



ARAŞTIRMA/RESEARCH

Memenin selim ve habis hastalıklarında serum nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin ile kanser antijeni 15-3 düzeylerinin tanısal ve prognostik değeri

Diagnostic and prognostic value of neutrophil gelatinase associated lipocalin and cancer antigen 15-3 serum levels in benign and malignant breast disease

Tunç Eren¹, Zeynep Anadolu¹, Ferman Tefik Özyalvaç¹, İbrahim Ali Özemer¹, Banu İşbilen², Hakan Baysal¹, Orhan Alimoğlu¹

¹İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, ²Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul, Turkey

Cukurova Medical Journal 2016;41(1):87-96.

Abstract

Purpose: Increased neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) serum levels have been shown in studies for colorectal, gastric, esophageal, liver, thyroid and lung cancer. The aim of this study was to demonstrate the differences of NGAL and cancer antigen 15-3 (CA15-3) serum levels between the groups of patients diagnosed with either breast cancer, or benign breast disorders in order to investigate the diagnostic and prognostic value of these biomarkers.

Material and Methods: The patients were divided into three groups as the malignancy group, the benign group, and the control group. Serum NGAL/CA15-3 levels, the presence of a breast lesion, and the type of the lesion were recorded. In the malignancy group; parameters including tumor type, invasion degree, T/N stages, lymphovascular/perineural invasion, histological grade, c-erbB2, e-cadherin, estrogen and progesteron reseptor levels were recorded, and compared between the three groups.

Results: Eighty four patients were enrolled to the study. The mean NGAL level was higher in the benign group. CA15-3 detection did not reveal significant difference between the study groups. In the malignant group; increased serum NGAL levels were associated with higher histological grade, while elevated CA15-3 levels were associated with positive lymph node count.

Conclusion: The association of elevated CA15-3 levels with metastatic lymph node counts proves that the prognostic value of this marker is higher than its diagnostic accuracy. On the other hand, serum NGAL

Öz

Amaç: Kolorektal, mide, özofagus, karaciğer, tiroid ve akciğer kanserlerinde nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin (NGAL) salınımında artış olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı meme kanseri tanısı alan ve memenin selim hastalıklarının saptandığı hastalar arasında plazma NGAL ve kanser antijeni 15-3 (CA15-3) düzeyi farkı olup olmadığını saptayarak, meme kanseri için NGAL ve CA15-3'ün tanısal ve prognostik değerini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya dahil edilen hastalar; malignite grubu, benign grup ve kontrol grubu olmak üzere üç gruba ayrıldı. Serum NGAL ve CA15-3 düzeyleri, memede lezyon varlığı ve lezyonun cinsi kayıt edildi. Malign grupta; tümör tipi, invazyon derecesi, T/N evreleri, lenfovasküler/perinöral invazyon, histolojik grad, c-erbB2, e-kadherin, östrojen ve progesteron reseptör düzeylerini içeren parametreler kayıt edilerek bu üç grup arasında karşılaştırıldı.

Bulgular: Seksen dört hasta çalışmaya dahil edildi. Benign grupta ortalama serum NGAL seviyesi diğer gruplardan yüksek bulundu. CA15-3 ölçümlerinde gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı. Malign grupta yüksek serum NGAL seviyelerinin histolojik grad ile ilişkili olduğu, artmış CA15-3 düzeylerinin ise pozitif lenf nodu sayısı ile ilişkili olduğu gözlemlendi.

Sonuç: Çalışmamızdaki artmış CA15-3 serum düzeylerinin metastatik lenf nodu sayısı ile ilişkisi bu belirtcin prognostik değerinin tanısal doğruluğundan daha yüksek olduğunu göstermektedir. Diğer yandan, serum NGAL ölçümlerinde alınan sonuçlar ise NGAL'ın diğer kanser türlerine kıyasla meme kanserindeki tanısal değerinin daha

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Tunç Eren, İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, İstanbul, Turkey E-mail: drtunceren@gmail.com
Geliş tarihi/Received: 20.08.2015 Kabul tarihi/Accepted: 23.09.2015

detection results reveal that the diagnostic value of NGAL for breast cancer is lower when compared to other cancer types.

Key words: Breast disease, cancer antigen 15-3 (CA15-3), neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL)

GİRİŞ

Meme kanseri, akciğer kanserinden sonra dünyada en sık görülen malignite olup kadınlarda en yaygın görülen kanser tipidir ve tüm kadın kanserlerinin %23'ünü oluşturmaktadır¹. Dünya Sağlık Örgütü GLOBOCAN 2008 veritabanı tahminine göre, 2015 yılında meme kanserli yeni hasta sayısı 1620000, meme kanserinden kaybedilecek kadın sayısı ise 540000 olacaktır. Ülkemizdeki insidansının doğu bölgelerimizde 20/100000, batı bölgelerimizde ise 40-50/100000 olduğu tahmin edilmektedir². Bu veriler meme kanserinde erken tanı gerekliliğini çarpıcı bir şekilde ortaya koymaktadır.

Meme kanserinde biomarker olarak kanser antijeni 15-3 (cancer antigen 15-3, CA15-3), karsinoembriyonik antijen (carcinoembryonic antigen, CEA) ve insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (human epidermal growth factor receptor 2, HER2/neu) ile ilgili çalışmalar mevcuttur³⁻⁵. Bu belirteçlerin duyarlılık ve özgüllüklerinde sınırlamalar olması nedeniyle meme kanserinde kullanılabilecek bağımsız tek bir parametre henüz tanımlanamamıştır.

