

AĞUSTOS 2024

Doktora Tezi - Biyoloji

NASER GİLANİ

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MEME KANSERİNDE XRCC2 GENİNİN GENETİK ve
EPIGENETİK KARAKTERİZASYONU

BİYOLOJİ
DOKTORA TEZİ

NASER GİLANİ
AĞUSTOS 2024

**MEME KANSERİNDE XRCC2 GENİNİN GENETİK ve
EPIGENETİK KARAKTERİZASYONU**

Gaziantep Üniversitesi

Biyoloji

Doktora Tezi

Danışman

Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN

Naser GİLANİ

Ağustos 2024



©2024[Gaziantep Üniversitesi]

İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilmek suretiyle tezde yer aldığını beyan ederim.

Naser GİLANİ

ABSTRACT

GENETIC and EPIGENETIC CHARACTERIZATION of XRCC2 in BREAST CANCER

GILANI , Naser

Ph.D. in Biology

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN

August 2024

92 pages

Breast cancer (BC) is a leading cause of morbidity and mortality among women, with its development influenced by genetic factors such as mutations in the XRCC2 gene, a key player in DNA repair via homologous recombination..Specimens were collected from Zheen International Hospital, located in Erbil, Iraq. DNA extracted from these samples underwent NGS, revealing seven XRCC2 variants with varying pathogenicity predictions. In terms of pathogenicity, 5 of these mutations were uncertain significance, 1 of them was likely pathogenic and the other one was likely benign. Additionally, RNA was extracted, converted to cDNA, and analyzed by qRT-PCR. The XRCC2 mRNA expression levels were normalized using GAPDH and statistically analyzed using the $2^{-\Delta Ct}$ method. The study found a significant upregulation of XRCC2 expression in BC tissues compared with normal controls ($p<0.05$), especially in patients aged 40-55 years and those > 56 years ($p=0.0392$ and $p=0.0191$, respectively), and in higher BC grades II and III ($p=0.0013$ and $p=0.0051$, respectively). Invasive ductal carcinoma exhibited a notable increase in XRCC2 expression ($p=0.0006$), also the current study found a 7% methylation rate for the XRCC2 gene in tumor tissue, with no indication of methylation in the XRCC2 promoter region. In conclusion, this study underscores the importance of the XRCC2 gene in BC. It contributes to the growing body of evidence that XRCC2 could serve as a biomarker for BC risk and prognosis evaluation

Keywords: Breast cancer, Next-generation sequencing, qRT-PCR , XRCC2

ÖZET

MEME KANSERİNDE XRCC2 GENİNİN GENETİK ve EPIGENETİK KARAKTERİZASYONU

GİLANİ , Naser

Doktora Tezi, Biyoloji

Danışman: Dr. Öğr. Mehmet ÖZASLAN

Ağustos 2024

92 sayfa

Meme kanseri, homolog rekombinasyon yoluyla DNA onarımında önemli bir rolü olan XRCC2 genindeki mutasyonlarla ilişkili genetik faktörlerden etkilenen kadınlar arasında önde gelen bir morbidite ve mortalite nedenidir. Örnekler Irak'ın Erbil kentinde bulunan Zheen Uluslararası Hastanesi'nden toplandı. Bu örneklerden ekstrakte edilen DNA'ya NGS uygulandı ve değişen patojenite tahminlerine sahip yedi XRCC2 varyantı tespit edildi. Patojenite açısından bu mutasyonlardan 5'inin önemi belirsiz, 1'i muhtemelen patojenik, diğeri ise muhtemelen iyi huyluydu. Ek olarak RNA ekstre edildi, cDNA'ya dönüştürüldü ve qRT-PCR ile analiz edildi. XRCC2 mRNA ekspresyon seviyeleri GAPDH kullanılarak normalleştirildi ve $2^{-\Delta Ct}$ yöntemi kullanılarak istatistiksel olarak analiz edildi. Çalışmada, normal kontrollerle karşılaştırıldığında ($p < 0,05$), özellikle 40-55 yaş arası ve 56 yaş üstü hastalarda (sırasıyla $p = 0,0392$ ve $p = 0,0191$) meme tümörü dokularında XRCC2 ekspresyonunda anlamlı bir artış olduğunu bulundu. Ayrıca II. ve III. evre meme tümörü ile XRCC2 gen ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki bulundu (sırasıyla $p = 0,0013$ ve $p = 0,0051$). İnvaziv duktal karsinomda, XRCC2 ekspresyonu önemli bir artış tespit edildi ($p = 0,0006$), ayrıca mevcut çalışma, XRCC2 promotör bölgesinde herhangi bir metilasyon belirtisi olmaksızın, tümör dokusunda XRCC2 geni için %7'lik bir metilasyon oranı buldu. Sonuç olarak bu çalışma meme kanserinde XRCC2 geninin öneminin belirtmektedir. XRCC2'nin meme kanseri riski ve prognoz değerlendirmesi için bir biyobelirteç görevi görebileceğine dair artan kanıtlara katkıda bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri, , qRT-PCR, Yeni nesil dizileme, XRCC2.



"Canum aileme"

TEŞEKKÜR

Bu çalışma süresince tüm bilgilerini benimle paylaşmaktan kaçınmayan, her türlü konuda desteğini benden esirgemeyen ve tezimde büyük emeği olan, Gaziantep Üniversitesi öğretim üyelerinden danışman hocam, sayın Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN'a sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez süresince desteklerini benden esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. İbrahim Halil KILIÇ ve Doç. Dr. Sibel BAYIL OĞUZKAN'a teşekkür ederim

Tüm sıkıntılarımda ,yokluklarımda ve sabırsızlığımda yanımda olan başta eşim Janan ve hayatımın anlamı iki meleğim ,kızım Barin ve Derin olmak üzere aileme hayallerimin peşinden gitmem için bana ilham verdiği ,bana inandığı ve benim içinen iyisini istediği için sonsuz teşekkürlerimi sunarım

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ABSTRACT	i
ÖZET.....	ii
İTHAF	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	ix
SEMBOLLER LİSTESİ.....	ix
KISALTMALAR LİSTESİ.....	x
BÖLÜM 1 GİRİŞ	1
1.1 Çalışmanın Amacı.....	1
1.2 Kanser.....	2
1.2.1 Kanser Sınıflandırılması.....	3
1.2.3 Kanser Hücrelerinin Özellikleri.....	6
1.2.4 Kanser Genetiği.....	6
1.2.4.1 Proto-onkogenler.....	7
1.2.4.2 Tümör Baskılayıcı Genler.....	9
1.2.4.3 DNA Tamir Genleri.....	9
1.3 DNA Hasarı.....	9
1.3.1 DNA Hasarı Tamir Mekanizması.....	10
1.3.2 Homolog Rekombinasyon.....	12
1.4 Kanser İlişkili Genlerin Mutasyonları ve Tespit Yöntemleri.....	14
1.5 Meme.....	15
1.5.1 Dişi Meme Anatomisi.....	15
1.5.2 Meme Fizyolojisi.....	20
1.6 Meme Kanseri.....	22
1.6.1 Meme Kanseri Etiyolojisi ve Risk Faktörleri.....	22
1.6.2 Meme Kanseri Epidemiyolojisi.....	23

1.6.3 Meme Kanseri Patofizyolojisi.....	24
1.6.4 Meme Kanseri Histopatolojisi.....	24
1.6.5 Meme Kanserinin Değerlendirilmesi.....	25
1.6.6 Meme Kanserinde Tedavi/Yönetim.....	26
1.6.7 Meme Kanserinin Moleküler Sınıflandırılması.....	26
1.6.8 Meme Kanseri Evreleri.....	27
1.6.9 Prognoz.....	29
1.6.10 Meme Kanseri Risk Faktörleri.....	29
1.6.11 Meme Kanseri Genetiği	31
1.6.12 Kalıtsal Meme Kanseri.....	32
1.6.13 Meme Kanserine Yatkınlık Genleri.....	32
1.6.14 Meme Kanseri ve Genetik Analiz Teknikleri.....	34
1.6.15 Meme Kanserine Yatkınlık Genlerindeki Dizi Varyantlarının Klinik Yorumu.....	36
1.6.16 Meme Kanserinde Gen İfade Modeli.....	37
1.6.17 Meme Kanseri Epigenetiği.....	37
1.7.XRCC2GenYapısıveFonksiyonları.....	38
BÖLÜM 2 LİTERATÜR TARAMASI.....	42
BÖLÜM 3 MATERYAL METOD.....	46
3.1 Örneklerin Toplanması.....	47
3.2 Cihazlar.....	48
3.3 Kimyasal Maddeler.....	48
3.4 Çözeltiler.....	49
3.5 Mutasyon Analizi.....	50
3.5.1 DNA İzolasyonu.....	50
3.5.2 Yeni Nesil Dizileme (NGS).....	50
3.5.3 <i>In silico</i> Analiz.....	50
3.6. Ekspresyon Analizi.....	51
3.6.1 RNA İzolasyonu.....	51
3.6.2 Komplementer DNA Sentezi.....	51
3.6.2.1 cDNA Sentez Aşamaları.....	51
3.6.3 Primer Dizaynı.....	52
3.6.4 PCR Optimizasyonu	53
3.6.5 GAPDH Amplifikasyonu.....	55

3.6.6. Agaroz Jel Elektroforezi.....	55
3.6.7. Gerçek Zamanlı PCR (RT-PCR).....	55
3.6.8 RT-PCR Bileşenleri.....	56
3.6.9 İstatistiksel Analiz.....	57
3.7 Metilasyon Analizi.....	57
3.8 XRCC2 Gen Etkileşimleri Analizi.....	58
BÖLÜM 4 BULGULAR	59
4.1 Total DNA Miktarı ve Kalitesi ile İlgili Bulgular.....	59
4.2 Yeni Nesil Dizileme ile Elde Edilen Mutasyon Analizi Bulguları.....	61
4.3 Total RNA Miktarı ve Kalitesi ile İlgili Bulgular.....	62
4.4 XRCC2 Geni mRNA Ekspresyon Bulguları.....	63
4.4.1 RT-PCR Bulguları.....	64
4.4.2 İstatistiksel Analiz Bulguları.....	66
4.5 XRCC2 Geni Metilasyon Bulguları.....	68
4.6 XRCC2 Gen Etkileşim Bulguları.....	69
BÖLÜM 5 TARTIŞMA ve SONUÇ	73
5.1 Sonuç ve Öneriler.....	78
KAYNAKLAR.....	80
ÖZGEÇMİŞ.....	90

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1 Meme Kanseri Gelişimini Etkileyen Risk Faktörleri.....	31
Tablo 1.2 XRCC2 Gen Özellikleri.....	39
Tablo 3.1 Hasta örneklerinin yaş, kanser türü ve tümör evresine göre sınıflandırılması.....	46
Tablo 3.2 Kullanılan cihazlar, marka üretim yerleri.....	48
Tablo 3.3 Kullanılan kimyasal maddeler, marka ve üretim yerleri.....	48
Tablo 3.4 Kullanılan çözeltiler ve kimyasal bileşenleri.....	49
Tablo 3.5 XRCC2/Exp primer dizileri, PCR ürün büyüklükleri ve optimal bağlanma sıcaklığı.....	53
Tablo 3.6 PCR Reaksiyonu Bileşenleri ve 25µL toplam hacimdeki miktarları.....	54
Tablo 3.7 Gradyan PCR Reaksiyon aşamaları.....	54
Tablo 3.8 XRCC2 ekspresyon seviyelerini ölçmek için uygulanan RT -PCR reaksiyon bileşenleri.....	56
Tablo 3.9 XRCC2 ekspresyon seviyesini belirlemek için RT-PCR Koşulları.....	57
Tablo 4.1 Total DNA ölçümü ve kalitesi.....	59
Tablo 4.2 Meme kanseri hastalarında tanımlanan XRCC2 Mutasyonları.....	61
Tablo 4.3 Total RNA ölçümü ve kalitesi.....	62
Tablo 4.4 Katılımcıların yaş ile XRCC2 gen ekspresyonu arasındaki ilişki ile ilgili bulgular.....	63
Tablo 4.5 Katılımcıların meme kanser evresi ile XRCC2 gen ekspresyonu arasındaki ilişki ile ilgili bulgular.....	67
Tablo 4.6 Meme Kanseri türü ile XRCC2 gen ekspresyonu arasındaki ilişki ile ilgili bulgular.....	67
Tablo 4.7 XRCC2 ile etkileşimi bulunan genlerin tanımlanması.....	71

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1	Amerika Birleşik Devletleri'nde kanser insidansı ve mortalitesi.....	5
Şekil 1.2	İyi huylu (benign) ya da kötü huylu (malignan) tümörler.....	6
Şekil 1.3	Kanser açısından kritik mutasyonlar.....	8
Şekil 1.4	DNA hasarının nedenleri, sonuçları ve ilgili onarım sistemler.....	11
Şekil 1.5	Homolog rekombinasyon ve uç birleştirme mekanizmaları.....	13
Şekil 1.6	Memenin sagittal kesiti.....	16
Şekil 1.7	Meme Anatomisi.....	18
Şekil 1.8	Meme Lenf Nodları ve Lenfatik Drenaj.....	19
Şekil 1.9	Meme Fizyolojisi.....	21
Şekil 1.10	Meme Kanseri Tümör Evreleme Sistemi.....	29
Şekil 1.11	Meme Tümörü Evreleme.....	30
Şekil 1.12	DSB ve onarımında yer alan proteinler.....	34
Şekil 1.13	XRCC2 Geni.....	40
Şekil 4.1	XRCC2 geninin $\Delta CT'$ sine göre hem kontrol hem de tümörler için mRNA'nın ekspresyon oranı.....	66
Şekil 4.2	Kontrol ve tümör mRNA' sının ekspresyon seviyelerinin istatistiksel sonuçları.....	67
Şekil 4.3	XRCC2 ekspresyonunun RT-PCR daki amplifikasyon eğrisi.....	67
Şekil 4.4	XRCC2 ekspresyonunun RT-PCR daki erime eğrisi.....	68
Şekil 4.5	Genomik ve kontrol DNA' nın Epi MspI ve Epi HpaI ile kesim.....	71
Şekil 4.6	Kantitatif XRCC2 metilasyon durumu.....	71
Şekil 4.7	XRCC2 gen etkileşimleri.....	72

SEMBOLLER LİSTESİ

Bç	baz çifti
°C	santigrat derece
Ng	nanogram
μM	mikromolar
μg	mikrogram
μl	mikrolitre
%	yüzde
∞	sonsuz
Δ	delta

KISALTMALAR LİSTESİ

A/D	Analog/Dijital
B-SPM	Bilineer Statik Parametrik Model
CHCl₃	Kloroform
D/A	Dijital/Analog
EtOAc	Etilasetat
HPLC	Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
MeOH	Metanol
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
Ph	Fenil

BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1 Çalışmanın Amacı

Meme kanseri, akciğer ve prostat kanserlerini geride bırakarak tüm dünyada en çok tanı konulan kanser haline gelmiştir. 2020 yılında dünya genelinde 2,3 milyon kadına meme kanseri teşhisi konulmuştur (Mayrovitz vd, 2022).

