozlarda ve daha uzun izlem süreli çalışmalar gerektiğini göstermektedir.

## VIII. KAYNAKLAR

1. Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2006. *CA Cancer J Clin.* 2006;56:106-130.
2. Dupont WD, Page DL. Risk factors for breast cancer in women with proliferative breast disease. *N Engl J Med.* 1985;312:146-151
3. Singletary SE, Allred C, Ashley P, et al. Revision of the American Joint Committee on Cancer staging system for breast cancer. *J Clin Oncol.* 2002;20:3628-3636.
4. Greene FL, Page DL, Fleming ID, et al. *AJCC Cancer Staging Manual.* 6th ed. New York, NY: Springer-Verlag; 2002.
5. Henderson IC, Patek AJ. The relationship between prognostic and predictive factors in the management of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1998;52:261.
6. Wood WC, Styblo TM. Clinically established prognostic factors in breast cancer. In: Bland KI, Copeland EM, eds. *The breast.* St. Louis: Saunders, 2004: Table 21-2, 452.
7. Arriagada R, Le MG, Rochard F, Contesso G. Conservative treatment versus mastectomy in early breast cancer: patterns of failure with 15 years of follow-up data. Institut Gustave-Roussy Breast Cancer Group. *J Clin Oncol.* 1996;14:1558-1564.
8. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Effects of radiotherapy and surgery in early breast cancer. An overview of the randomized trials. *N Engl J Med.* 1995;333:1444-1455.
9. Fisher B, Anderson S, Bryant J, et al. Twenty-year follow-up of a randomized trial comparing total mastectomy, lumpectomy, and lumpectomy plus irradiation for the treatment of invasive breast cancer. *N Engl J Med.* 2002;347:1233-1241.

10. Veronesi U, Cascinelli N, Mariani L, et al. Twenty-year follow-up of a randomized study comparing breast-conserving surgery with radical mastectomy for early breast cancer. *N Engl J Med.* 2002;347:1227-1232.
11. Giuliano AE, Haigh PI, Brennan MB, et al. Prospective observational study of sentinel lymphadenectomy without further axillary dissection in patients with sentinel node-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 2000;18:2553.
12. McMasters KM, Tuttle TM, Carlson DJ, et al. Sentinel lymph node biopsy for breast cancer: a suitable alternative to routine axillary dissection in multi-institutional practice when optimal technique is used. *J Clin Oncol* 2000;18:2560.
13. Bauer TW, Spitz FR, Callans LS, et al. Subareolar and peritumoral injection identify similar sentinel nodes for breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2002;9:169.
14. Tuttle TM, Colbert M, Christensen R, et al. Subareolar injection of <sup>99m</sup>Tc facilitates sentinel lymph node identification. *Ann Surg Oncol* 2002;9:77.
15. Carlson G, Bostwick JJ, Styblo TM, et al. Skin-sparing mastectomy. Oncologic and reconstructive considerations. *Ann Surg* 1997;225:570
16. Axelsson CK, Mouridsen HT, Zedeler K. Axillary dissection of level I and II lymph nodes is important in breast cancer classification. The Danish Breast Cancer Cooperative Group (DBCG). *Eur J Cancer.* 1992;28A(8-9):1415-1418.
17. Kiricuta CI, Tausch J. A mathematical model of axillary lymph node involvement based on 1446 complete axillary dissections in patients with breast carcinoma. *Cancer.* May 15 1992;69(10):2496-2501.