CA15-3, geniş transmembran bir glikoprotein olan Müsin 1 (Mucin 1, MUC1) geninin ürünüdür. MUC1 proteini aynı zamanda polimorfik epitelyal müsin ve epitelyal membran antijeni olarak da bilinir⁶. Bu proteinin ekstrasellüler kısmı kanser durumunda glikozile olmakta ve salınımı artmaktadır. Fizyolojik olarak hücre içi ve dışı matris etkileşimini azaltarak hücre adezyonunda rol oynayan MUC1 proteininin kanser invazyonunda salınımının arttığı düşünülmektedir⁶. CA 15-3, başta meme kanseri olmak üzere glandüler kanser hücrelerinden salınır ve normal meme MUC1 geninden üretilen proteinden farklıdır. Tedavi sonrası takipte, CA15-3 düzeyinin artması ya da azalması anlamlıdır.

Ardışık ölçümlerde CA15-3 düzeyinde önceki değere göre %25'ten daha yüksek oranda artma hastalığın ilerlediğini, %25'ten daha yüksek oranda azalma hastalığın tedaviye yanıt verdiğini, %25'ten daha az oranda azalma ise hastalığın stabil kaldığını düşündürür⁷.

düşük olduğunu ortaya koymaktadır.

Anahtar kelimeler: Meme hastalıkları, kanser antijeni 15-3 (CA15-3), nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin (NGAL).

Nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin (neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL), molekülleri bağlama özelliği olan ve hücre homeostazında rol oynayan ekstrasellüler yerleşimli lipokalin protein ailesinin bir üyesidir⁸. Kromozom 9q34 lokusunda yer alan bir gen tarafından kodlanan NGAL, 198 aminoasitten oluşan bir protein olup 25 kiloDalton (kDa) ağırlığındadır⁹. Retinoidler, steroidler ve demir dahil küçük lipofilik ligandları bağlayan ve taşıyan ligand bağlayıcı bir bölge içerir¹⁰. Bu bağlanma gücü sayesinde bakterilerle demir bağlama yarışına girerek bakteriyostatik etki gösterir¹¹. Bu fonksiyonları dışında habis hücrelerde, apoptozisi inhibe ettiği (örn. tiroid kanseri), invazyon ve anjiyogenezi artırdığı (örn. pankreas kanseri), progresyon ve metastazı artırdığı (örn. meme ve kolon kanseri) gösterilmiştir¹⁰. Yapılan çalışmalarda deri, tiroid, meme, over, endometrium, kolon, akciğer, karaciğer, safra yolları, özofagus, mide ve pankreas dahil olmak üzere çeşitli doku ve organlardan kaynaklanan kanserlerde ve aynı zamanda inflamatuvar, iskemik ve metabolik bozukluklar da dahil olmak üzere pek çok hastalıkta, dokularda ve vücut sıvılarında NGAL ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir¹⁰.

NGAL ve CA15-3 salınımı ile meme kanseri riski arasındaki ilişkiyi ise ortaya koyan yeterli çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmanın amacı meme kanseri tanısı alan hastalar, memenin selim hastalıklarının saptandığı hastalar ve meme kontrollerinde sağlıklı olarak saptanan hastalar arasında plazma NGAL ve CA15-3 düzeylerinin karşılaştırılması yoluyla meme kanseri için NGAL ve CA15-3'ün tanısallık ve prognostik değerini araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Mart 2014 – Aralık 2014 tarihleri arasında kurumumuz Genel Cerrahi Kliniği'nde tetkik ve tedavi edilen toplam 84 kadın hasta dahil edildi. Meme kanseri tanısıyla tedavi edilen hastalar “malign grup”u, memenin selim hastalıkları nedeniyle tetkik ve tedavi edilen hastalar “benign grup”u ve tetkiklerinde memede lezyon saptanmayarak rutin taramalar ile takip altında tutulan sağlıklı hastalar “kontrol grubu”nu oluşturmaktaydı. Çalışma,

kurumumuz Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır ve tüm hastalardan yazılı, imzalı onam alınmıştır.

Tüm hastalardan 5 cc kan alındı. Numuneler antikoagülan içermeyen jelli tüplerde maksimum bir saat içerisinde 2500 g'de (yerçekimsel ivme - gravitational acceleration - g) 10 dakika santrifüj edildi. Serum CA15-3 düzeyleri; kemilüminesans analizöründe [Architect i1000SR© 2015 Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois, USA] ölçüldü. NGAL düzeyleri; İnsan NGAL/Lipokalin-2 Eliza Kiti (Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin, NGAL, Human ELISA Kit© Avisa Bioscience, Inc, California, USA; SK00233-01] ile üreticinin protokolüne uyularak ölçüldü.

Tüm hastaların demografik verileri, mammografi (MG), ultrasonografi (US), manyetik rezonans görüntüleme (MR) bulguları ile biyopsi sonuçları kayıt edildi. Cerrahi uygulanan hastalardan rezeke edilen tüm piyesler aynı patoloji ekibi tarafından değerlendirildi. Bu değerlendirmede tümör tipi, invazyon derecesi, T/N evreleri, lenfovasküler/perinöral invazyon, histolojik grad, c-erbB2 (HER2/neu), e-kadherin, östrojen ve progesteron reseptör düzeylerini içeren parametreler kayıt edildi. Kanser evrelemesi AJCC (American Joint Committee on Cancer) sistemine göre yapıldı.