Bir kadına yaşamı boyunca meme kanseri teşhisi konma olasılığı 1975 yılında 11 kadında 1 iken, bu oran 8 kadında 1'e yükselmiştir (Altekrusa vd, 2010). Meme kanseri teşhisi konma ihtimali genellikle yaşla birlikte artmaktadır (Howlader, 2013). Bununla beraber meme kanserinden ölüm oranı son yıllarda erken teşhise ve beyaz ırkta daha etkili tedavilere verilen önemin artması nedeniyle azalmıştır. Bazı etnik popülasyonlarda ölüm oranları düşmüş olsa da, Afro-Amerikan ve Hispanik nüfus arasında genel kanser insidansı artmaya devam etmiştir (Yedjou vd, 2021).

Kalıtsal kanser yatkınlık sendromları, teşhis edilen tüm kanser vakalarının yaklaşık %5-10'undan sorumludur. Daha önceki yıllarda, belirli ailelerde kanser kalıtımının genetik nedeninin belirlenmesi için bazı yüksek riskli genlerin tek gen analizi kullanılmıştır. Günümüzde ise Yeni Nesil Dizileme (NGS) teknolojisinin uygulanması, çok genli panel analizini kolaylaştırmakta ve kansere yatkın gen varyantlarına sahip bireylerin belirlenmesi için klinik uygulamada yaygın olarak kullanılmaktadır (Tsaousis vd, 2019). En yaygın meme kanseri yatkınlık genleri, yumurtalık ve pankreas kanseri gelişme riskiyle de ilişkili olan BRCA1 ve BRCA2 olmasına rağmen, yeni nesil dizileme (NGS) analizi teknolojisindeki gelişmeler, meme ve yumurtalık kanserlerinden sorumlu BRCA olmayan birkaç genin daha keşfedilmesini sağlamıştır (Yoshida vd, 2021).

Genomik kararsızlık, kanseri etkinleştiren bir özellik olmaya devam etmekte ve kötü huylu dönüşümü teşvik etmektedir (Jiang vd, 2021). Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (GWAS), incelenen bir hedef popülasyonda yaygın olan hastalıkların genetik risk faktörlerini tespit etmek için insan genomu boyunca DNA dizilerindeki farklılıkları veya varyasyonları değerlendirmek ve analiz etmek için faydalı olabilir (Jurj vd, 2020). DNA hasar onarım (DDR) yolları, genetik materyalin doğru bir

şekilde aktarılmasını sağlamak için gereklidir (Jiang vd, 2020). DDR yollarının değişikliklerinde rol oynayan mekanizmalar temel olarak genetik inaktivasyon ve epigenetik mekanizmaları içermektedir. Karsinomların gelişimi ve ilerlemesi, O6-alkilguanin-DNA metiltransferaz (MGMT) geninin epigenetik susturulması, yanlış eşleşme onarım (MMR) genleri olan MutL homolog 1 (MLH1), MutS protein homologu (MSH)-2 (MSH2), MSH6 ve PMS1 homolog 2, yanlış eşleşme onarım sistemi bileşeni (PMS2) genlerindeki eksiklikleri, ve meme kanseri duyarlılık geni 1/2 (BRCA1/2) gibi homolog rekombinasyon onarım (HRR) genlerinin mutasyonları içeren DDR yolağı sapmaları ile yakından ilişkilidir (Jiang vd, 2020).

X ışını onarımı çapraz tamamlayıcı 2 (XRCC2/ X-ray repair cross complementing 2) geninin DNA çift iplik kırılmalarının homolog rekombinasyon onarımında önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Sirisena vd, 2019).

Bu çalışmada, XRCC2 genini genomik, transkriptomik ve epigenetik yönlerden inceleyerek meme kanserine yatkınlık varyantı olup olmadığını araştırmak temel amaç olarak belirlendi. Bu amaç doğrultusunda daha önce tespit edilmemiş meme kanserine yatkın varyantları ortaya çıkarmak için ekzom dizilimi analizleri kullanıldı. Ayrıca, meme kanseri hastalarında meme kanseri yatkınlık geni olabilecek XRCC2 gen ekspresyonu araştırılıp ek olarak insan meme kanserinde XRCC2'nin DNA metilasyonu, patofizyolojik ve prognostik önemi bağlamında araştırılmıştır.

1.2. Kanser

Kanser, vücudun bazı hücrelerinin kontrolsüz bir şekilde büyüdüğü bir hastalıktır. Kanser, trilyonlarca hücreden oluşan insan vücudunun neredeyse her yerinde başlayabilir (National Cancer Institute, 2021). Kanser, toplumlarda önde gelen morbidite ve mortalite nedeni olarak ortaya çıkmıştır. (Arnold vd, 2013) Yaklaşık her beş insandan birinin kanserden öleceği tahmin edilmektedir (Alberts vd, 2014). Kanser hücreleri, çok hücreli organizmaların oluşmasında ve sürdürülmesinde en temel hücre davranışı kurallarını ihlal eder. Hayatta kalmak için rekabet eden bakteri gibi serbest yaşayan hücrelerin aksine, çok hücreli bir organizmanın hücreleri işbirliği yapmaya karardır. Davranışlarını koordine etmek için hücreler, sosyal kontrol görevi gören ve hücreleri nasıl hareket edecekleri konusunda yönlendiren ayrıntılı bir dizi hücre dışı sinyal gönderir, alır ve yorumlar. Sonuç olarak, her bir hücre organizmanın sağlıklı olabilmesi için gerektiği şekilde sosyal bir sorumluluk tutumu içinde davranır: dinlenme, büyüme, bölünme, farklılaşma veya ölme gibi evreler planlı ve bir düzen

içinde syreden süreçlerdir. Bu uyumu bozan moleküler rahatsızlıklar çok hücreli bir organizma için önemli bir sorun anlamına gelmektedir.

10^{14} den fazla hücreye sahip bir insan vücudunda her gün milyarlarca hücre mutasyona uğrayarak sosyal kontrolleri bozma potansiyeline sahiptir. En tehlikelisi, bir mutasyon bir hücreye seçici bir avantaj sağlayarak, komşularına göre biraz daha güçlü bir şekilde büyümesine ve bölünmesine ve daha kolay hayatta kalmasına ve bu şekilde büyüyen bir mutant klonun kurucusu olmasına izin verebilmektedir (Alberts vd, 2014). Kanserin çoğu tek bir anormal hücreden kaynaklanır. Ancak bu tek hücrenin kanser hücresi olması için zamana ve başka mutasyonlara da ihtiyacı vardır. Kanser hücreleri somatik mutasyonlar içermektedir. Kanser hücrelerinin DNA dizilerinde, komşu normal hücrelerden ayıran bir veya daha fazla paylaşılan tespit edilebilir anormallik vardır ve kanser bu açıdan genetik bir hastalıktır. Beklendiği gibi, çeşitli DNA onarım mekanizmalarından birinde genetik bir kusuru miras alan ve hücrelerinin yüksek oranda mutasyon biriktirmesine neden olan kişilerde kanser riski daha yüksektir. Örneğin kseroderma pigmentozum hastalığı olan kişilerde, UV ışığının neden olduğu DNA hasarını onaran sistemde kusurlar vardır ve bu kişilerde cilt kanseri görülme sıklığı büyük ölçüde artmaktadır. Tümör ilerlemesi, doğal seçilimin izlediği rastgele kalıtsal değişimin ardışık turlarını içermektedir (Alberts vd, 2014).

1.2.1. Kanser Sınıflandırılması

Kanser sınıflandırması, onkolojik karar vermeyi kolaylaştırmak için hastalığın doğru teşhisini ve tümör davranışının tahminini sağlamayı amaçlamaktadır (Tsang vd, 2020). Kanseler geleneksel olarak ortaya çıktıkları doku ve hücre tipine göre sınıflandırılır. Karsinomlar, epitelyal hücrelerden kaynaklanan kanserlerdir ve insanlarda en sık görülen kanserlerdir. Vakaların yaklaşık %80'ini oluştururlar, bunun nedeni yetişkinlerde hücre çoğalmasının çoğunun epitelde meydana gelmesi olabilir. Ayrıca epitelyal dokular, kanser gelişimini destekleyen çeşitli fiziksel ve kimyasal hasar biçimlerine maruz kalma olasılığı en yüksek olan dokulardır. Sarkomlar bağ dokusu veya kas hücrelerinde meydana gelir.

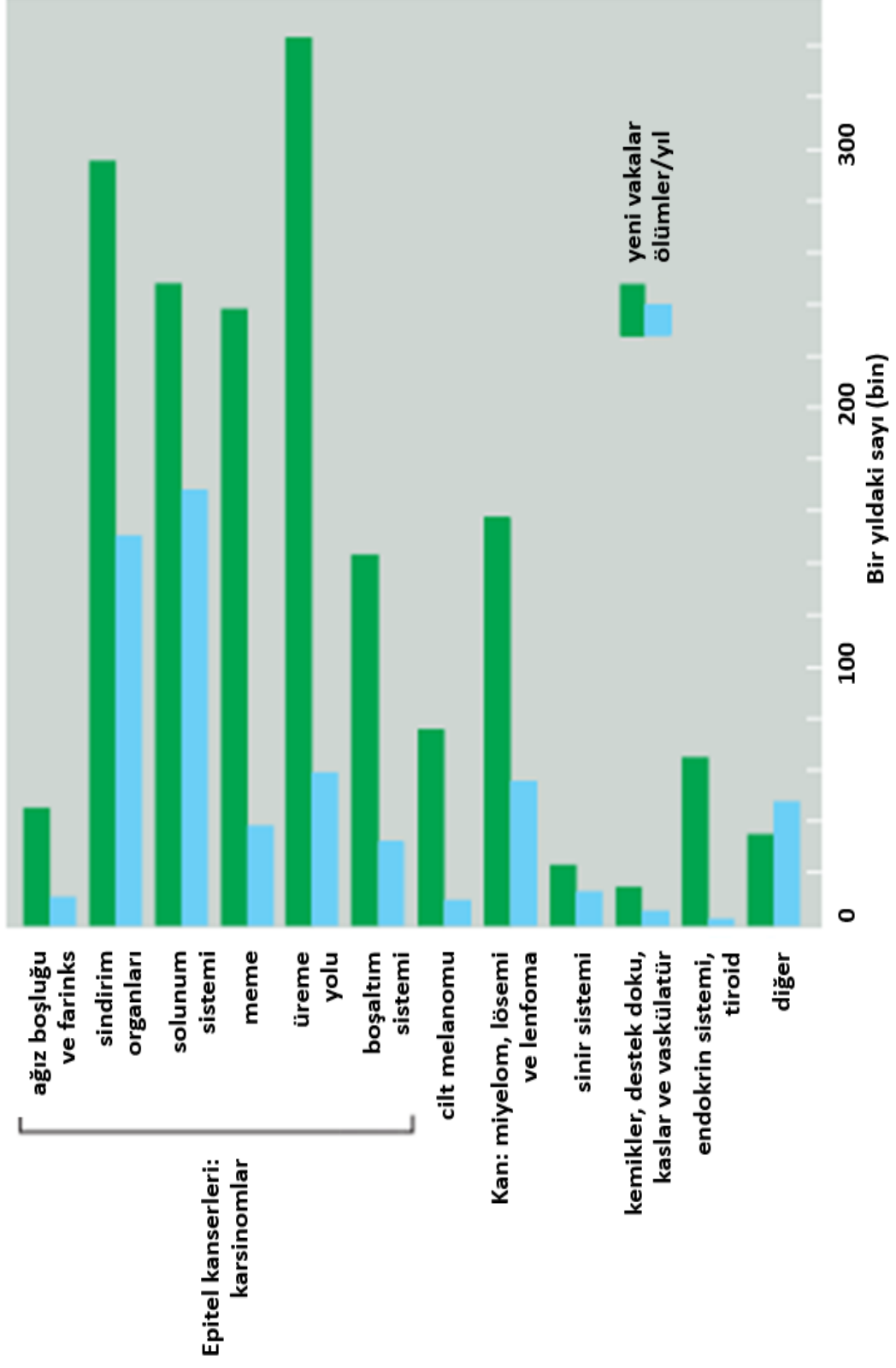
Bu iki geniş kategoriye de uymayan kanserler arasında beyaz kan hücrelerinden ve bunların öncülerinden (hemopoetik hücreler) türeyen çeşitli lösemiler ve lenfomalar ile sinir sistemi hücrelerinden türeyen kanserler yer almaktadır (Alberts vd, 2014). Amerika Birleşik Devletleri'nde yaygın olan kanser türleri, insidans ve ölüm oranlarıyla birlikte Şekil 1.1' de gösterilmektedir. Her genel kategori, spesifik hücre

tipine, vücuttaki konumuna ve tümörün mikroskopik görünümüne göre birçok alt bölüme ayrılmaktadır.