18. O’Hea BJ, Hill AD, El-Shirbiny AM, et al. Sentinel lymph node biopsy in breast cancer: initial experience at Memorial Sloan- Kettering Cancer Center. *J Am Coll Surg*. Apr 1998;186(4):423-427.
19. Veronesi U, Paganelli G, Viale G, et al. A randomized comparison of sentinel-node biopsy with routine axillary dissection in breast cancer. *N Engl J Med*. Aug 7 2003;349(6):546-553.
20. Kuehn T, Vogl FD, Helms G, et al. Sentinel-node biopsy for axillary staging in breast cancer: results from a large prospective German multi-institutional trial. *Eur J Surg Oncol*. Apr 2004;30(3):252-259.
21. NCCN guidelines for breast cancer 2007 sayfa MS-7 [www.nccn.org](http://www.nccn.org)
22. Nielsen HM, Overgaard M, Grau C, et al. Study of failure pattern among high-risk breast cancer patients with or without postmastectomy radiotherapy in addition to adjuvant systemic therapy: long-term results from the Danish Breast Cancer Cooperative Group DBCG 82 b and c randomized studies. *J Clin Oncol*. 2006;24:2268-2275.
23. Bartelink H, Horiot JC, Poortmans P, et al. Recurrence rates after treatment of breast cancer with standard radiotherapy with or without additional radiation. *N Engl J Med* 2001;345:1378.
24. Romestaing P, Lehingue Y, Carrie C, et al. Role of a 10-Gy boost in the conservative treatment of early breast cancer: results of a randomized clinical trial in Lyon, France. *J Clin Oncol* 1997;15:963.
25. Overgaard M, Jensen MB, Overgaard J, et al. Postoperative radiotherapy in high-risk postmenopausal breast-cancer patients given adjuvant tamoxifen: Danish Breast

- Cancer Cooperative Group DBCG 82c randomised trial. *Lancet*. 1999;353:1641-1648.
26. Ragaz J, Olivotto IA, Spinelli JJ, et al. Locoregional radiation therapy in patients with high-risk breast cancer receiving adjuvant chemotherapy: 20-year results of the British Columbia randomized trial. *J Natl Cancer Inst*. 2005;97:116-126.
  27. Overgaard M, Hansen PS, Overgaard J, et al. Postoperative radiotherapy in high-risk premenopausal women with breast cancer who receive adjuvant chemotherapy. Danish Breast Cancer Cooperative Group 82b Trial. *N Engl J Med*. 1997;337:949-955.
  28. Recht A, Edge SB, Solin LJ, et al. Postmastectomy radiotherapy: clinical practice guidelines of the American Society of Clinical Oncology. *J Clin Oncol*. 2001;19:1539-1569.
  29. Theriault R, Buzdar A, Hortobagyi G, et al. Irradiation (XRT) following mastectomy in patients treated with FAC adjuvant therapy - M.D. Anderson experience [meeting abstract]. *Proc Am Soc Clin Oncol*. 1998;17:99a. Abstract 381.
  30. Loprinzi CL, Ravdin PM. Decision-making for patients with breast with early breast cancer: individualized decisions for and by patients and their physicians. *J Natl Compr Canc Netw*. 2003;1:189-198
  31. Simes RJ, Coates AS. Patient preferences for adjuvant chemotherapy of early breast cancer: how much benefit is needed? *J Natl Cancer Inst Monogr* 2001;146.
  32. Albain K, Green S, Ravdin P, et al. Adjuvant chemohormonal therapy for primary breast cancer should be sequential instead of concurrent: initial results from

- intergroup trial 0100 (SWOG-8814). *Proc Am Soc Clin Oncol*. 2002;21(Abstract 143):37a.
33. Tamoxifen for early breast cancer: an overview of the randomised trials. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. *Lancet*. May 16 1998;351(9114):1451-1467.
  34. Piccart MJ, Di Leo A, Hamilton A. HER2. a 'predictive factor' ready to use in the daily management of breast cancer patients? *Eur J Cancer*. Sep 2000;36(14):1755-1761.
  35. Berry DA, Muss HB, Thor AD, et al. HER-2/neu and p53 expression versus tamoxifen resistance in estrogen receptorpositive, ode-positive breast cancer. *J Clin Oncol*. Oct 15 2000;18(20):3471-3479.
  36. Eppenberger-Castori S, Kueng W, Benz C, et al. Prognostic and predictive significance of ErbB-2 breast tumor levels measured by enzyme immunoassay. *J Clin Oncol*. Feb 1 2001;19(3):645-656.
  37. Knoop AS, Bentzen SM, Nielsen MM, Rasmussen BB, Rose C Value of epidermal growth factor receptor, HER2, p53, and steroid receptors in predicting the efficacy of tamoxifen in highrisk postmenopausal breast cancer patients. *J Clin Oncol*. Jul 15 2001;19(14):3376-3384.
  38. Mass R. The role of HER-2 expression in predicting response to therapy in breast cancer. *Semin Oncol*. Dec 2000;27(6 Suppl 11):46-52; discussion 92-100.
  39. Pegram MD, Pauletti G, Slamon DJ. HER-2/neu as a predictive marker of response to breast cancer therapy. *Breast Cancer Res Treat*. 1998;52(1-3):65-77.
  40. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet*. May 14-20 2005;365(9472):1687-1717.