Bulguların istatistiksel analizleri için Statistical Package for Social Sciences (SPSS) for Windows

19.0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (frekans, yüzde, ortalama, standart sapma) yanı sıra niteliksel verilerin karşılaştırılmasında Pearson ki-kare testi kullanıldı. Niceliksel verilerin karşılaştırılmasında iki grup durumunda, normal dağılım gösteren parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında bağımsız örnekler t testi, niceliksel verilerin karşılaştırılmasında ikiden fazla grup durumunda, normal dağılım gösteren parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında ise tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. Sonuçlar %95 güven aralığında, anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

BULGULAR

Toplam 84 hastalık çalışma grubunda malign grup 28 (%33.33), benign grup 29 (%34.53) ve kontrol grubu 27 (%32.14) hastadan oluşmakta olup ortalama yaş 55.5 (19-81) idi. Yaş, kronik hastalık (diyabet - DM, hipertansiyon - HT, kronik obstrüktif akciğer hastalığı - KOAH, konjestif kalp yetersizliği - KKY) varlığı ve ASA skoru (American Society of Anesthesiologists score) değerleri istatistiksel olarak incelendiğinde gruplar arasında anlamlı fark saptanmamış olup bu bulgular gruplar arasındaki hasta dağılımının homojen olduğunu göstermekteydi (Tablo 1).

Tablo 1. Gruplar arasında demografik verilerin karşılaştırılması.

	Malign Grup (n=28)	Benign Grup (n=29)	Kontrol Grubu (n=27)	p
Yaş	55.32±11.72	56.17±11.53	54.96±12.50	0.926
<u>Kronik hastalık</u>				
Diabetes	6 (%50)	3 (%25)	3 (%25)	0.901
KOAH	2 (%28.6)	2 (%28.6)	3 (%42.9)	
Hipertansiyon	15 (%37.5)	13 (%32.5)	12 (%30)	
Kronik kalp yetmezliği	1 (%100)	-	-	
Yok	9 (%27.3)	13 (%39.4)	11 (%33.3)	
<u>ASA</u>				
1	9 (%27.3)	13 (%39.4)	11 (%33.3)	0.608
2	19 (%37.3)	16 (%31.4)	16 (%31.4)	

Çalışmamızda uygulanan mammografik görüntülemelerde kontrol grubunun çoğunlukla BIRADS (Breast Imaging-Reporting and Data System) 0-1, selim hastalık grubunun BIRADS 2-3 ve kanser grubunun BIRADS 4-5-6 hastalardan oluştuğu görülmüştür. Selim hastalık grubunda BIRADS 4 kategorisindeki bir hastanın US görüntüsü malignite şüpheli olması üzerine yapılan

eksizyonel biyopsi materyalinin patolojik sonucu fibroadenom ile uyumlu gelmiştir. US'nin %96.4 gibi oldukça yüksek bir oranda maligniteyi saptadığı yalnızca bir hastada mammografide BIRADS 0 ve US'de fibrokistik lezyon olarak tariflendiği halde lezyonun MR incelemede malign intensite göstermesi ile malignitenin saptanabildiği görülmüştür (Tablo 2).

Tablo 2. Gruplar arasında radyolojik bulguların karşılaştırılması.

	Malign Grup (n=28)	Benign Grup (n=29)	Kontrol Grubu (n=27)	p
<u>Mamografi (n=83)</u>				
BIRADS 0	9 (%42.9)	4 (%19)	8 (%38.1)	<0.001**
BIRADS 1	-	-	16 (%100)	
BIRADS 2	-	16 (%88.9)	2 (%11.1)	
BIRADS 3	-	7 (%100)	-	
BIRADS 4	8 (%87.5)	1 (%12.5)	-	
BIRADS 5	9 (%100)	-	-	
BIRADS 6	3 (%100)	-	-	
<u>Patern</u>				
A	3 (%21.4)	3 (%21.4)	8 (%57.1)	0.269
B	21 (%35)	23 (%38.3)	16 (%26.7)	
C	4 (%57.1)	2 (%28.6)	1 (14.3)	
D	-	1 (%50)	1 (%50)	
Mammografi yapılmamış	-	-	1 (%100)	
<u>Ultrason</u>				
Benign (diğer)	-	10 (%100)	-	<0.001**
Basit kist	-	2 (%100)	-	
Fibroadenom	-	11 (%100)	-	
Fibrokist	1 (%25)	3 (%75)	-	
Kompleks kist	-	2 (%100)	-	
Malignite şüpheli lezyon	27 (%96.4)	1 (%3.6)	-	
Normal	-	-	16 (%100)	
Ultrason yapılmamış	-	-	11 (%100)	
<u>MR</u>				
Diffüzyon Kısıtlılığı (D)	1 (%100)	-	-	0.001**
Malign intensite eğrisi (S)	6 (%100)	-	-	
D + S	1 (%100)	-	-	
D ya da S yok	7 (%58.3)	5 (%41.7)	-	
MR yapılmamış	13 (%20.3)	24 (%37.5)	27 (%42.2)	

**p<0.01

Benign gruptaki 22 hastaya US eşliğinde biyopsi yapılmış olup bunların 12'si (%54.54) fibroadenom, 3'ü (%13.63) fibrokistik lobül, 7'si (%54.54) ise diğer benign lezyonlar olarak raporlandırılmıştır. Bu grupta, 7 hastaya ise biyopsi endikasyonu konulmamıştır. Cerrahi girişimler değerlendirildiğinde; benign grupta 19 (%65.51) hastaya total kitle eksizyonu uygulanmış, malign gruptaki hastaların ise tümü (%100) onkolojik prensiplere uygun olarak ameliyat edilmiştir.