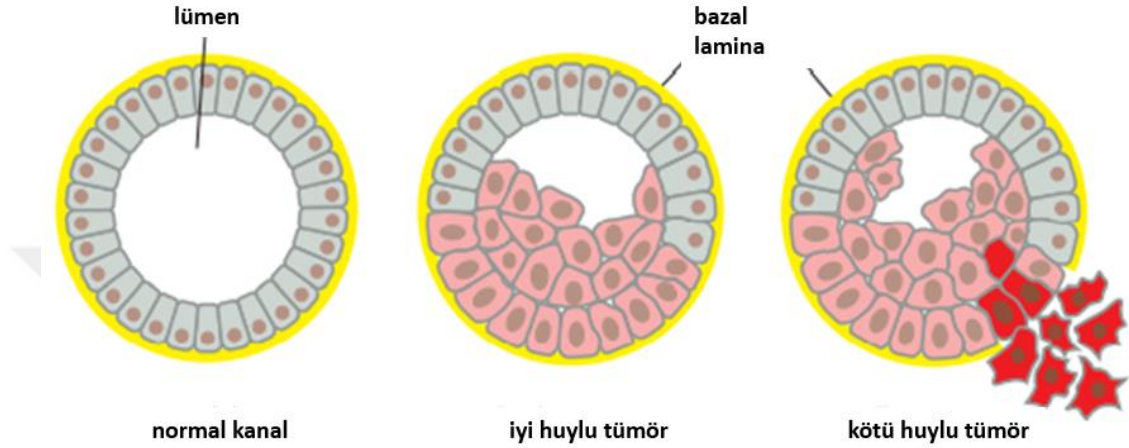




Şekil 1.1 Amerika Birleşik Devletleri'nde kanser insidansı ve molaritesi (Bruce Alberts et al.2014



Kötü huylu tümörlere yönelik isimlendirmeye paralel olarak, iyi huylu tümörler için de bir isimlendirme bulunmaktadır: örneğin bir adenom, glandüler organizasyona sahip iyi huylu bir epitelyal tümör iken; buna karşılık gelen kötü huylu tümör tipi ise bir adenokarsinomdur. Benzer şekilde, bir kondroma ve bir kondrosarkom sırasıyla iyi huylu ve kötü huylu kıkırdak tümörleridir. İyi huylu ve kötü huylu tümörlerin sembolik gösterimi Şekil 1.2’ de verilmektedir (Alberts vd, 2014).



Şekil1.2 İyi huylu (benign) ya da kötü huylu (malignan) tümörler (Alberts vd, 2014)

1.2.3. Kanser Hücrelerinin Özellikleri

Kanser oluşturmak için bir hücrenin evrimleşirken bir dizi anormal özellik kazanması gerekmektedir (Alberts vd, 2014). Kanser hücrelerinin en belirgin fenotipi, hücresel büyümenin artması, anti-proliferatif sinyallere karşı duyarsızlık ve pro-apoptotik sinyallere verdikleri yanıtın güçlü bir şekilde azalması nedeniyle kontrolsüz çoğalmalarıdır (Alberghina vd, 2012).

1.2.4. Kanser Genetiği

Kanser genetiği oldukça geniş ve verimli bir araştırma alanıdır. Son birkaç on yılda çok sayıda kanser geni tanımlanmış ve karakterize edilmiştir (Green vd, 2001). Kanser, somatik hücrelerde kalıtsal değişikliklerin birikmesine bağlıdır (Alberts vd, 2014). İnsan kanserlerinde tekrarlayan bir şekilde değişen genler son 40 yılda tanımlanmıştır. Bu genler, daha iyi ifade edilebilmesi açısından, kanserin nedenine veya evrimine katkıda bulunan tüm genler kastedilerek “kansere açısından kritik genler” olarak adlandırılmaktadır (Alberts vd, 2014). Kanser açısından kritik genler, onkogenler,

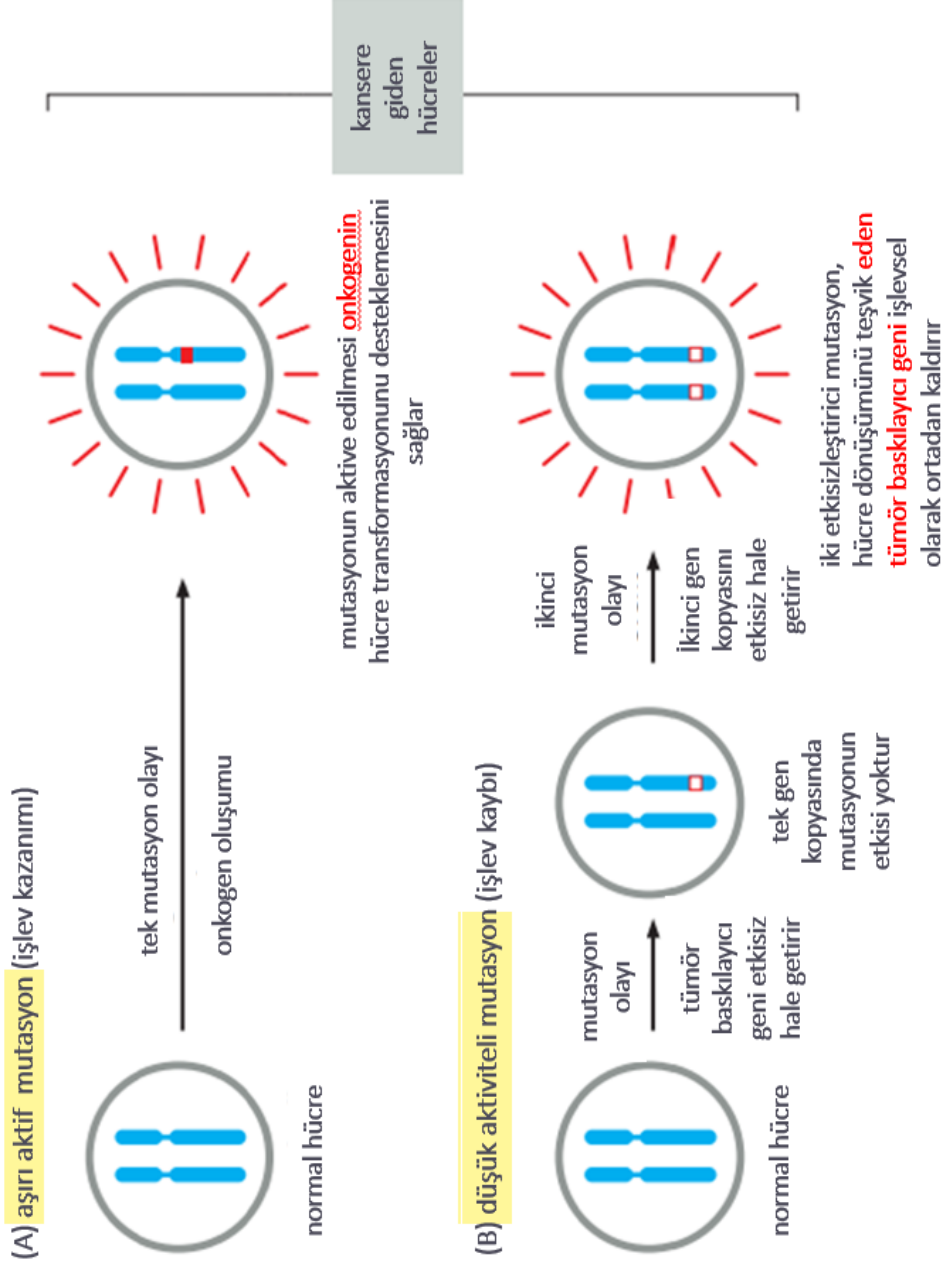
tümör baskılayıcı genler ve tamir onarım genleri olmak üzere üç geniş sınıfta gruplandırılmaktadır (Şekil 1.3).

1.2.4.1. Proto-onkogenler

Normal hücrede, biyolojik süreçlerin temel düzenleyici faktörleri olan proto-onkogenler vardır. Proto-onkogenler büyüme faktörleri, hücresel sinyallerin dönüştürücüleri ve nükleer transkripsiyon faktörleri olarak işlev görebilir (Kontomanolis vd, 2020). Bu genlerde, davranışlarının kontrolünü veya kodlanan proteinlerinin yapılandırılma şeklini etkileyen değişiklikler, kanser hücrelerinde etkin onkogenler olarak ortaya çıkabilir. Bu tür onkogenler oluştuğunda, hücre çoğalmasını yönlendirmeye devam eder ve kanser patogenezinde önemli bir rol üstlenirler. Proto-onkogenlerin aktivasyonuna yol açan fiziksel mutasyonlar iki tipe ayrılabilir:

- kodlanan proteinin yapısında farklılıklara yol açanlar
- protein ifadesinin düzensizleşmesine neden olanlar (Chaudhry, 2019; Tabel El, 2011)

Bir proto-onkogenin tek bir kopyasının mutasyona uğrayarak onkogene dönüşmesi, bir hücre üzerinde baskın, büyümeyi teşvik edici bir etkiye sahiptir (Alberts vd, 2014).



Şekil 1. 3 Kanser açısından kritik mutasyonlar (Alberts vd, 2014)

1.2.4.2 Tümör Baskılayıcı Genler

Normal hücrede, onkogenlere ek olarak, hücrenin normal büyümesinde ve farklılaşmasında önemli rol oynayan ve kanser gelişimini engelleyen tümör baskılayıcı genler vardır. Bir kanser hücresinin çoğalabilmesi veya daha fazla hayatta kalabilmesi için bir tümör baskılayıcı genin her iki kopyasının da inaktif durumda olması gerekir. (Kontomanolis vd, 2020). Çeşitli tümör baskılayıcı genlerin insan genomuna yayılmış olması ve çeşitli insan neoplazi türlerinin ilerlemesinde rol oynaması beklenmektedir (Chen ve Podlevsky, 2016).

Değişimle birlikte kansere neden olan aleller genellikle çekiniktir: her zaman olmasa da sıklıkla bir etki görülmeden önce diploid somatik hücrede normal genin her iki kopyasının da çıkarılması veya inaktive edilmesi gerekir (Şekil 1.3) (Alberts vd, 2014).

Her iki durumda da mutasyon doğrudan (hücrelerin çoğalmaması gerekirken çoğalmasına neden olarak) veya dolaylı olarak - örneğin genetik veya epigenetik kararsızlığa neden olarak ve böylece tümör büyümesini doğrudan uyaran diğer kalıtsal değişikliklerin ortaya çıkmasını hızlandırarak - kansere yol açabilir.

1.2.4.3. DNA Tamir Genleri

Genomun bütünlüğünü korumak her hücre için çok önemli bir görevdir (Raff, 2003). Bıçok insan kanser hücresinin anormal derecede hızlı bir şekilde genetik değişiklikler biriktirmekte ve genetik olarak kararsız oldukları bilinmektedir (Alberts vd, 2014). Kanser hücrelerinde gözlemlenen genetik kararsızlık, DNA hasarını onarma veya çeşitli türlerdeki replikasyon hatalarını düzeltme yeteneğindeki kusurlardan kaynaklanabilmektedir.

Bu değişiklikler DNA diziliminde değişikliklere yol açar ve DNA translokasyonları ve duplikasyonları gibi yeniden düzenlemelere neden olur (Alberts vd, 2014). Değişimi genomik kararsızlıkla sonuçlanan bu genler, bazen DNA tamir genleri olarak adlandırılan kanser açısından kritik genlerin bir alt sınıfını temsil etmektedir (Alberts vd, 2014).

1.3. DNA Hasarı

Bir organizmanın hayatta kalması için ihtiyaç duyduğu genetik kararlılığın korunması, yalnızca DNA'nın kopyalanması için son derece hassas bir mekanizma değil, aynı zamanda DNA'nın sürekli olarak maruz kaldığı birçok tesadüfi lezyonu onarmak için mekanizmalar gerektirir (Alberts vd, 2014).

Tümör oluşumunu tetikleyen genetik kararsızlık, DNA hasarı ve DNA onarım mekanizması tarafından yapılan hatalarla beslenmektedir. Bu durum, DNA koruma sistemlerinin tümörün önlenmesindeki kilit rolünü vurgulamaktadır (Hoeijmakers, 2001)

DNA hasarlarının üç ana nedeni vardır:

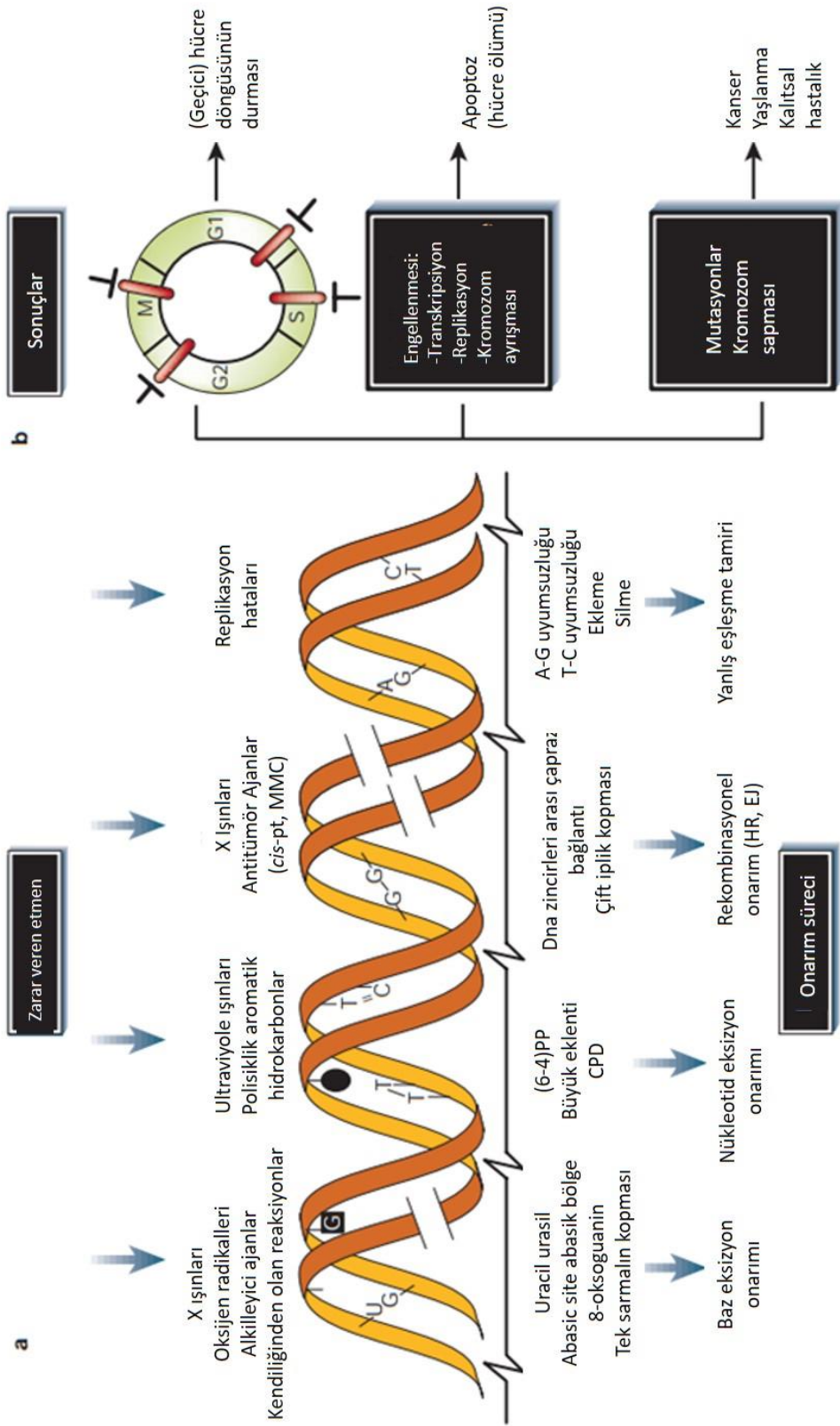
Birincisi, güneş ışığının ultraviyole (UV) bileşeni, iyonlaştırıcı radyasyon ve çok sayıda genotoksik kimyasal gibi çevresel ajanlar DNA yapısında değişikliklere neden olur ve bunlar onarılmazsa kanser riskini artıran mutasyonlara yol açabilir.

İkincisi, normal hücrel metabolizmanın yan ürünleri DNA bütünlüğüne içeriden kalıcı bir düşman oluşturur. Bunlar arasında oksidatif solunumdan kaynaklanan reaktif oksijen türleri (süperoksit anyonları, hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksit) ve lipid peroksidasyon ürünleri yer almaktadır (Hoeijmakers, 2001).

Üçüncüsü ise, DNA'daki bazı kimyasal bağlar fizyolojik koşullar altında kendiliğinden parçalanma eğilimindedir. Nükleotid kalıntılarının hidrolizi, yapıcı olmayan abazik bölgeler bırakır. Sitozin, adenin, guanin veya 5-metilsitozinin spontan veya indüklenmiş deaminasyonu, bu bazları sırasıyla yanlış kodlama yapan urasil, hipoksantin, ksantin ve timine dönüştürür (Lindahl, 1993).

1.3.1. DNA Hasarı Tamir Mekanizması

DNA hasarı çeşitli sonuçlar doğurmaktadır ve bu sonuçlar genellikle olumsuz olmaktadır. DNA hasarı ve sonuçları ile ilgili bazı bilgiler Şekil 1.4' de verilmiştir.



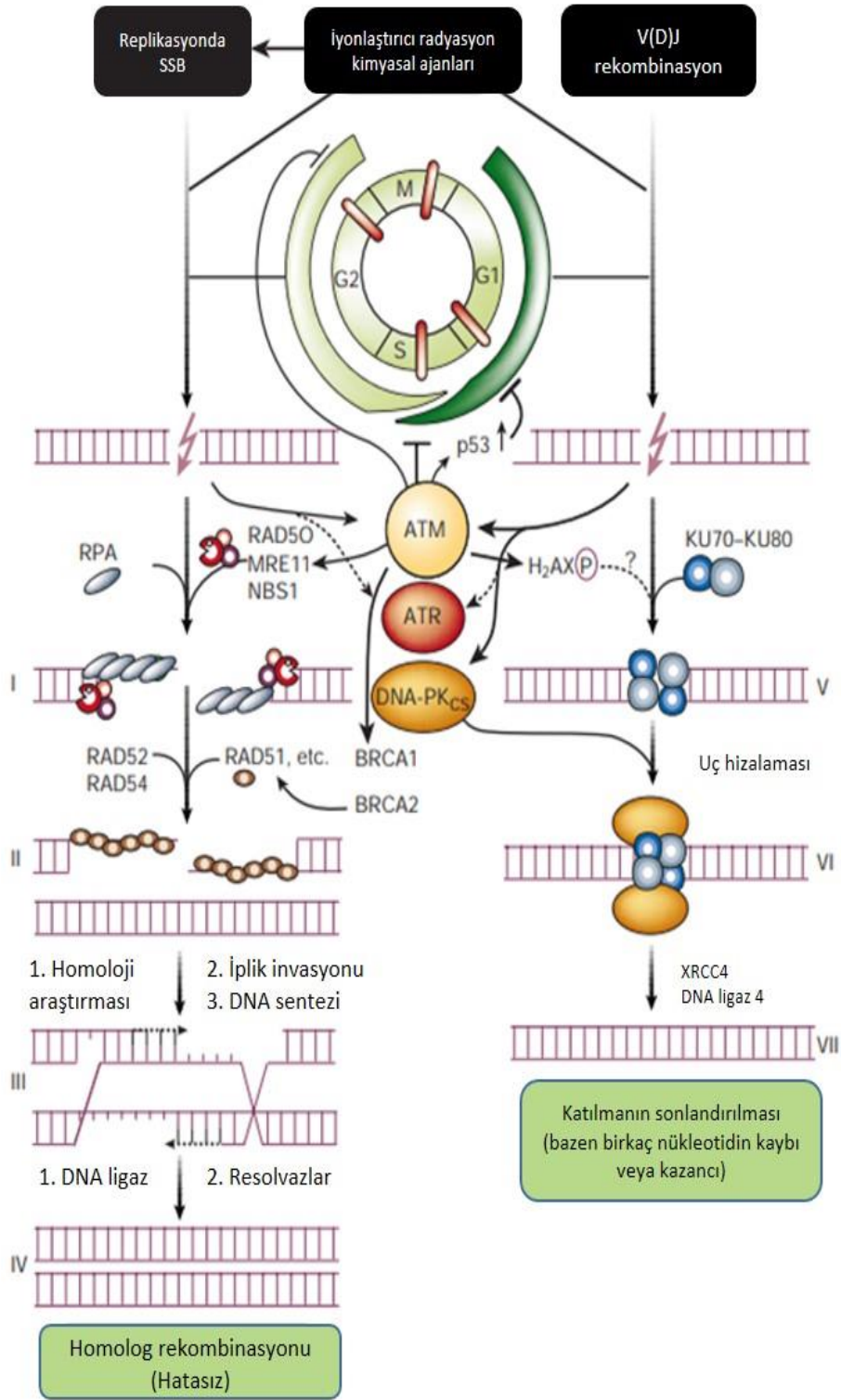
Şekil 1.4 DNA hasarının nedenleri, sonuçları ve ilgili onarım sistemleri (Hoeijmakers, 2001).

Memelilerde kısmen örtüşen en az dört hasar onarım yolu faaliyet göstermektedir. Bunlar; nükleotid eksisyon onarımı (NER), baz eksisyon onarımı (BER), homolog rekombinasyon ve uç birleştirme şeklindedir (Goodman vd, 2000; Kunkel ve Bebenek, 2000).

Tek iplik kırıklarının (SSB) replikasyonu sırasında ve muhtemelen iplikçikler arası çapraz bağların onarımı sırasında ya da X-ışınları, kimyasallar gibi dış faktörlerin etkisiyle oluşan DNA çift iplik kırıkları (DSB) rekombinasyon mekanizması için oldukça önemlidir (Goodman vd, 2000; Kunkel ve Bebenek, 2000).

1.3.2. Homolog Rekombinasyon

Homolog rekombinasyonun (genel rekombinasyon olarak da bilinir) temel özelliği, bir çift homolog dubleks DNA dizisi arasında, yani nükleotid dizisinde çok benzer veya aynı olan çift sarmal segmentleri arasında DNA ipliklerinin değişimidir. DSB'ler iyonize radyasyon veya X-ışınları, serbest radikaller, kimyasallar ve bir SSB'nin replikasyonu sırasında ortaya çıkmaktadır. DSB tespit edildikten sonra, hücre döngüsü mekanizmasını durdurmayı ve onarım faktörlerini devreye sokmayı amaçlayan karmaşık bir dizi reaksiyon tetiklenir (Zhou ve Elledge, 2000; Khanna ve Jackson, 2001). Homolog rekombinasyon ve uç birleştirme ana onarım modelleridir. Replikasyondan sonra, ikinci bir özdeş DNA kopyası mevcut olduğunda, homolog rekombinasyona yönelim görülmektedir; aksi takdirde hücreler daha fazla hata eğilimli olan uç birleştirmeye yönlenebilmektedir (Şekil 1.5).



Şekil 1.5 Homolog rekombinasyon ve uç birleştirme mekanizmaları (Hoeijmakers, 2001).

Homolog dizilere iplik invazyonunu teşvik etmek için, RAD50/MRE11/NBS1 kompleksinin 58-38 ekzonükleaz aktivitesi (aynı zamanda ATM fosforilasyonu için bir substrat) her iki 38 ucu açığa çıkarır. RPA, RAD51 ile ilişkili proteinler XRCC2,

XRCC3, RAD51B, C ve D' yi içeren bir RAD51 nükleoprotein filamentinin toplanmasını kolaylaştırır (Van Gent vd, 2001; Haber, 2000).

1.4. Kanser İlişkili Genlerin Mutasyonları ve Tespit Yöntemleri

Hem genetik hem de epigenetik mekanizmalar onkogenlerin, tümör baskılayıcı genlerin ve genomik onarım genlerinin işlev kazanmasına veya işlev kaybına yol açabilir. Genetik düzeyde nokta mutasyonları, delesyon-duplikasyonlar, kromozomal yeniden düzenlemeler, gen amplifikasyonları, mitotik rekombinasyon vb. buna örnek gösterilebilir.

Epigenetik değişiklikler, bir tümör baskılayıcı geni kalıcı olarak inaktive etmek veya bir proto-onkogeni aktive etmek için başka bir önemli yol sağlamaktadır. En yaygın olarak, gen heterokromatin içine paketlenir ve/veya promotöründeki CG dizilerindeki C nükleotidleri kalıtsal bir şekilde metillenebilir. Bu mekanizmalar geni bir hücrede ve onun tüm döllerinde geri döndürülemez bir şekilde susturabilir.

Kanser genomlarındaki metilasyon modellerinin analizi, epigenetik gen susturmanın tümör ilerlemesinde sık görülen bir olay olduğunu göstermektedir ve epigenetik mekanizmaların artık çoğu insan kanserinde birkaç farklı tümör baskılayıcı genin inaktive edilmesine yardımcı olduğu düşünülmektedir (Alberts vd, 2014).

İnsan genomunun dizilenmesi ve DNA dizileme teknolojisindeki dramatik ilerlemeler sayesinde resmin tamamını görmek, yani kanser hücresi genomlarını bütünüyle görmek mümkün hale gelmiştir. Bu da hastalıkların anlaşılmasını kolaylaştırmaktadır. Kanser hücresi genomları sistematik olarak birkaç farklı şekilde taranabilir. Bir taraftan oldukça maliyetli, ancak engelleyici olmayan bir şekilde bir tümörün tüm genom dizisi belirlenebilir (Tüm Genom Dizilimi). Diğer taraftan daha ucuza, sadece insan genomunda protein kodlayan 21.000 kadar gene odaklanılabilir (Tüm Ekzom Sekanslama) (Bruce Alberts, et al.,2014).

Ayrıca, tam dizi bilgisine ihtiyaç duymadan, örneğin Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon tekniği (CGH Array) yoluyla, delesyon ya da duplikasyon geçirmiş bölgelerde genomu araştırmak için etkili teknikler yer aldığı gibi genom epigenetik değişiklikler için de taranabilir. Son olarak, gen ifadesi seviyelerindeki değişiklikler, özellikle Gerçek Zamanlı Teknik ile mRNA'ların analizi ile sistematik olarak belirlenebilir.

1.5. Meme

Meme, emzirme için süt üretimini sağlayan özel işlevini yansıtan bir organdır (Cimino vd, 2023).