41. Albain K, Green S, Ravdin P, et al. Adjuvant chemohormonal therapy for primary breast cancer should be sequential instead of concurrent: initial results from intergroup trial 0100 (SWOG-8814). *Proc Am Soc Clin Oncol*. 2002;21(Abtract 143):37a.
42. Howell A, Cuzick J, Baum M, et al. Results of the ATAC (Arimidex, Tamoxifen, Alone or in Combination) trial after completion of 5 years' adjuvant treatment for breast cancer. *Lancet*. Jan 1-7 2005;365(9453):60-62.
43. Thurlimann BJ, Keshaviah A, Mouridsen H, et al. BIG 1-98 Randomized double-blind phase III study to evaluate letrozole (L) vs. tamoxifen (T) as adjuvant endocrine therapy for postmenopausal women with receptor-positive breast cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol*. 2005;24(Abtract 511)
44. Jakesz R, Jonat W, Gnant M, et al. Switching of postmenopausal women with endocrineresponsive early breast cancer to anastrozole after 2 years' adjuvant tamoxifen: combined results of ABCSG trial 8 and ARNO 95 trial. *Lancet*. Aug 6-12 2005;366(9484):455-462.
45. Polychemotherapy for early breast cancer: an overview of the randomised trials. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. *Lancet*. Sep 19 1998;352(9132):930-942.
46. Bang SM, Heo DS, Lee KH, et al. Adjuvant doxorubicin and cyclophosphamide versus cyclophosphamide, methotrexate, and 5-fluorouracil chemotherapy in premenopausal women with axillary lymph node positive breast carcinoma. *Cancer*. Dec 15 2000;89(12):2521-2526.
47. Fisher B, Anderson S, Tan-Chiu E, et al. Tamoxifen and chemotherapy for axillary node negative, estrogen receptornegative breast cancer: findings from National

- Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-23. *J Clin Oncol.* Feb 15 2001;19(4):931-942.
48. Martin M, Pienkowski T, Mackey J, et al. Adjuvant docetaxel for node-positive breast cancer. *N Engl J Med.* Jun 2 2005;352(22):2302-2313.
49. Mamounas EP, Bryant J, Lembersky B, et al. Paclitaxel after doxorubicin plus cyclophosphamide as adjuvant chemotherapy for node-positive breast cancer: results from NSABP B-28. *J Clin Oncol.* Jun 1 2005;23(16):3686-3696.
50. Bear HD, Anderson S, Smith RE, et al. A randomized trial comparing preoperative (preop) doxorubicin/cyclophosphamide (AC) to preop AC followed by preop docetaxel (T) and to preop AC followed by postoperative (postop) T in patients (pts) with operable carcinoma of the breast: results of NSABP B-27. Paper presented at: 27th Annual San Antonio Breast Cancer Symposium, 2004.
51. Hortobagyi GN, Singletary SE, Strom EA. Locally Advanced Breast Cancer. *Diseases of the Breast.* 2004.
52. Favret AM, Carlson RW, Goffinet DR, Jeffrey SS, Dirbas FM, Stockdale FE. Locally advanced breast cancer: is surgery necessary? *Breast J.* Mar-Apr 2001;7(2):131-137.
53. Laura Estevez HER 2 Pozitive Breast Cancer *Am. J. Cancer* 2003;2 (3): 169-179
54. Carraway KL 3rd, Rossi EA, Komatsu M, Price-Schiavi SA, Huang D, Guy PM, Carvajal ME, Fregien N, Carraway CA, Carraway KL. An intramembrane modulator of the ErbB2 receptor tyrosine kinase that potentiates neuregulin signaling. *J Biol Chem.* 1999 Feb 26;274(9):5263-6.
55. Fincham V, Frame M, Haefner B, Unlu M, Wyke A, Wyke J. Functions of the v-Src protein tyrosine kinase. *Cell Biol Int.* 1994 May;18(5):337-44. Review