Ameliyat sonrası patoloji sonuçlarına göre, total kitle eksizyonu uygulanan tüm hastalarda selim lezyon; kanser cerrahisi uygulanan hastaların 24'ünde (%85.7) invaziv duktal karsinom, üçünde (%10.7) invaziv lobüler karsinom ve birinde (%3.5) in situ duktal karsinom (ductal carcinoma in situ, DCIS) saptanmıştır.

Kontrol grubunu oluşturan hastalardan sekizi (%29.63) BIRADS 0 ve US bulguları normal, 16'si

(%59.26) BIRADS 1 ve ikisi (%7.41) BIRADS 2 kategorisinde olup herhangi bir tanısal veya tedavisel işleme tabi tutulmamış, rutin takiplerinin devamı için önerilerle kontrole çağırılmışlardır.

Malign grupta ortalama CA15-3 değeri 38.20 ± 76.69 U/ml iken benign grupta ortalama 14.28 ± 7.23 U/ml ve kontrol grubunda ortalama 14.57 ± 5.59 U/ml ölçülmüştür. Malign grupta elde edilen ortalama CA15-3 değeri diğer gruplardan sayısal olarak belirgin yükseklik gösterse de bu değer istatistiksel analizler sonucunda anlamlılık kazanmamıştır ($p=0.077$) (Tablo 3).

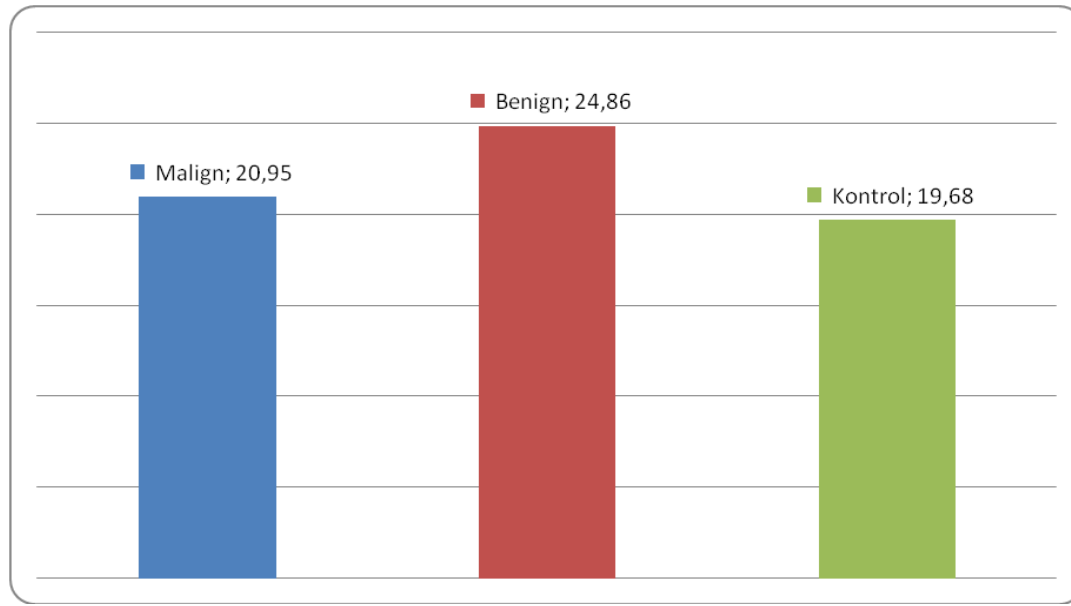
Malign gruptaki ortalama NGAL değeri 20.95 ± 4.30 ng/ml iken benign grupta bu değer 24.86 ± 6.43 ng/ml bulunmuş olup benign grup ortalama NGAL değeri malign gruba göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p=0.009$). Kontrol grubunun ortalama NGAL değeri ise 19.68 ± 4.69 ng/ml olup yine istatistiksel analiz sonucunda benign grup ortalama

NGAL değeri, kontrol grubuna göre anlamlı (Şekil 1). derecede yüksek bulunmuştur ($p=0.001$) (Tablo 3,

Tablo 3. Gruplar arasında NGAL ve CA 15-3 değerlerinin karşılaştırılması.

	Malign Grup (n=28)	Benign Grup (n=29)	Kontrol Grubu (n=27)	p
CA15-3 (U/ml)	38.20±76.69	14.28±7.23	14.57±5.59	0.077
NGAL (ng/ml)	20.95±4.30	24.86±6.43	19.68±4.69	0.001**

** $p<0.01$



Şekil 1. Gruplar arasında NGAL değerlerinin karşılaştırılması.

Kanser grubundaki 28 hastanın 12'sinde (%42.86) aksiller lenf nodu (LN) metastazı saptanmış olup CA15-3 değeri ile metastatik LN sayısı arasında %54 düzeyinde pozitif yönlü anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($p=0.003$). Diğer yandan, kanser grubunda CA15-3 düzeyleri ile östrojen reseptörü (estrogen receptor, ER) (aralık: %0-90), progesteron reseptörü (progesterone receptor, PR) (aralık: %0-90) ve Ki-67 proliferasyon indeksi (aralık: %1-70) yüzdeleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (sırasıyla; $p=0.195$, $p=0.658$ ve $p=0.544$).