1.5.1. Dişi Meme Anatomisi

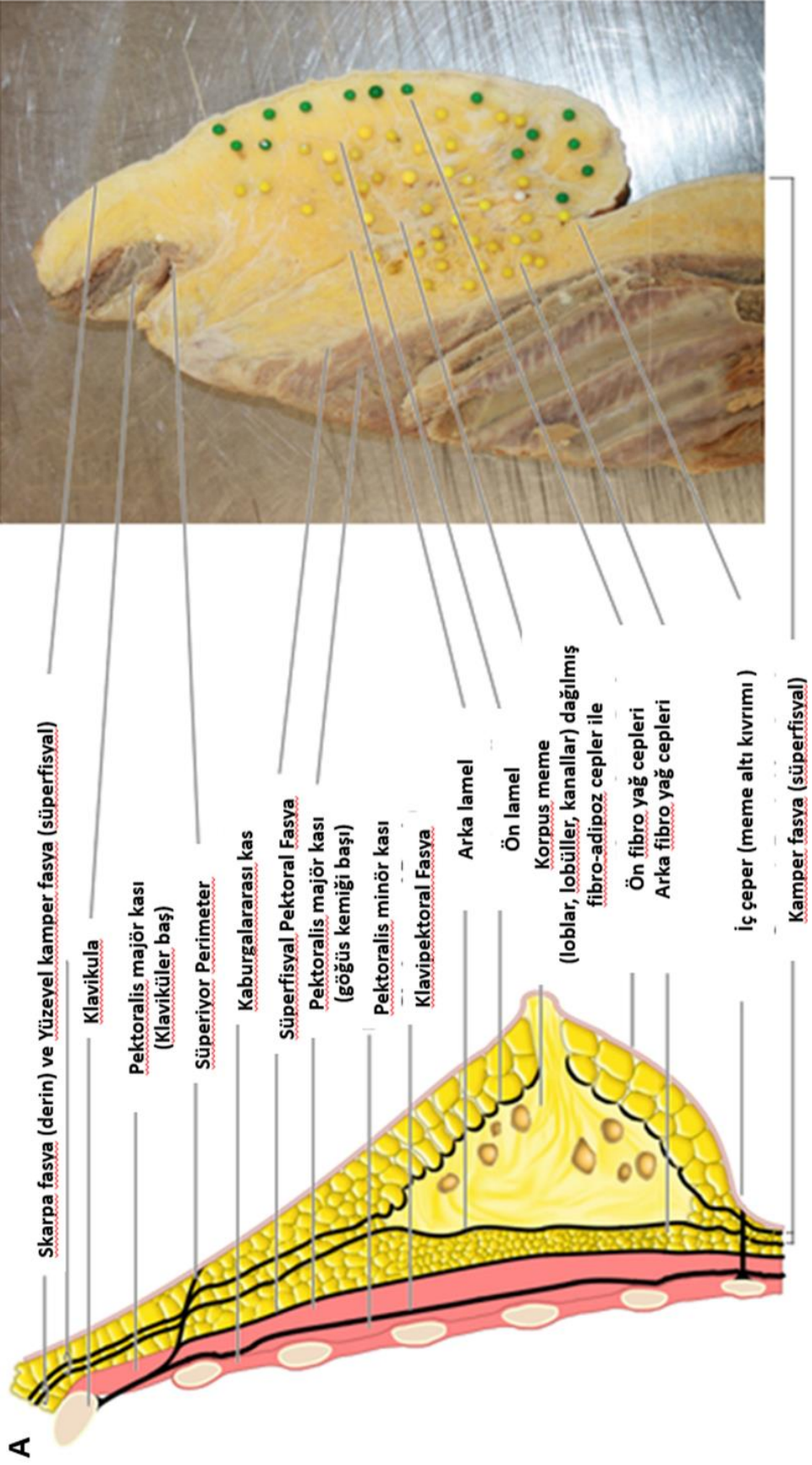
Erkek ve kadınların meme anatomisi birbirinden farklıdır. Kadın göğüslerinde emzirmeye yardımcı olan süt kanalları ve glandüler doku bulunmaktadır. Göğüsler kadın ve erkek cinsel anatomisinin bir parçasıdır. Kadınlar için göğüsler hem işlevseldir (emzirme için) hem de cinseldir (zevk verir). Erkek memelerinin bir işlevi bulunmamaktadır. Meme anatomisinin görünür kısımları meme uçları ve areolaları içermektedir (Cleveland Clinic, 2023).

Ergenlik döneminde, erkeklik hormonu testosteron genellikle göğüslerin bir kadınıninki gibi gelişmesini engeller. Dışarıdan bakıldığında erkeklerin meme uçları ve areolaları vardır. İçlerinde gelişmemiş süt kanalları vardır ve glandüler doku yoktur (Cleveland Clinic, 2023)

Kadın memeleri, göğsün ön tarafında, sternum ile midaksiller çizgi arasında ve ön-yan göğüs duvarının yüzeysel kaslarının üzerinde bulunan özelleşmiş ekzokrin bezlerdir (McGhee ve Steele, 2020).

Aslında, memenin fibro-adipoz yapısı, fasiyal katmanları ve ekleri ancak son zamanlarda ayrıntılı olarak tanımlanmış ve nicel veriler ve fotografik diseksiyon kanıtlarıyla desteklenmiştir (Gaskin vd, 2020; Rehnke vd, 2018).

Kadın memesinin, dış deri ve iç meme yapıları (fibro-adipoz ve fibro glandüler doku) dahil karmaşık bir dizi anatomik bağlantı ile göğüs duvarına tutturulan ana yapısal bileşenleri Şekil 1.6'da gösterilmektedir.

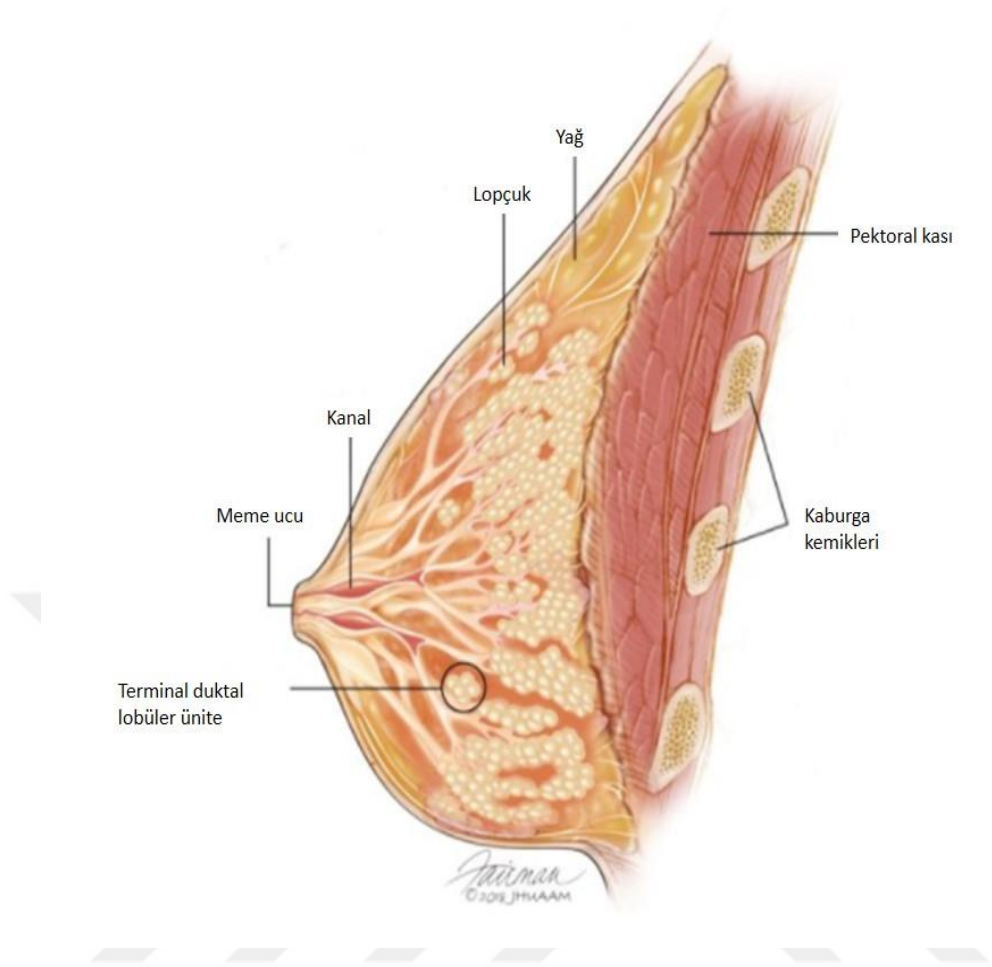


Şekil 1.6 Memenin sagittal kesiti A: meme başı hizasında memenin sagittal kesitinin gösterimi. B: Mumyalanmış bir kadavra memesinin meme başı hizasında sagittal kesiti. Fibro-adipoz doku cepleri terzi iğneleri ile

Meme derisi; meme başı, areola ve genel deri örtüsünü içeren memenin tüm dış yüzeyini kapsamaktadır (McGhee ve Steele, 2020).

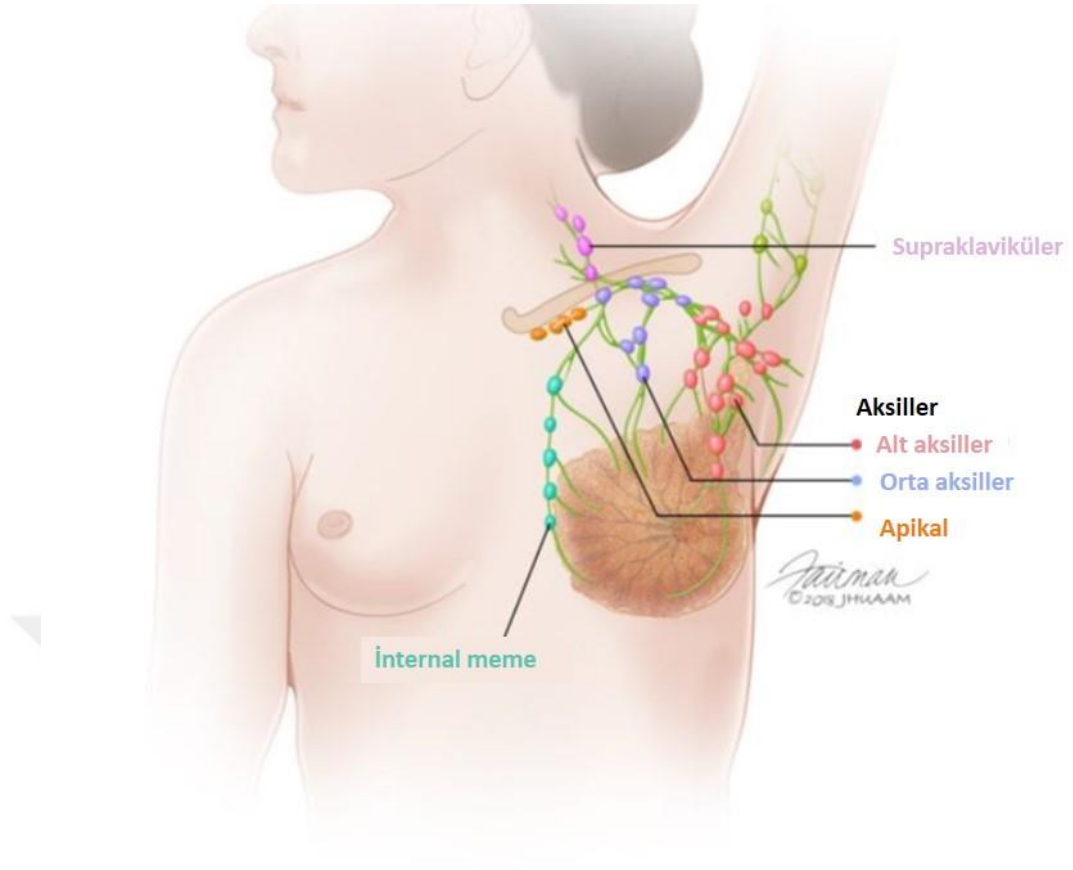
Meme derisinin derininde bir deri altı yağ tabakası (~0,5-2,5 cm kalınlığında) bulunur (Gefen vd, 2007). Subkutan yağın altında, tüm memeyi kaplayan ve tüm çevresi boyunca fibröz meme çevresine sıkıca tutunan ince bir fasiyal tabaka olan "yüzeysel fasya" bulunur (Gaskin vd., 2020; Rehnke vd, 2018). Bu yüzeysel fasya, "*korpus mammae*" olarak bilinen fibro glandüler dokuyu tamamen saran karmaşık bir üç boyutlu fibroz yağ dokusu çıkıntısının dış yüzeyidir. *Korpus mammae*, meme merkezinin etrafında yoğunlaşan, meme başı etrafında radyal bir şekilde düzenlenmiş glandüler doku loblarından oluşur (Hassiotou vd, 2013; Huang vd, 2011). Bu loblar hem lobülleri (lobların uçlarındaki süt üreten bezler) hem de kanalları (süt geçitleri) içerir. Kanallar meme çevresine doğru uzanır ve meme başı-areolar bölge etrafında genişleyerek bir kese oluşturur (Gefen vd, 2007; Hassiotou vd, 2013). Olgun haliyle, *korpus mammae* lobülleri ~0,12 mm çapında 10-100 alveol içerir. Alveoller, meme ucuna açılan bir laktifer sinüs (2- 4,5 mm) oluşturmak üzere genişleyen bir ana kanalda birleşen ve doruğa ulaşan çok sayıda küçük kanal tarafından drene edilir (Hassiotou vd, 2013). İç meme yapısının temel özellikleri Şekil 1.6' da gösterilmiştir (McGhee ve Steele, 2020).

Meme kanserlerinin çoğu lobülleri ve terminal kanalları oluşturan hücrelerden kaynaklanır. Bu lobüller ve kanallar, memenin çoğunluğunu oluşturan arka plandaki fibröz doku ve yağ dokusu boyunca yayılmıştır (Şekil 1.7).



Şekil 1.7 Meme Anatomisi (Cimino vd, 2023)

Anatomik olarak, yetişkin memesi göğüs kafesinin üzerinde bulunan pektoralis kasının ("göğüs kası") üzerine oturur. Meme dokusu, sternumun (göğsün ortasındaki sert yassı kemik) kenarından orta aksiller çizgiye (koltuk altının merkezi) kadar yatay olarak uzanır. Meme kanseri gerçek memenin içinde yer almıyor gibi görünse de bu aksiller kuyrukta gelişebileceği için bu oldukça önemlidir. Memeden gelen kan öncelikle iç meme arterinden gelir (Cimino vd, 2023). Memenin lenfatik damarları kan akışının tersi yönde akar ve lenf düğümlerine boşalır. Meme kanserleri bu lenf damarları aracılığıyla lenf düğümlerine metastaz yapar veya yayılır (Şekil 1.8). Lenfatik damarların çoğu aksiller (koltuk altı) lenf düğümlerine akarken, daha az sayıda lenfatik damar memenin derinliklerinde bulunan iç meme lenf düğümlerine akar (Cimino vd, 2023).