56. Muthuswamy SK, Siegel PM, Dankort DL, Webster MA, Muller WJ. Mammary tumors expressing the neu proto-oncogene possess elevated c-Src tyrosine kinase activity. *Mol Cell Biol.* 1994 Jan;14(1):735-43.
57. Xie Y, Li K, Hung MC. Tyrosine phosphorylation of Shc proteins and formation of Shc/Grb2 complex correlate to the transformation of NIH3T3 cells mediated by the point-mutation activated neu. *Oncogene.* 1995 Jun 15;10(12):2409-13.
58. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science.* 1987 Jan 9;235(4785):177-82.
59. Rubin I, Yarden Y. The basic biology of HER2. *Ann Oncol.* 2001;12 Suppl 1:S3-8. Review.
60. Hudziak RM, Lewis GD, Winget M, Fendly BM, Shepard HM, Ullrich A. p185HER2 monoclonal antibody has antiproliferative effects in vitro and sensitizes human breast tumor cells to tumor necrosis factor. *Mol Cell Biol.* 1989 Mar;9(3):1165-72.
61. Kern JA, Torney L, Weiner D, Gazdar A, Shepard HM, Fendly B. Inhibition of human lung cancer cell line growth by an anti-p185HER2 antibody. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1993 Oct;9(4):448-54.
62. Benz CC, Scott GK, Sarup JC, Johnson RM, Tripathy D, Coronado E, Shepard HM, Osborne CK. Estrogen-dependent, tamoxifen-resistant tumorigenic growth of MCF-7 cells transfected with HER2/neu. *Breast Cancer Res Treat.* 1992;24(2):85-95.
63. Scott GK, Dodson JM, Montgomery PA, Johnson RM, Sarup JC, Wong WL, Ullrich A, Shepard HM, Benz CC. p185HER2 signal transduction in breast cancer cells. *J Biol Chem.* 1991 Aug 5;266(22):14300-5.

64. Lewis GD, Figari I, Fendly B, Wong WL, Carter P, Gorman C, Shepard HM. Differential responses of human tumor cell lines to anti-p185HER2 monoclonal antibodies. *Cancer Immunol Immunother.* 1993 Sep;37(4):255-63.
65. Shepard HM, Lewis GD, Sarup JC, Fendly BM, Maneval D, Mordenti J, Figari I, Kotts CE, Palladino MA Jr, Ullrich A, et al. Monoclonal antibody therapy of human cancer: taking the HER2 protooncogene to the clinic. *J Clin Immunol.* 1991 May;11(3):117-27. Review.
66. Maier LA, Xu FJ, Hester S, Boyer CM, McKenzie S, Bruskin AM, Argon Y, Bast RC Jr. Requirements for the internalization of a murine monoclonal antibody directed against the HER-2/neu gene product c-erbB-2. *Cancer Res.* 1991 Oct 1;51(19):5361-9.
67. Rodriguez GC, Boente MP, Berchuck A, Whitaker RS, O'Briant KC, Xu F, Bast RC Jr. The effect of antibodies and immunotoxins reactive with HER-2/neu on growth of ovarian and breast cancer cell lines. *Am J Obstet Gynecol.* 1993 Jan;168(1 Pt 1):22-32.
68. Pietras RJ, Fendly BM, Chazin VR, Pegram MD, Howell SB, Slamon DJ. Antibody to HER-2/neu receptor blocks DNA repair after cisplatin in human breast and ovarian cancer cells. *Oncogene.* 1994 Jul;9(7):1829-38.
69. Arteaga CL, Winnier AR, Poirier MC, Lopez-Larrazza DM, Shawver LK, Hurd SD, Stewart SJ. p185c-erbB-2 signal enhances cisplatin-induced cytotoxicity in human breast carcinoma cells: association between an oncogenic receptor tyrosine kinase and drug-induced DNA repair. *Cancer Res.* 1994 Jul 15;54(14):3758-65.