Ek olarak, kanser grubunda; patolojik tip, lokal ileri tümör varlığı, T evresi, N evresi, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, c-erbB2, e-kadherin pozitifliği, histolojik grad ile CA15-3 değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki saptanmamıştır (Tablo 4). Kanser grubunun NGAL düzeyleri ile pozitif LN sayısı, ER, PR, ve Ki-67

indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır (sırasıyla $p=0.641$, $p=0.863$, $p=0.200$ ve $p=0.409$). Ek olarak, kanser grubundaki patolojik tip, lokal ileri tümör varlığı, T ve N evreleri, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, c-erbB2, e-kadherin pozitifliği parametreleri ile NGAL değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki saptanmamıştır (Tablo 5).

Diğer yandan, malign grupta histolojik grad ile NGAL değerleri arasında istatistiksel farklılık bulunmuştur. Histolojik grad değerlendirildiğinde; iki (%7.14) hastada Grad 1, 18 (%64.29) hastada Grad 2 ve sekiz (%28.57) hastada Grad 3 gözlenmiştir. Grad 2 grubunda ortalama NGAL değeri $22,52\pm3.10$ ng/ml ölçülmüş olup bu değer diğer histolojik grad gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p=0.028$) (Tablo 5).

Tablo 4. Kanser grubunda CA15-3 değerlerinin histopatolojik bulgular ile karşılaştırılması.

		n (hasta sayısı)	CA15-3		p
			Ortalama (U/ml)	Standart sapma	
Patolojik tip	Duktal	24	40.56	82.53	0.914
	Lobüler	3	28.16	22.23	
	DCIS	1	11.70	0	
Lokal ileri tümör	Yok	25	26.78	42.80	0.654
	Cilt invazyonu	1	15.50	0	
	Kas invazyonu	2	192.35	252.08	
T Evresi	in situ	1	11.70	0	0.261
	1	9	34.02	65.51	
	2	14	23.64	25.97	
	3	1	20.70	0	
	4	3	133.40	205.40	
N Evresi	0	17	32.83	87.17	0.957
	1	7	50.75	70.87	
	2	3	45.23	50.29	
	3	1	20.70	0	
Lenfovasküler invazyon	Yok	19	18.86	21.34	0.194
	Var	9	79.05	126.73	
Perinöral invazyon	Yok	20	23.74	43.86	0.116
	Var	8	74.37	123.99	
c-erbB2	0	22	31.93	76.35	0.402
	1	2	109.95	138.94	
	2	4	36.85	44.44	
e-kadherin	Pozitif	17	51.37	96.76	0.266
	Negatif	11	17.85	12.28	
Histolojik grad	1	2	10.55	8.27	0.528
	2	18	29.98	49.39	
	3	8	63.62	124.98	

TARTIŞMA

CA15-3, meme kanseri hastalarının takiplerinde sıklıkla kullanılan bir kanser antijeni olup prognostik bir tümör belirteci olarak genel kabul görmektedir. Donepudi ve ark, CA15-3'ün erken evre meme tümörlerinde tanısal değerinin zayıf olduğunu [12], Duffy ve ark. ise erken ve lokalize hastalıkta CA15-3'ün serum değerlerinin nadiren yükseldiğini bildirmişlerdir [13]. Çalışmamızda; malign grupta ortalama CA15-3 değeri 38.20 ± 76.69 U/ml iken benign grupta ortalama 14.28 ± 7.23 U/ml ve kontrol grubunda ortalama 14.57 ± 5.59 U/ml ölçülmüştür. Kanser grubunda elde edilen ortalama CA15-3 değeri, diğer gruplardan sayısal olarak belirgin yükseklik gösterse de bu değer istatistiksel analizler sonucunda anlamlılık kazanmamıştır ($p=0.077$).

Di Gioia ve ark, CA 15-3'ü inceledikleri çalışmalarında bu tümör belirtecinin artmış tümör çapı, artmış metastatik lenf nodu (LN) sayısı, negatif hormon reseptörü durumu ve HER2 pozitifliği gibi

kötü prognostik faktörler ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir [14]. Park ve ark, 740 hastalık çalışmalarında preoperatif yüksek CA15-3 seviyelerinin >5 cm tümör çapı, ≥ 4 sayıda metastatik LN ve ≥ 3 kanser evresi ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir [6]. Çalışmamızdaki kanser grubunun verilerinin karşılaştırılmasında patolojik tip, lokal ileri tümör varlığı, T evresi, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, c-erbB2 (HER2/neu), e-kadherin pozitifliği, histolojik grad prognostik parametreleri ile CA15-3 değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki saptanmamıştır (Tablo 4).

Kanser grubunda bulunan 28 hastanın biri (%3.57) T1s, dokuzu (%32.15) T1, 14'ü (%50.00) T2, biri (%3.57) T3 ve üçü (%10.71) T4 evresinde olup toplamda 24 hastanın erken evrede (Evre I-II) tanı aldıkları görülmektedir. Bulgularımız ışığında bizim serimizde de erken T evresinde CA15-3 değerlerinin tanısal duyarlılığının düşük olduğu görüşü ortaya çıkmaktadır. Çalışmamızda kanser grubunda CA15-3

değeri ile metastatik LN sayısı arasında %54 düzeyinde pozitif yönlü anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p=0.003$). Dolayısıyla, bizim verilerimize göre de metastatik LN sayısı arttıkça bu tümör belirtecinin seviyeleri yükselmektedir. CA15-

3'ün meme kanseri tanısından ziyade meme kanserli hastaların tanımlayıcı tedavileri sonrasında takiplerinde kullanılmasının daha elverişli olduğu görüşündeyiz.