Şekil 1.8 Meme Lenf Nodları ve Lenfatik Drenaj (Cimino vd, 2023).

1.5.2. Meme Fizyolojisi

Kadınlarda meme gelişimi ergenlik döneminde başlar ve döngüsel hormonal değişiklikler, yağ dokusunun ve nihayetinde emzirme için gerekli olacak duktal sistemin gelişimini ve çoğalmasını teşvik eder. Duktal sistem hamileliğe kadar büyük ölçüde uykudadır; hamilelik hormonları memelerde önemli değişiklikleri tetikler:

- Östrojen hormonuna bağlı olarak süt kanallarının gelişmesi ve sonuçta sütün depolanması ya da salınması
- Progesteron alveolar-lobüler oluşumu uyarır ve süt üretiminden sorumludur
- Alveolar-lobüler oluşum nedeniyle boyut artışı
- Areolanın koyulaşması
- Damarların daha belirgin hale gelmesi (Macdonald, 2017)

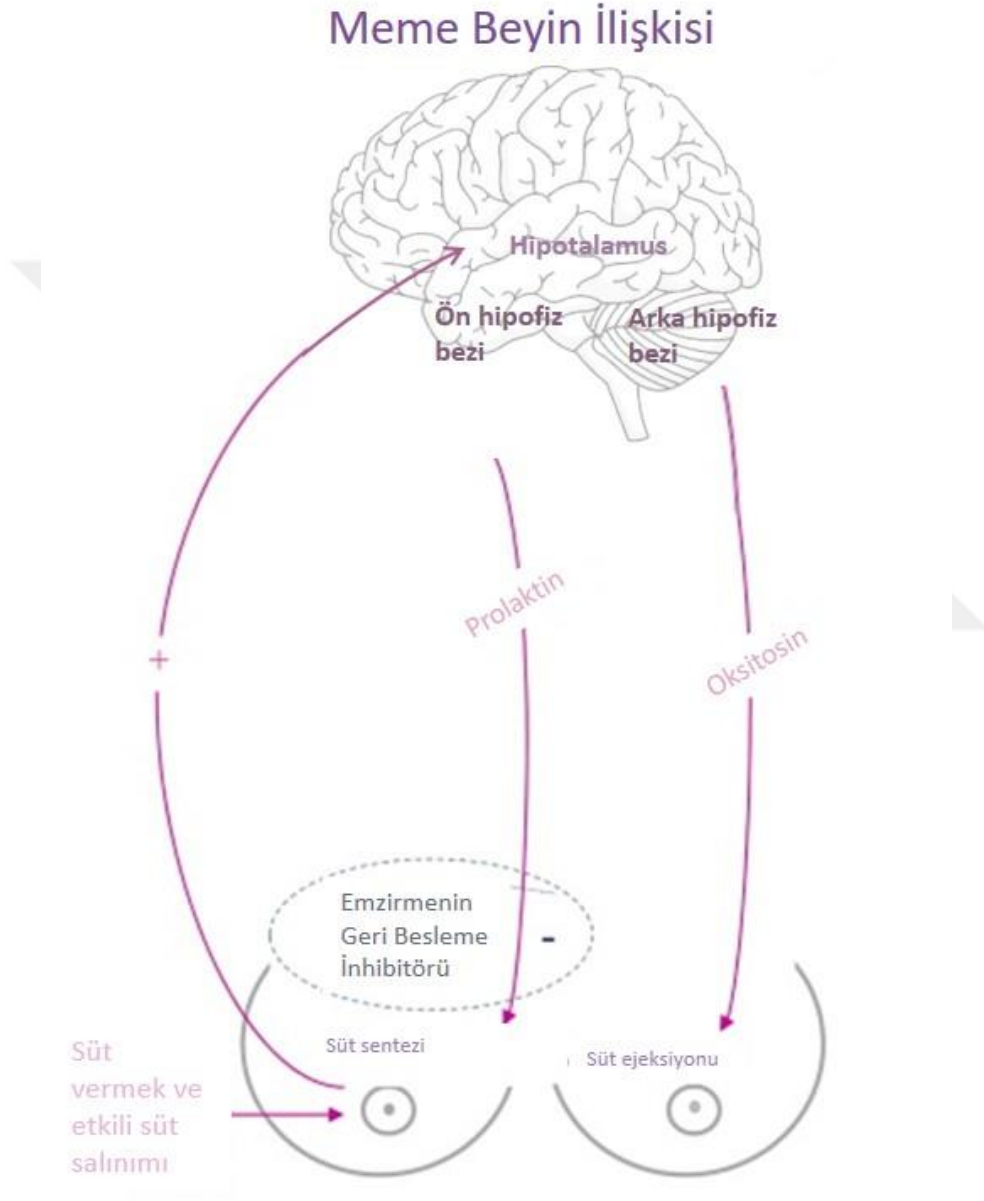
Gebeliğin ikinci yarısında prolaktin kolostrum üretimini tetikler (Laktogenez I) ancak östrojen ve progesteron seviyeleri önemli ölçüde laktasyonu önleyecek kadar yüksektir. Plasentanın doğumu bu hormonlarda ani bir düşüşü tetikler, bu da çok yüksek prolaktin seviyelerini bol miktarda laktasyonun (Laktogenez II) başlamasını tetiklemek için serbest bırakır. Bu aşamadan itibaren oksitosin ve prolaktin, süt üretiminin ve salınımının sürdürülmesinden sorumlu hormonlardır.

- Emen bir bebek veya göğüs pompası tarafından meme ucunun uyarılması oksitosinde bir artışa neden olarak süt salınma refleksine ve böylece sütün alveollerden süt kanallarına hareket etmesine neden olur.

- Bunun sonucunda alveollerin boşalması, prolaktinin laktositlerin (alveollerin süt üreten hücreleri) duvarlarındaki prolaktin reseptör bölgelerini aktive ederek daha fazla süt üretimini tetiklemesini sağlar. Bu mekanizma süt sentezinin bebeğin gereksinimlerini karşılamasını sağlar; meme başı ne kadar sık uyarılır ve bırakılırsa o kadar çok süt üretilir.

- Erken süt üretimi, prolaktin reseptör bölgelerinin uyarılmasıyla laktositlerin hazırlanmasına dayanır ve devam eden süt arzı, memenin boşalma derecesi ve Laktasyon Geri Besleme İnhibitörü (Laktogenez III) seviyeleri ile kontrol edilir.

- Peynir altı suyu proteini Laktasyon Geri Besleme İnhibitörü (FIL), süt çıkarılmazsa ve alveoller şişerse her memede konsantrasyon olarak artar. FIL, otokrin kontrol yoluyla süt sentezini inhibe eder ve prolaktinin etkisini antagonize ederek tersine çevirir (Macdonald, 2017) (Şekil 1.9).



Şekil 1.9 Meme Fizyolojisi (Macdonald, 2017)

1.6. Meme Kanseri

Meme kanseri kadınlarda en sık teşhis edilen kanserdir ve her yıl 10 yeni kanser teşhisinin 1'inden fazlasını oluşturmaktadır. Dünyada kadınlar arasında kanserden ölümlerin en yaygın ikinci nedenidir. Meme kanseri her zaman sessizce gelişir. Hastaların çoğu rutin taramaları sırasında hastalıklarını keşfederler. Diğerleri ise tesadüfen keşfedilen bir meme yumrusu, meme şekli veya boyutunda değişiklik veya meme başı akıntısı ile başvurabilir. Bununla birlikte, mastalji nadir değildir. Meme kanserini teşhis etmek için fizik muayene, görüntüleme, özellikle mamografi ve doku biyopsisi yapılmalıdır. Erken tanı ile hayatta kalma oranı artar. Tümör lenfatik ve hematolojik olarak yayılma eğilimindedir, bu da uzak metastaza ve kötü prognoza yol açar. Bu durum, meme kanseri tarama programlarının önemini açıklamakta ve vurgulamaktadır (Mahvi vd, 2018; Narod, 2018; Cain vd, 2019).

1.6.1 Meme Kanseri Etiyolojisi ve Risk Faktörleri

Meme kanseri gelişimi insidansının artmasıyla ilişkili faktörlerin belirlenmesi, kadınlara yönelik genel sağlık taramasında önemlidir (Doren vd, 2018). Meme kanseri için risk faktörleri 7 ana kategoriye ayrılabilir:

1. Yaş: kadın popülasyonunun ilerleyen yaşıyla birlikte yaşa bağlı meme kanseri insidansı artmaya devam etmektedir.
2. Cinsiyet: Meme kanserlerinin çoğu kadınlarda görülmektedir.
3. Kişisel meme kanseri öyküsü: Bir memede kanser öyküsü, karşı memede ikinci bir primer kanser olasılığını artırmaktadır.
4. Histolojik risk faktörleri: Meme biyopsisi ile teşhis edilen histolojik anormallikler, meme kanseri risk faktörlerinin önemli bir kategorisini oluşturur. Bu anormallikler lobüler karsinoma in situ (LCIS) ve tipik olmayan proliferatif değişiklikleri içerir.
5. Ailede meme kanseri öyküsü ve genetik risk faktörleri: Meme kanseri olan hastaların birinci derece akrabalarında hastalığa yakalanma riski 2 ila 3 kat fazladır. Tüm meme kanseri vakalarının %5 ila %10'u genetik faktörlere bağlıdır, ancak 30 yaşından genç kadınlarda vakaların %25'inden sorumlu olabilirler. BRCA1 ve BRCA2, meme kanserine yatkınlığın artmasından sorumlu en önemli iki gendir.
6. Üreme ile ilgili risk faktörleri: Bir kadının yaşam boyu östrojen maruziyetini artıran üreme dönüm noktalarının meme kanseri riskini artırdığı düşünülmektedir.

Bunlar arasında 12 yaşından önce menarşın başlaması, 30 yaşından sonra ilk canlı doğum, nulliparite ve 55 yaşından sonra menopoz sayılabilir.

7. Ekzojen hormon kullanımı: Terapötik veya tamamlayıcı östrojen ve progesteron çeşitli durumlar için alınmaktadır; en yaygın iki senaryo menopoz öncesi kadınlarda doğum kontrolü ve menopoz sonrası kadınlarda hormon replasman tedavisidir (Alkabban vd, 2018).

1.6.2. Meme Kanseri Epidemiyolojisi

Meme kanseri kadınlarda en sık görülen kanser olup, kadın kanserlerinin %30'unu oluşturur. Meme kanseri, mortalite/insidans oranı %15 olan, moleküler düzeyde heterojen bir sendromdur. Meme kanseri görülen kadınların yaklaşık %10'unda ailede hastalık öyküsü vardır (Karim vd, 2023). Meme kanseri, her yıl yaklaşık 2,3 milyon yeni vakanın tanımlanmasıyla dünya çapında kadınlar arasında en sık görülen malignitedir (Arnold vd, 2022). 2000 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde meme kanseri görülme sıklığı azalmaya başlamıştır. Bu azalma, kadınlar tarafından hormon replasman tedavisinin (HRT) daha az kullanılmasından kaynaklanıyor olabilir. HRT ile artan meme kanseri riski arasında bir bağlantı olduğu öne sürülmüştür. Daha büyük düşüşler 50 yaşından genç kadınlarda meydana gelmektedir. 2008 yılında dünya genelinde tahmini 1,38 milyon yeni invaziv meme kanseri vakası görülmüştür. 2008 yılında kadınlarda meme kanseri görülme sıklığı Doğu Afrika'da 100.000'de 19,3 vaka ile Batı Avrupa'da 100.000'de 89,9 vaka arasında değişmektedir. Erken teşhis ve tedavideki önemli ilerlemeler sayesinde, meme kanserinden ölüm oranları Kuzey Amerika ve Avrupa'nın bazı bölgelerinde son 25 yılda azalmaktadır. Ancak birçok Afrika ve Asya ülkesinde (örneğin Uganda, Güney Kore ve Hindistan) meme kanserinden ölüm oranları artmaktadır. Meme kanseri insidans oranı yaşla birlikte artmakta, 20-24 yaş arası kadınlarda 100.000'de 1,5 vakadan 75-79 yaş arası kadınlarda 100.000'de 421,3 vakaya ulaşmaktadır; yeni vakaların %95'i 40 yaş ve üzeri kadınlarda görülmektedir. Meme kanseri teşhisi sırasında kadınların ortalama yaşı 61'dir. Amerikan Kanser Derneği'ne (AKS) göre, çeşitli ırk ve etnik gruplardan kadınlar arasında meme kanseri oranları aşağıdaki gibidir:

- Hispanik olmayan beyaz: 128.1/100.000
- Afrikalı Amerikan: 124.3/100.000
- Hispanik/Latin: 91.0/100.000
- Amerikan Kızılderili/Alaska Yerlisi: 91.9/100.000

- Asyalı Amerikalı/Pasifik Adalı: 88.3/100.000. (Parada vd, 2019; White AJ vd, 2018; Gucalp vd, 2019).

1.6.3 Meme Kanseri Patofizyolojisi

Meme kanseri, östrojene maruz kalmanın etkileyebileceği DNA hasarı ve genetik mutasyonlar nedeniyle gelişir. Bazen DNA kusurlarının veya BRCA1 ve BRCA2 gibi öncü kanser genlerin kalıtımı olabilir. Bu nedenle ailede yumurtalık veya meme kanseri öyküsü meme kanseri gelişme riskini artırır. Normal bir bireyde bağışıklık sistemi, anormal DNA'ya veya anormal büyümeye sahip hücrelere saldırır. Bu sistem, meme kanseri hastalığı olanlarda tümör büyümesine ve yayılmasına yol açacak şekilde başarısız olmaktadır (Alkabban vd, 2018).

1.6.4 Meme Kanseri Histopatolojisi

Meme kanseri, bazal membranla olan ilişkisine göre invaziv ya da non-invaziv olabilmektedir. Memenin invaziv olmayan neoplazmaları genel olarak iki ana türe ayrılır: Lobüler karsinoma in situ ve duktal karsinoma in situ .