70. Carter P, Presta L, Gorman CM, Ridgway JB, Henner D, Wong WL, Rowland AM, Kotts C, Carver ME, Shepard HM. Humanization of an anti-p185HER2 antibody for human cancer therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992 May 15;89(10):4285-9.
71. Baldy DL, Wirth CM, Allison Da, et al Development and characterization of rhuMAbHer2 antibody assay for clinical evaluation of cytotoxic potency (abstract 181). *Proc. Am Assos cancer Res* 1997;38:27
72. Pegram MD, Baldy D, Wirth C, et al Antibody dependent cell mediated cytotoxicity in breast cancer patients in phase II clinical trials of humanized anti-HER2 antibody (abstract 4044) *Proc. Am Assos cancer Res* 1997;38:602
73. Fendly BM, Winget M, Hudziak RM, Lipari MT, Napier MA, Ullrich A. Characterization of murine monoclonal antibodies reactive to either the human epidermal growth factor receptor or HER2/neu gene product. *Cancer Res*. 1990 Mar 1;50(5):1550-8.
74. Hancock MC, Langton BC, Chan T, Toy P, Monahan JJ, Mischak RP, Shawver LK. A monoclonal antibody against the c-erbB-2 protein enhances the cytotoxicity of cis-diamminedichloroplatinum against human breast and ovarian tumor cell lines. *Cancer Res*. 1991 Sep 1;51(17):4575-80.
75. Harwerth IM, Wels W, Schlegel J, Muller M, Hynes NE. Monoclonal antibodies directed to the erbB-2 receptor inhibit in vivo tumour cell growth. *Br J Cancer*. 1993 Dec;68(6):1140-5.
76. McKenzie SJ, Marks PJ, Lam T, Morgan J, Panicali DL, Trimpe KL, Carney WP. Generation and characterization of monoclonal antibodies specific for the human neu oncogene product, p185. *Oncogene*. 1989 May;4(5):543-8.

77. Sarup JC, Johnson RM, King KL, Fendly BM, Lipari MT, Napier MA, Ullrich A, Shepard HM. Characterization of an anti-p185HER2 monoclonal antibody that stimulates receptor function and inhibits tumor cell growth. *Growth Regul.* 1991 Jun;1(2):72-82.
78. Stancovski I, Hurwitz E, Leitner O, Ullrich A, Yarden Y, Sela M. Mechanistic aspects of the opposing effects of monoclonal antibodies to the ERBB2 receptor on tumor growth. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991 Oct 1;88(19):8691-5
79. Pegram M, Hsu S, Lewis G, Pietras R, Beryt M, Sliwkowski M, Coombs D, Baly D, Kabbinavar F, Slamon D. Inhibitory effects of combinations of HER-2/neu antibody and chemotherapeutic agents used for treatment of human breast cancers. *Oncogene.* 1999 Apr 1;18(13):2241-51.
80. Pietras RJ, Pegram MD, Finn RS, Maneval DA, Slamon DJ. Remission of human breast cancer xenografts on therapy with humanized monoclonal antibody to HER-2 receptor and DNA-reactive drugs. *Oncogene.* 1998 Oct 29;17(17):2235-49.
81. Shak S. Overview of the trastuzumab (Herceptin) anti-HER2 monoclonal antibody clinical program in HER2-overexpressing metastatic breast cancer. Herceptin Multinational Investigator Study Group. *Semin Oncol.* 1999 Aug;26(4 Suppl 12):71-7. Review
82. Baselga J, Tripathy D, Mendelsohn J, Baughman S, Benz CC, Dantis L, Sklarin NT, Seidman AD, Hudis CA, Moore J, Rosen PP, Twaddell T, Henderson IC, Norton L. Phase II study of weekly intravenous recombinant humanized anti-p185HER2 monoclonal antibody in patients with HER2/neu-overexpressing metastatic breast cancer. *J Clin Oncol.* 1996 Mar;14(3):737-44.