Tablo 5. Kanser grubunda NGAL değerlerinin histopatolojik bulgular ile karşılaştırılması.

		n	NGAL		p
			Ortalama (U/ml)	Standart sapma	
Patolojik tip	Duktal	24	20.79	4.31	0.193
	Lobüler	3	19.71	2.37	
	DCIS	1	28.47	0	
Lokal ileri tümör	Yok	25	21.20	4.49	0.674
	Cilt invazyonu	1	18.19	0	
	Kas invazyonu	2	19.17	0.86	
T Evresi	in situ	1	28.47	0	0.300
	1	9	22.14	3.70	
	2	14	20.13	4.78	
	3	1	20.59	0	
	4	3	18.84	0.83	
N Evresi	0	17	20.40	5.07	0.271
	1	7	21.61	3.20	
	2	3	22.60	2.40	
	3	1	20.59	0	
Lenfovasküler invazyon	Yok	19	21.07	4.92	0.827
	Var	9	20.68	2.81	
Perinöral invazyon	Yok	20	21.13	4.86	0.724
	Var	8	20.48	2.62	
c-erbB2	0	22	20.39	4.35	0.073
	1	2	27.56	1.28	
	2	4	20.72	1.55	
e-kadherin	Pozitif	17	20.38	4.62	0.394
	Negatif	11	21.83	3.82	
Histolojik grad	1	2	18.71	6.98	0.028*
	2	18	22.52	3.10	
	3	8	20.95	4.30	

* $p<0.05$

Aynı zamanda “neu ilişkili lipokalin (neu related lipocalin, NRL)”, “onkojen 42p3 (oncogene 24p3)”, “uterokalin (uterocalin)” ve “lipokalin 2 (lipocalin 2)” isimleri ile de anılan nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin (neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL), demire yanıt veren ve primordiyal hücrelerin diferansiyasyonunda kritik öneme sahip olan genleri regüle ederek, daha embriyonal dönemden başlamak üzere bazı insan dokularının büyümesi, gelişmesi ve diferansiyasyonunda görev alıyor gibi görünmektedir^{15,16}. NGAL sentezi,

neoplazi oluşumunu tetikleyen faktörler tarafından indüklendiği için bu proteinin karsinogenez ve tümör gelişiminde rol oynadığı düşünülmektedir¹⁶⁻¹⁸. NGAL aşırı ekspresyonunun indüksiyonunun hücreler arası adezyonu azalttığı, hücre-matriks birleşimini artırdığı, hücre hareketini ve in vitro olarak kanser hücrelerinin invazyonunu artırdığı gösterilmiştir¹⁹.

NGAL'ın özofagus, mide ve kolorektal kanserler de dahil olmak üzere gastrointestinal sistemde kanser gelişiminde rol oynadığını gösteren kanıtlar artmakta

olsa da meme kanseri üzerine etkisi netleştirilememiştir²⁰⁻²³. Ameliyat sonrasında yapılan TNM evrelemesinin meme kanseri olgularında en güçlü prognostik gösterge olduğu hali hazırda kabul edilmektedir. Evre yükseldikçe hastaların sağ kalımı genel olarak düşse de olguların bir bölümünde TNM evresi klinik sonuçlarla ilgisiz olarak sadece neoplazinin anatomik yayılımını ortaya koymaktan öteye gidememektedir. Bu nedenle meme kanseri için prognostik değeri olan başka belirteçlere de ihtiyaç duyulmakta ve çeşitli araştırmalar gerçekleştirilmektedir.

NGAL seviyelerindeki değişiklikler inflamatuvar süreçler ve tümör gelişimi durumlarında ortaya çıkabilmektedir¹⁰. Provatooulou ve ark, 113 hastalık çalışmalarında NGAL'ın meme kanseri taramasında kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir²⁴. Wang ve ark, dört çalışmayı inceleyerek yayımladıkları meta-analizlerinde NGAL'ın meme kanseri olgularında %64 duyarlılık ve %87 özgüllükle tanısal açıdan önemli bir belirteç olabileceğini bildirmişler, ancak bu derlemeye dahil edilen çalışmaların sadece belirli bir bölgedeki hastaları kapsıyor olması, hasta sayısının az olması ve örneklerin sadece immünohistokimyasal yöntemle çalışılmış olmasının söz konusu meta-analizin kısıtlamalarını oluşturduğunu belirtmişlerdir²⁵. Bizim çalışmamızda, örneklerin ELISA yöntemi ile çalışmış olması ise bu meta-analizdeki çalışmaların ortak metodolojilerine göre farklılık oluşturmaktadır.

NGAL'ın meme kanserinde kötü prognostik bir faktör olabileceğini ve azalmış sağ kalım ile ilişkisini savunan yayınlar mevcuttur^{24,26}. Wenner ve ark, neoadjuvan kemoterapi alan 652 meme kanseri hastası üzerinde patolojik tam yanıt ve sağ kalım oranlarını değerlendirerek yaptıkları çalışmalarında; NGAL ekspresyonunun negatif hormon reseptörü durumu ile korele olduğunu ve NGAL'ın daha kısa hastalıklı sağ kalım ile ilişkili, dolayısıyla kötü prognozu predikte eden bağımsız bir faktör olduğunu bildirmişlerdir²⁷.