LCIS meme kanseri gelişimi için bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir. LCIS, genişlemiş ve dolu asini ile normal lobülün ana hatlarına uygunluğu ile tanınır. DCIS, LCIS'ten morfolojik olarak daha heterojendir ve patologlar dört geniş DCIS tipini tanıır: papiller, kribriform, katı ve komedo.

DCIS, genellikle normal miyoepitelyal hücrelerden oluşan tanınabilir bir bazal hücre katmanına sahip, malign hücrelerle dolu ayrı alanlar olarak tanınır. DCIS'in papiller ve kribriform tipleri genellikle düşük dereceli lezyonlardır ve invaziv kansere dönüşmeleri daha uzun sürebilir.

DCIS'in katı ve komedo tipleri genellikle yüksek dereceli lezyonlardır. DCIS tedavi edilmezse genellikle invaziv kansere dönüşür. İnvaziv meme kanserleri, yapısal olarak tam olmaması, hücrelerin değişken miktarda stroma içine gelişigüzel sızması veya bir glandüler organın biçim ve işlevine bakılmaksızın sürekli ve monoton hücre tabakalarının oluşmasıyla tanınır. Patologlar invaziv meme kanserini genel olarak duktal ve lobüler olmak üzere iki histolojik tipe ayırmaktadır.

İnvaziv duktal kanser, yapışkan bir kitle olarak büyüme eğilimindedir; mamogramlarda ayrı anormallikler olarak görünür ve sıklıkla memede lobüler kanserlerden daha küçük ayrı bir yumru olarak elle hissedilir. İnvaziv lobüler kanser memeye tek tabaka halinde nüfuz etme eğilimindedir; bu da neden klinik olarak gizli

kaldığını ve hastalık yaygınlaşana kadar mamografi veya fizik muayenede sıklıkla tespit edilemediğini açıklamaktadır. İnfiltratif duktal karsinom olarak da bilinen invaziv duktal karsinom, meme kanserinin en sık görülen şeklidir; invaziv meme kanserlerinin %50 ila %70'ini oluşturmaktadır.

İnvaziv lobüler karsinom meme kanserlerinin %10'unu oluşturmaktadır. Karışık duktal ve lobüler kanserler ise giderek daha fazla tanı almakta ve patoloji raporlarında tanımlanmaktadır. İnvaziv duktal karsinomlar farklı özellikler aldığında gösterdikleri özelliklere göre isimlendirilirler. Eğer sıran hücreler tek sıra yumuşak epitelle kaplı küçük bezler oluşturuyorsa bunlara infiltrate tübüler karsinom adı verilir. Sızıntı yapan hücreler bol miktarda müsin salgılayabilir ve bu materyalin içinde yüzüyormuş gibi görünebilir. Bu lezyonlara müsinöz veya kolloid tümörler denir.

Tübüler ve müsinöz tümörler genellikle düşük dereceli (derece I) lezyonlardır; bu tümörler invaziv meme karsinomlarının yaklaşık %2 ila %3'ünü oluşturur. Medüller kanser, yüksek dereceli nükleer özelliklere sahip, çok sayıda mitoz içeren ve yerinde bir bileşenin bulunmadığı tuhaf istilacı hücrelerle karakterize edilir. Malignite, küçük mononükleer lenfositlerin infiltrasyonu ile çevrelenmiş, sınırsız biçime çok yakın hücre tabakaları oluşturur. Tümörün sınırları stromaya sızmak veya nüfuz etmek yerine çevredeki memeye doğru itilir. Saf haliyle medüller kanser, meme kanserlerinin yalnızca yaklaşık %5'ini oluşturur (Clark vd, 2019; Liedtke vd 2018; Kitamura vd, 2019).

1.6.5 Meme Kanserinin Değerlendirilmesi

Meme kanserli hastaların değerlendirilmesi klinik değerlendirme, görüntüleme ve doku biyopsisinden oluşan üçlü bir değerlendirmeyi gerektirir. Meme kanseri tanısında en sık kullanılan yöntem mamografidir. Asemptomatik vakaların çoğu tarama mamografisi sırasında teşhis edilir. Meme kanseri her zaman normal şeklinde bozulma olsun ya da olmasın kalsifikasyonlar, yoğun kitleler şeklinde ortaya çıkar. Ancak meme ultrasonografisinin kullanılacağı genç kadınlarda mamografinin duyarlılığı yoktur. Ultrasonografi memedeki kitlelerin kıvamını ve boyutunu değerlendirmede faydalıdır. Kılavuzlu iğne biyopsisinde rolü büyüktür. Manyetik rezonans görüntüleme, meme de dahil olmak üzere yumuşak dokulardaki anormallikleri tanımlamada iyi bir duyarlılığa sahiptir. Gizli lezyonlar veya multifokal veya iki taraflı malignite şüphesi (özellikle ILC) varsa ve neoadjuvan kemoterapiye

yanıtın değerlendirilmesinde veya yüksek riskli hastada meme koruyucu cerrahi ve tarama planlanırken endikedir. Doku biyopsisi meme kanseri hastasının değerlendirilmesinde önemli bir adımdır. Doku örneği almanın farklı yolları vardır ve bunlar arasında ince iğne aspirasyon sitolojisi, çekirdek biyopsi (Trucut) ve insizyonel veya eksizyonel biyopsi bulunmaktadır (Kitamura vd, 2019; Pediconi vd, 2019; Watanabe vd, 2019).

1.6.6 Meme Kanserinde Tedavi/Yönetim

Tedavinin 2 temel prensibi lokal nüks olasılığını ve metastatik yayılma riskini azaltmaktır. Radyoterapili veya radyoterapisiz cerrahi, kanserin lokal kontrolünü sağlar. Metastatik nüksetme riski olduğunda hormonal tedavi, kemoterapi, hedefe yönelik tedavi veya bunların herhangi bir kombinasyonu şeklinde sistemik tedavi endikedir. Lokal ileri hastalıklarda sistemik tedavi, cerrahide çok az rolü olan veya hiç rolü olmayan palyatif bir tedavi olarak kullanılır (Rocque vd, 2018; Vande Perre vd, 2018; Seroussi vd, 2018).

1.6.7 Meme Kanserin Moleküler Sınıflandırılması

Meme kanseri, çeşitli hücresel bileşimlerin, moleküler değişikliklerin yanı sıra klinik davranışın sayısız alt kategorisini temsil eden heterojen bir hastalıktır. Histolojik derece, tümörün tipi ve boyutu, lenf nodu metastazı, östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR) ve insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2/neu) gibi birçok faktör meme kanserinin prognozunu ve tedaviye yanıtını etkilemektedir (Rehnke vd, 2018).

Histolojik derece ve lenf nodu metastazlarına dayanan meme kanserinin moleküler alt tipleri güçlü prognostik ve öngörücü faktörlerdir. Sonuç olarak meme kanserini ilgili moleküler alt tiplere ayırmak terapötik karar vermenin önemli bir yönüdür. ER, PR ve HER2 gibi klasik immünohistokimya (IHC) belirteçleri, moleküler alt tipte çok önemli bir rol oynamaktadır (Viale vd, 2012; Kumar vd, 2013).

Tümörlerin immünohistokimya bazlı moleküler alt tiplendirilmesi, günümüzde tümörün hormonal tedaviye ve ardından Trastuzumab tedavisine duyarlılığını tahmin etmede temel dayanak olarak kabul edilmektedir [Goldhirsch vd, 2011; Andre vd, 2006].

Hormon (östrojen ve progesteron) reseptör belirteçlerinin varlığı, yaklaşık 30 yıl önce moleküler sınıflandırmanın başlangıcını işaret etmekteydi. HER2/neu bazlı belirleme teknikleri daha önceki gelişmeleri takip etti. Ayrıca yeni bir çalışma, başlangıçta meme kanserini dört ana sınıfa ayırarak insan meme kanserinin moleküler sınıflandırmasını zorunlu kıldı: luminal benzeri, bazal benzeri, normal benzeri ve HER-2 pozitif (Perou vd, 2000). Daha sonra lümen sınıfı, lümen A ve lümen B sınıflarına bölündü, böylece beşinci bir meme kanseri sınıfı eklendi (Carey vd, 2006). St. Gallen Konsensüsü 2011'e göre meme kanserinin moleküler alt tipleri Luminal A (ER+/PR+/HER2-/lowKi-67); Luminal B (ER+/PR+/HER2-/+/yüksek Ki-67); HER2 aşırı ekspresyonu (ER-/PR-/HER2+) ve üçlü negatif meme kanserleri/TNBC'ler (ER-/PR-/HER2-) olarak belirlenmiştir (Goldhirsch vd, 2011).

TNBC olarak da adlandırılan meme kanserinin bazal benzeri alt tipinin, bazal marker (CK5/6) ekspresyonu açısından pozitif olduğu bulunmuştur (Gaskin vd., 2020; Rehnke vd, 2018). Bu nedenle klinik uygulamada moleküler alt tiplendirmeye olanak sağlayan tekniklerin kullanılmasının hastaya özgü prognoz, nüks riski ve patolojik tam yanıt olasılığı hakkında daha doğru bilgi sağlaması önemlidir. En önemli avantajlardan biri, neoadjuvan tedavinin yararlarının risklerden daha ağır bastığı hastaların belirlenmesinin kolaylığı olacaktır; yani, risk sınıflandırmasında iyileşmeye yol açacaktır. Ayrıca nüksetme riski yüksek olan hastalar için agresif tedavi stratejisi veya artırılmış gözetim tasarlanabilmektedir.

1.6.8 Meme Kanseri Evreleri

Meme kanserinin evrelemesi klinik olarak tedavi öncesi fizik muayene ve görüntüleme çalışmaları ile belirlenirken, patolojik olarak kesin cerrahi tedavi sonrasında primer tümörün ve bölgesel lenf bezlerinin patolojik olarak incelenmesiyle belirlenir. Hastaları, prognozu tanımlayan ve benzer prognoza sahip hastalar için tedavi önerilerini yönlendiren risk kategorilerine göre gruplandırmak için evreleme yapılır. Meme kanseri, primer tümör boyutuna (T), bölgesel lenf nodu durumuna (N) ve uzak metastaz olup olmadığına (M) göre 4 evreli gruba ayıran TNM sınıflandırma sistemi ile sınıflandırılır (Alkabban vd, 2018)

En yaygın kullanılan sistem Amerikan Kanser Ortak Komitesi'nin sistemi olup sınıflandırma Şekil 1.10 ve 11'de yer almaktadır.

Primer tümör (T)	
T _x	Primer tümör değerlendirilemiyor
T ₀	Primer tümör bulgusu yok
T _{is} ^a	Karsinoma in situ: intraduktal karsinom, Lobüler karsinoma in situ veya meme başının tümörsüz Paget hastalığı
T ₁	Tümör boyutu < 2 cm
T _{1mic}	En büyük mikroinvazyon boyutu < 0.1 cm
T _{1a}	En büyük tümör boyutu 0.1 -0.5 cm arasında
T _{1b}	En büyük tümör boyutu 0.5 -1 cm arasında
T _{1c}	En büyük tümör boyutu 1 -2 cm arasında
T ₂	En büyük tümör boyutu 2 -5 cm arasında
T ₃	En büyük tümör boyutu >5 cm
T ₄ ^a	Deriye ve tümör toraks duvarına invaze olan herhangi büyüklükteki tümör
T _{4a}	Tümör toraks duvarına invaze
T _{4b}	Meme derisinde ödem(Peau d'orange dahil), ülserasyon, aynı memeye sınırlı cilt nodülleri
T _{4c}	İkisi birden (T _{4a} + T _{4b})
T _{4d}	Enflamatuvar karsinom
Bölgesel lenf nodları (N)	
N _x	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor (örn. Önceden çıkarılmış)
N ₀	Bölgesel lenf nod metastazı yok
N ₁	Aynı taraf aksillar mobil lenf nod metastazları
N ₂	Aynı taraf aksillada birbirine yapışık veya çevre dokulara fikse mammaria internada görüntüleme yöntemleri ile saptanmış metastazın varlığı
N ₃	Aynı taraf internal mamaryen lenf nodlarına metastaz
Bölgesel Lenf Nodülleri (pN)	
pN _x	Bölgesel lenf nodu metastazı değerlendirilemiyor(önceden çıkarılmış olması)
pN ₀	Bölgesel lenf nodülüne metastaz yok
pN ₁	Aynı taraftaki aksiller lenf nodül(lerine) hareketli metastaz
pN ₂	Aynı taraf, bir birlerine ya da çevre yapılara fikse aksiller lenf nod metastazları
pN ₃	Aynı taraf mamaria interna lenf nodlarına metastaz
Uzak metastaz (M)	
M _x	Uzak metastaz değerlendirilemiyor
M ₀	Uzak metastaz yok
M ₁	Uzak metastaz var (aynı taraf supraklaviküler lenf nodlarına metastaz dahil)

Şekil 1.10 Meme Kanseri Tümör Evreleme Sistemi (Parlak vd, 2004)

EVRE	T	N	M
0	T _{is}	N ₀	M ₀
I	T ₁	N ₀	M ₀
IIA	T ₀	N ₁	M ₀
	T ₁	N ₁	M ₀
	T ₂	N ₀	M ₀
IIB	T ₂	N ₁	M ₀
	T ₃	N ₀	M ₀
IIIA	T ₀	N ₂	M ₀
	T ₁	N ₂	M ₀
	T ₂	N ₂	M ₀
	T ₃	N ₁	M ₀
	T ₃	N ₂	M ₀
IIIB	T ₄	N ₀	M ₀
	T ₄	N ₁	M ₀
	T ₄	N ₂	M ₀
IIIC	Herhangi bir T	N ₃	M ₀
IV	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M ₁

Şekil 1.11 Meme Tümörü Evreleme (Parlak vd, 2004)

1.6.9. Prognoz

Erken meme kanserinin prognozu oldukça iyidir. Evre 0 ve I'in her ikisinin de 5 yıllık hayatta kalma oranı %100'dür. Evre II ve evre III meme kanserinde 5 yıllık sağkalım oranı sırasıyla yaklaşık %93 ve %72'dir. Hastalık sistemik olarak yayıldığında prognozu çarpıcı biçimde kötüleşir. Evre IV meme kanseri hastalarının yalnızca %22'si 5 yıl boyunca hayatta kalabilmektedir (Alkabban vd, 2018).