83. Cobleigh MA, Vogel CL, Tripathy D, Robert NJ, Scholl S, Fehrenbacher L, Wolter JM, Paton V, Shak S, Lieberman G, Slamon DJ. Multinational study of the efficacy and safety of humanized anti-HER2 monoclonal antibody in women who have HER2-overexpressing metastatic breast cancer that has progressed after chemotherapy for metastatic disease. *J Clin Oncol.* 1999 Sep;17(9):2639-48.
84. Vogel CL, Cobleigh MA, Tripathy D, Gutheil JC, Harris LN, Fehrenbacher L, Slamon DJ, Murphy M, Novotny WF, Burchmore M, Shak S, Stewart SJ, Press M. Efficacy and safety of trastuzumab as a single agent in first-line treatment of HER2-overexpressing metastatic breast cancer. *J Clin Oncol.* 2002 Feb 1;20(3):719-26.
85. Pegram MD, Lipton A, Hayes DF, Weber BL, Baselga JM, Tripathy D, Baly D, Baughman SA, Twaddell T, Glaspy JA, Slamon DJ. Phase II study of receptor-enhanced chemosensitivity using recombinant humanized anti-p185HER2/neu monoclonal antibody plus cisplatin in patients with HER2/neu-overexpressing metastatic breast cancer refractory to chemotherapy treatment. *J Clin Oncol.* 1998 Aug;16(8):2659-71.
86. Seidman AD, Fornier MN, Esteva FJ, Tan L, Kaptain S, Bach A, Panageas KS, Arroyo C, Valero V, Currie V, Gilewski T, Theodoulou M, Moynahan ME, Moasser M, Sklarin N, Dickler M, D'Andrea G, Cristofanilli M, Rivera E, Hortobagyi GN, Norton L, Hudis CA. Weekly trastuzumab and paclitaxel therapy for metastatic breast cancer with analysis of efficacy by HER2 immunophenotype and gene amplification. *J Clin Oncol.* 2001 May 15;19(10):2587-95.
87. Burstein HJ, Kuter I, Campos SM, Gelman RS, Tribou L, Parker LM, Manola J, Younger J, Matulonis U, Bunnell CA, Partridge AH, Richardson PG, Clarke K, Shulman LN, Winer EP. Clinical activity of trastuzumab and vinorelbine in women

- with HER2-overexpressing metastatic breast cancer. *J Clin Oncol*. 2001 May 15;19(10):2722-30.
88. Esteva FJ, Valero V, Booser D, Guerra LT, Murray JL, Puzstai L, Cristofanilli M, Arun B, Esmaeli B, Fritsche HA, Sneige N, Smith TL, Hortobagyi GN. Phase II study of weekly docetaxel and trastuzumab for patients with HER-2-overexpressing metastatic breast cancer. *J Clin Oncol*. 2002 Apr 1;20(7):1800-8.
89. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A, Fleming T, Eiermann W, Wolter J, Pegram M, Baselga J, Norton L. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med*. 2001 Mar 15;344(11):783-92.
90. Romond EH, Perez EA, Bryant J, et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med*. 2005;353:1673-1684.
91. Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, et al. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med*. 2005;353:1659-1672.
92. Ian Smith, Marion Procter, Richard D Gelber, Sébastien Guillaume, Andrea Feyereislova, Mitch Dowsett, et al 2-year follow-up of trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer: a randomised controlled trial *Lancet* 2007; 369: 29–36
93. Edward H. Romond, Edith A. Perez, John Bryant, Vera J. Suman, Charles E. Geyer, Jr., et al Trastuzumab plus Adjuvant Chemotherapy for Operable HER2-Positive Breast Cancer *N Engl J Med* 2005;353:1673-84..
94. Fajardo LF. Pathology of radiation injury. New York: Masson, 1982.
95. Morgan GW, Breit SN. Radiation and the lung: a re-evaluation of the mechanisms mediating pulmonary injury. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995; 31: 361–69.