Diğer yandan, Stoezs ve ark, NGAL geninin 17 insan dokusundan ikisinde az-orta düzeyde saptandığını, bu iki dokunun meme ve akciğer dokusu olduğunu ve meme kanserinde NGAL ekspresyonunun heterojenite gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada meme tümörlerinde NGAL düzeylerinin ölçülemeyecek kadar az düzeyde olmaktan aşırı düzeylerde yüksek değerlere kadar geniş bir spektrumda ölçülebildiği, NGAL eksprese eden meme tümörlerinde NGAL'ın meme

duktusları içerisinde biriktiği gösterilmiş, ER ve PR negatifliği ile ilişkili, HER-2/neu ve sağ kalım ile ise ilişkisiz olduğu bulunmuştur²⁸. Cramer ve ark, meme kanserinde NGAL düzeylerini inceledikleri deneysel çalışmalarında NGAL'ın meme kanseri gelişimi, tümör çapı, metastaz gelişimi ya da agresif kanser tipi ile ilişkili olmadığını bildirmişlerdir²⁹.

In vitro çalışmalarda NGAL'ın ektopik ekspresyonu ya da ekspresyonunun susturulmasının meme kanseri hücrelerinin üzerinde etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Diğer yandan NGAL'ın transforme olmamış ancak ölümsüz (immortal) hale gelen meme epitel hücreleri üzerine etkisi, meme kanseri hücrelerine olan etkisinden farklılık göstermektedir. Immortal hale getirilmiş normal meme epitel dizisine rekombinant NGAL eklenmesinin hücre kolonilerinde anlamlı bir artışa neden olduğu gözlenmiş olup bu bulgu NGAL'ın daha çok normal meme epitel hücrelerindeki proliferasyonu stimüle ettiğini düşündürmektedir^{28,29}.

Çalışmamızdaki benign gruptaki ortalama NGAL değeri gerek malign gruptan gerekse de kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptanmıştır (sırasıyla; $p=0.009$ ve $p=0.001$). Malign grup içerisindeki değerlendirmelerde; patolojik tip, lokal ileri tümör varlığı, T / N evreleri, ER, PR, Ki-67 indeksi, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, c-erbB2 pozitifliği, e-kadherin pozitifliği prognostik parametreleri ile NGAL değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki saptanmamıştır (Tablo 5). Histolojik gradı 2 saptanan hastaların oranı diğer histolojik grad gruplarına göre daha fazla bulunmuş olsa da NGAL seviyelerinin değişiklik gösterebildiği meme tümörü olgularında elde edilen bu bulgunun klinik önemi de tartışmalıdır ($p=0.028$) (Tablo 5).

Memenin selim ve habis hastalıklarında NGAL ile ilişkili bulguların biyolojik prensiplerini izah etmek güçtür. Bu konuda yayımlanmış olan literatür incelendiğinde çelişkili sonuçların mevcut olduğu görülmektedir. Çalışmamızın verileri de bahsi geçen yayınlardan bazıları ile çalışmakta olup bunun nedeni hasta sayısının az olmasından kaynaklanan rastlantısal bulgular elde etmiş olmamız olabilir.

Artmış tümör çapı ve metastatik lenf nodu (LN) tutulumu ile ilişkili olduğu, erken ve lokalize hastalıkta tanısal değerinin zayıf olduğu bilinen CA15-3'ün çalışmamızdaki kanser grubunda elde edilen ortalama değeri diğer gruplardan belirgin yükseklik gösterse de bu değer istatistiksel analizler

sonucunda anlamlılık kazanmamıştır. CA15-3 değeri ile metastatik LN sayısı arasında pozitif yönlü anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Biz de bu istatistiki veriye dayanarak serimizdeki hastaların çoğunluğunun erken evre olarak kabul gören Evre 1 ve 2 hastalardan oluşması nedeniyle CA15-3 değerlerinin tanısal duyarlılığının düşük saptandığı ve meme kanseri tanısından ziyade meme kanserli hastaların postoperatif takibinde kullanılmasının daha elverişli olduğunu düşünmekteyiz.

Yapılan bazı deneysel çalışmalarda NGAL düzeylerinin meme kanserinde heterojenite gösterdiği, hatta NGAL'ın ektopik ekspresyonunun normal meme epitel hücrelerinde proliferasyona neden olsa da meme kanseri hücrelerini etkilemediği gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda; meme kanserli hastalardaki ortalama NGAL seviyesinin kontrol grubundan yüksek olmayışı NGAL salınımındaki heterojenitenin, memenin selim lezyonlarındaki ortalama NGAL seviyesinin diğer iki gruptan yüksek olması ise artmış benign tip proliferasyonun bir göstergesi olarak açıklanabilir. Bulgularımıza göre NGAL'ın meme kanserinde tanısal ve prognostik açıdan değeri tartışmalı olup bu konunun aydınlatılması amacıyla daha kapsamlı araştırmalar yapılması gerektiği kanısındayız.

KAYNAKLAR

- Greenlee RT, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, CA Cancer J Clin. 2000;50:7-33.
- Ozmen V. Breast cancer in the world and Turkey. J Breast Health. 2008;4:7-12.
- Gion M, Mione R, Leon AE, Lüftner D, Molina R, Possinger K et al. CA27.29: a valuable marker for breast cancer management. A confirmatory multicentric study on 603 cases. Eur J Cancer. 2001;37:355-63.
- Lüftner D, Lücke C, Possinger K. Serum HER-2/neu in the management of breast cancer patients. Clin Biochem. 2003;36:233-40.
- Wang Y, Fang F, Shi C, Zhang X, Liu L, Li J et al. Evaluation of a method for the simultaneous detection of multiple tumor markers using a multiplex suspension bead array. Clin Biochem. 2012;45:1394-8.
- Park BW, Oh JW, Kim JH, Park SH, Kim KS, Kim JH et al. Preoperative CA15-3 and CEA serum levels as predictor for breast cancer outcomes. Ann Oncol. 2008;19:675-81.
- Ali HQ, Mahdi NK, Al-Jowher MH. The value of CA15-3 in diagnosis, prognosis and treatment response in women with breast cancer. J Pak Med Assoc. 2013;63:1138-41.
- Kjeldsen L, Johnsen AH, Sengeløv H, Borregaard N. Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase. J Biol Chem. 1993;268:10425-432.
- Bolignano D, Donato V, Coppolino G, Campo S, Buemi A, Lacquaniti A et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a marker of kidney damage. Am J Kidney Dis. 2008;52:595-605.
- Chakraborty S, Kaur S, Guha S, Batra SK. The multifaceted roles of neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) in inflammation and cancer. Biochim Biophys Acta. 2012;1826:129-69.
- Flo TH, Smith KD, Sato S, Rodriguez DJ, Holmes MA, Strong RK et al. Lipocalin 2 mediates an innate immune response to bacterial infection by sequestering iron. Nature 2004;432:917-21.
- Donepudi MS, Kondapalli K, Amos SJ, Venkateshan P. Breast cancer statistics and markers. J Cancer Res Ther. 2014;10:506-11.
- Duffy MJ, Evoy D, McDermott EW. CA15-3: uses and limitation as a biomarker for breast cancer. Clin Chim Acta. 2010;411:1869-74.
- Di Gioia D, Dresse M, Mayr D, Nagel D, Heinemann V, Stieber P. Serum HER2 in combination with CA 15-3 as a parameter for prognosis in patients with early breast cancer. Clin Chim Acta. 2015;440:16-22.
- Gwira JA, Wei F, Ishibe S, Ueland JM, Barasch J, Cantley LG. Expression of neutrophil associated-gelatinase lipocalin regulates epithelial morphogenesis in vitro. J Biol Chem. 2005;280:7875-82.
- Bolignano D, Donato V, Lacquaniti A, Fazio MR, Bono C, Coppolino G et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in human neoplasias: a new protein enters the scene. Cancer Lett. 2010;288:10-16.
- Bratt T. Lipocalins and cancer. Biochim Biophys Acta. 2000;1482:318-26.
- Hanai J, Mammoto T, Seth P, Mori K, Karumanchi SA, Barasch J et al. Lipocalin 2 diminishes invasiveness and metastasis of Ras-transformed cells. J Biol Chem. 2005;280:13641-47.
- Hu L, Hittelman W, Lu T, Ji P, Arlinghaus R, Shmulevich I et al. NGAL decreases E-cadherin-mediated cell-cell adhesion and increases cell motility and invasion through Rac1 in colon carcinoma cells. Lab Invest. 2009;89:531-48.
- Zhang XF, Zhang Y, Zhang XH, Zhou SM, Yang GG, Wang OC et al. Clinical significance of Neutrophil gelatinase-associated lipocalin(NGAL) expression in primary rectal cancer. BMC Cancer. 2009;9:134.
- Kubben FJ, Sier CF, Hawinkels IJ, Tschesche H, van Duijn W, Zuidwijk K et al. Clinical evidence for a protective role of lipocalin-2 against MMP-9 autodegradation and the impact for gastric cancer. Eur J Cancer. 2007;43:1869-76.

22. Zhang H, Xu L, Xiao D, Xie J, Zeng H, Wang Z et al. Upregulation of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in oesophageal squamous cell carcinoma: significant correlation with cell differentiation and tumour invasion. *J Clin Pathol.* 2007;60:555-61.
23. Sun Y, Yokoi K, Li H, Gao J, Hu L, Liu B et al. NGAL expression is elevated in both colorectal adenoma-carcinoma sequence and cancer progression and enhances tumorigenesis in xenograft mouse models. *Clin Cancer Res.* 2011;17:4331-40.
24. Provatopoulou X, Gounaris A, Kalogera E, Zagouri F, Flessas I, Goussetis E et al. Circulating levels of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and their complex MMP-9/NGAL in breast cancer disease. *BMC Cancer.* 2009;9:390.
25. Wang Y, Zeng T. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin protein as a biomarker in the diagnosis of breast cancer: A meta-analysis. *Biomed Rep.* 2013;1:479-83.
26. Stoesz SP, Friedl A, Haag JD, Lindstrom MJ, Clark GM, Gould MN. Heterogeneous expression of the lipocalin NGAL in primary breast cancers. *Int J Cancer.* 1998;79:565-72.
27. Wenners AS, Mehta K, Loibl S, Park H, Mueller B, Arnold N et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) predicts response to neoadjuvant chemotherapy and clinical outcome in primary human breast cancer. *PLoS One.* 2012;7:e45826.
28. Cramer EP, Glenthøj A, Häger M, Juncker-Jensen A, Engelholm LH, Santoni-Rugiu E et al. No Effect of NGAL/lipocalin-2 on aggressiveness of cancer in the MMTV-PyMT/FVB/N mouse model for breast cancer. *PLoS One.* 2012;7:e39646.
29. Tong Z, Wu X, Ovcharenko D, Zhu J, Chen CS, Kehr JP. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a survival factor. *Biochem J.* 2005;391:441-8.