96. Stone HB, Coleman CN, Anscher MS, McBride WH. Effects of radiation on normal tissue: consequences and mechanisms. *Lancet Oncol.* 2003 Sep;4(9):529-36. Review.
97. Eric J.Hall, Amato J. *Giaccia Radiobiology for the Radiologist* Lippincott Williams& Wilkins press sixth edition Chapter 19 p:339, 342
98. Mark Pegram ,Debbie Ngo Application and potential limitations if animal models utilized in the development of trastuzumab ( Herceptin): A case study *Advanced Drug Delivery Reviews* 58 (2006) 723- 734
99. Bese NS, Umay C, Yildirim S, Ilvan S, Dirican A, Salar S, Altug T, Ober A. The effects of tamoxifen on radiation-induced pulmonary fibrosis in Wistar albino rats: results of an experimental study. *Breast.* 2006 Jun;15(3):456-60. Epub 2005 Aug 2.
100. Schultz-Hector S, Sund M, Thames HD. Fractionation response and repair kinetics of radiation-induced heart failure in the rat. *Radiother Oncol* 1992;23:33–40.
101. Schultz-Hector S. Radiation-induced heart disease: Review of experimental data on dose response and pathogenesis. *Int J Radiat Biol* 1992;61:149–160.
102. J.K. Horton, R.F. Sherron, D.T. Moore, D.W. Ollila, L.A. Carey, E.C. Dees, M. Graham, J.S. Halle and C.I. Sartor Phase I/II Trial of Herceptin Plus Radiotherapy for Chemotherapy-Refractory Locally Advanced or Recurrent Breast Cancer *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, Volume 66, Issue 3, Supplement 1, 1 November 2006, Pages S220-S221
103. Raben, S. Sammons, A. Hanlon, K. Sites, C. Schneider, C. Koprowski and J. Strasser Comparison of Acute Breast and Chest Wall Toxicity in Women Treated With External Beam Radiation With and Without Concurrent Herceptin in a Community Cancer Center *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, Volume 66, Issue 3, Supplement 1, 1 November 2006, Pages S541-S542

104. J.R.Bellon, M.T. Gover, H.J. Burnstein Concurrent Trastuzumab and Radiation Therapy (RT) in the Adjuvant Treatment of Breast Cancer International Journal of Radiation Oncology Biology Physics, Volume 63, Supplement 1, 1 October 2005, Pages S55-S56
105. Y. Belkacemi, J. Gligorov, O. Laharie-Mineur, H. Marsiglia, E. Antoine, L. Aimard, B. Cutuli, M. Ozsahin and D. Azria Risk of Concurrent Administration of Trastuzumab and Radiation Therapy International Journal of Radiation Oncology Biology Physics, Volume 66, Issue 3, Supplement 1, 1 November 2006, Page S107
106. E.A. Perez, Halyard, T. Pisansky, V.J. Suman, A. Dueck, N. Davidson, S. Martino and P. Kaufman Radiotherapy concurrent with trastuzumab is well tolerated in the adjuvant treatment of women with HER2-positive breast cancer: cardiac safety data from the NCCTG N9831 study European Journal of Cancer Supplements, Volume 4, Issue 2, March 2006, Page 113