1.6.10 Meme Kanseri Risk Faktörleri

Çok sayıda çevresel ve genetik faktör ile yaşam tarzı meme kanseri gelişme riskini etkilemektedir (Seroussi vd, 2018) (Tablo 1.1). Bunlar arasında genetik faktörler özellikle önemlidir. Birinci derece kadın akrabalarında meme kanseri varlığı genel olarak proband riskini neredeyse iki katına çıkarır ve etkilenen akraba sayısı ile birlikte risk giderek artar. Moleküler onkoloji ve onkogenetikteki güncel gelişmeler, onkolojik önleme, teşhis ve tedavi seçenekleri açısından meme kanserine yatkınlıkları hakkındaki bilgilerden yararlanabilecek yüksek riskli bireylerin belirlenmesine olanak sağlamaktadır.

Tablo 1.1: Meme Kanseri Gelişimini Etkileyen Risk Faktörleri. (Kleibl vd, 2016)

Genetik Risk Faktörleri

- Ailesel Meme Kanseri Öyküsü

Büyük meta-analizde çeşitli aile geçmişleriyle ilişkili istatistiksel olarak anlamlı göreceli riskin (GR) birleştirilmiş tahmini şu şekildeydi: herhangi bir akraba, GR1/41.9; birinci derece akraba, GR1/42.1; anne, GR1/42.0; kız kardeş, GR1/42.3; kızı, GR1/41.8; anne ve kız kardeş, GR1/4 3.6; ve ikinci derece akraba, GR1/41.5. Riskler 50 yaşın altındaki kişilerde ve akrabaya 50 yaşından önce tanı konulanlarda daha yüksektir.

-Kişisel Meme Kanseri Öyküsü

İlk meme kanseri yaşının daha genç olması, kontralateral meme kanseri riskinin önemli ölçüde daha yüksek olmasıyla ilişkilidir. 40 yaşın altında teşhis edilen hastalarda (BRCA1/2-negatif ailelerden) 25 yıllık kümülatif karşı meme kanseri riski %28.4 iken 50 yaşında teşhis edilen hastalarda ise %12.9' dur.

- Meme Durumu

Mamogramlarda yüksek meme dokusu yoğunluğu güçlü bir risk faktörüdür. Yüksek yoğunluklu mamogramlı kadınlar, düşük yoğunluklu mamogramlı kadınlara göre altı kata kadar riskle karşı karşıyadır. İyi huylu meme hastalıkları da (iyi huylu proliferatif meme hastalığı, meme kistleri, fibroadenom, meme inflamatuvar hastalıkları) riski artırmaktadır.

- Menoaktivite

Menopoz yaşı, riski yılda yaklaşık %3 artırmaktadır. Azalan risk geç menarşla ilişkilidir (11-15 yıl, GR1/40,69).

- Boy Uzunluğu

30-70 yaş arası uzun boylu (170 cm) kadınlarda kümülatif meme kanseri görülme sıklığı, kısa boylu (155 cm) kadınlara göre %12 daha fazladır.

Yaşam Tarzı Risk Faktörleri

- Beslenme Alışkanlıkları

Alkol tüketimi 70 yaşına kadar meme kanseri riskini %7 oranında artırmaktadır. 18-50 yaşlarında yaklaşık 27 kg kilo artışı olan bir kadının kümülatif riski, sabit kilosu veya ortalama kilo alımı yaklaşık 8,6 kg olan bir kadına göre %19 daha yüksektir.

Tablo 1.1 (Devamı): Meme Kanseri Gelişimini Etkileyen Risk Faktörleri. (Kleibl vd, 2016)

- Fiziksel Aktivite
Hem tanı öncesi hem de tanı sonrası herhangi bir fiziksel aktivite, meme kanserine özgü mortalitenin azalmasıyla ilişkilidir (GR1/40.82).
- Hamilelik
29 yaş altı gebelik riski azaltır, 35 yaş üstü gebelik ise riski artırır.
Farmakoterapi
Antiöstrojenler: Antiöstrojenlerin (tamoksifen, raloksifen) kullanımı riski azaltır. Yan etkilerden dolayı bunların kullanımı, ailesinde güçlü kanser öyküsü olan veya meme kanserine yatkınlık geninde mutasyon bulunan yüksek riskli kadınlarla sınırlandırılmalıdır.
Hormon replasman tedavisinin menopoz sonrası kullanım süresi, meme kanseri riskini, kullanım yılı başına %2,3 oranında önemli ölçüde artırmaktadır.
Radyasyona maruz kalma
3817 kohortlu radyoterapi ile tedavi edilen 1 yıldır Hodgkin hastalığından kurtulan 105 genç kadınla yapılan çalışmada meme kanseri riskinin uygulanan radyasyon dozu ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Memeye verilen 4 Gy'lik radyasyon dozunun riskte 3,2 kat artışla ilişkili olduğu görülmüştür. 40 Gy radyasyon dozu alan hastalarda riskin 8,0 kat arttığı belirtilmiştir (Kleibl vd, 2016).

1.6.11 Meme Kanseri Genetiği

Meme kanseri genetiği, meme kanseri yönetiminin temel bir yönü haline gelmiştir. Germinal meme kanseri yatkınlık genini taşıyan kadınlarda tarama, takip, profilaktik ve terapötik aşamalar bu genin varlığından etkilenmektedir. Aynı zamanda da farklı prognoza sahip veya tedaviye farklı yanıt veren hasta alt gruplarının belirlenmesinde yardımcı olabilmektedir (Crisciteillo vd, 2022).

Meme kanseri yatkınlık genlerindeki patojenik varyantlar, özellikle erken başlangıçlı meme kanseri (EOBC) bağlamında hastalık gelişimi için en güçlü kalıtsal risk faktörünü temsil etmektedir. Aslında EOBC vakalarının yaklaşık %10-20'si kalıtsaldır (Siddig vd, 2021).

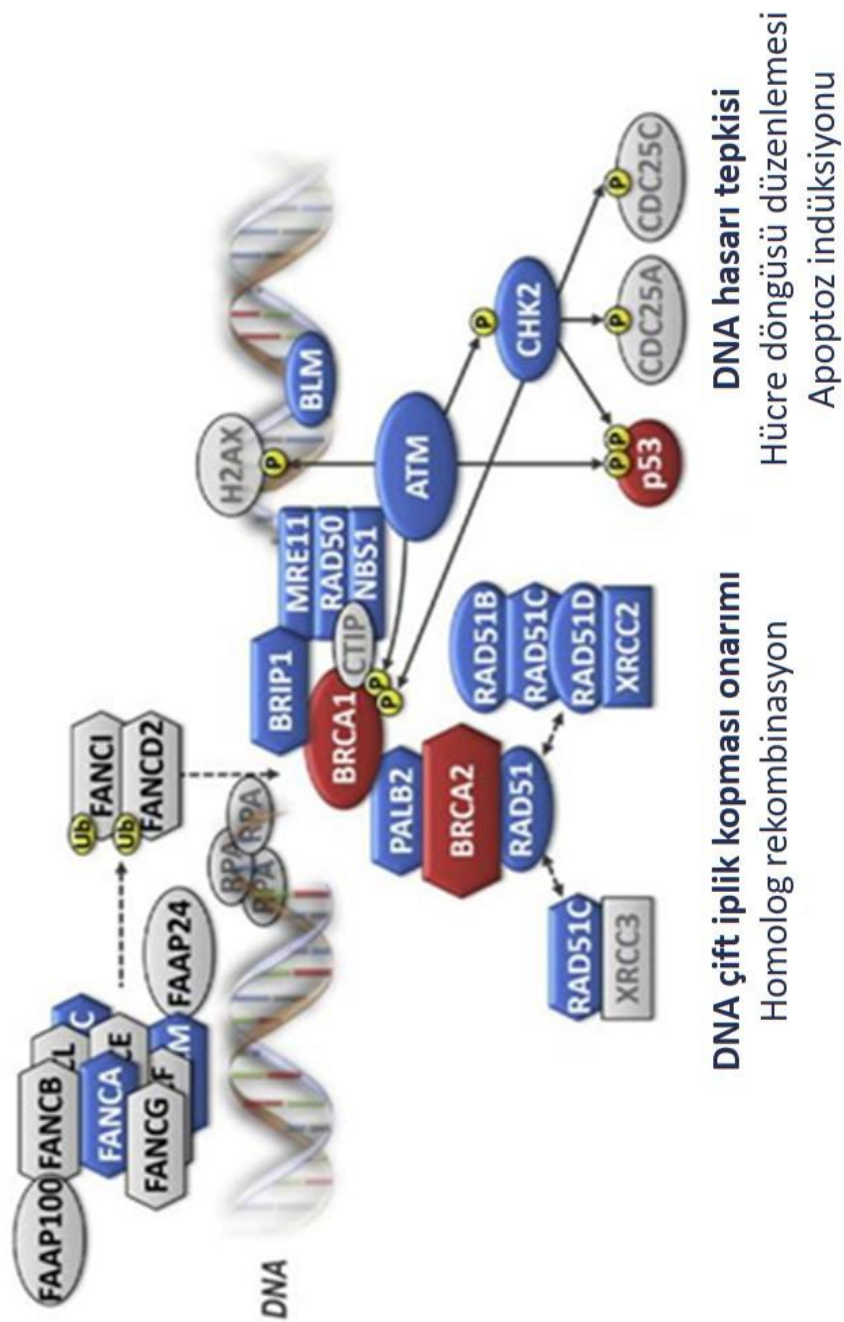
1.6.12 Kalıtsal Meme Kanseri

Meme kanserinin kalıtsal olduğunun tespiti ilk kez on dokuzuncu yüzyılda tanımlandı. 1990'ların ortalarında BRCA1 ve BRCA2 meme/yumurtalık kanseri yatkınlık genlerinin tanımlanması ve genetik testlerin kullanıma sunulmasıyla birlikte, sürveyansın uyarlanması, tıbbi veya cerrahi riskin azaltılmasına ilişkin kararların yönlendirilmesi ve genetik variant taşıyıcıları için kanser tedavileri konularında önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. (Berger ve Golshan, 2021). Son yirmi yılda, BRCA genlerinin keşfedilmesinden bu yana, kansere yatkınlık genlerinde meme kanseri riskinin artmasıyla da ilişkilendirilen ek germ hattı patojenik varyantlarının belirlenmesinde önemli ilerlemeler kaydedilmiştir (Couch vd, 2017; Easton vd, 2015; Shimelis vd, 2018).

1.6.13. Meme Kanserine Yatkınlık Genleri

Kalıtsal meme kanserinin (HBC) en iyi bilinen türleri, yüksek penetrasyonlu genler BRCA1 ve BRCA2'deki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. PTEN, TP53, STK11/LKB1, CDH1, PALB2, CHEK2, ATM, MRE11, RAD50, NBS1, BRIP1, FANCA, FANCC, FANCM, RAD51, RAD51B, RAD51C, RAD51D ve XRCC2 dahil olmak üzere diğer genler yüksek veya orta derecede penetranslı meme kanserine yatkınlık genleri olarak tanımlanmaktadır (Wendt ve Margolin, 2019).

İlginç olarak meme kanserine yatkınlık genlerinin çoğu, DNA onarımı süreçlerinde ve esas olarak DNA çift iplik kırıklarının (DDSB) onarımının oldukça karmaşık mekanizmalarında yer alan tümör baskılayıcı proteinleri kodlamaktadır (Şekil 1.12).



Şekil 1.12 DSB ve onarımında yer alan (Wendt ve Margolin, 2019).

Şekil 1.12' de yer alan görselde, başlıca meme kanseri yatkınlık proteinleri kırmızı renkte, diğer meme kanseri yatkınlık proteinleri mavi renkte gösterilmektedir. Fanconi anemisi (FANC) ailesinin üyeleri altıgen olarak tasvir edilmiştir.

Nadiren mutasyona uğramış bazı önemli meme kanseri yatkınlık genleri (PTEN, STK11 ve CDH1), DNA onarımı ve DNA hasarı cevap yollarında doğrudan yer almadıkları için gösterilmemiştir. Homolog rekombinasyon (HR), hücre döngüsünün S ve G2 fazı sırasında DNA çift sarmal kopmalarını çözen en doğru DNA onarım yoludur. Bu son derece karmaşık ve çok adımlı süreç, onarım şablonu görevi gören kardeş bir kromatid gerektirir. Başlangıçta, MRN kompleksini (MRE11, RAD50 ve NBN'den oluşan) içeren duyusal proteinler, kırık DNA uçlarına bağlanır ve uzun tek iplikçik çıkıntıları oluşturan tek iplikli uç rezeksiyonunu (BLM helikazının desteğiyle) başlatır. MRN kompleksi ayrıca, DNA hasarı yanıtının (hücre döngüsünün durdurulması veya apoptozun indüklenmesi dahil) düzenlenmesinden sorumlu proteinleri (CHK2 veya p53 gibi) ve kendiliğinden HR onarımını kapsayan proteinleri (BRCA1 gibi) fosforile eden ATM kinazın aktivasyonuna da katkıda bulunur. HR için büyük nükleoprotein komplekslerinin bir araya getirilmesi, uygun bir uzay-zamansal düzenleme gerektirir. BRCA1, BRCA2 proteinleri ve Fanconi anemisi (FANC-) protein ailesinin diğer üyeleri bu süreçlere katkıda bulunur. BRCA1, DNA kırılma bölgelerinde çok sayıda protein-protein etkileşimini kolaylaştırırken, FANCA-C, E-G, L, M ve ilgili FAAP proteinlerinden oluşan çekirdek kompleksi, DNA hasarına karşı FANCD2 ve FANCI'yi aktive eden bir çoklu protein ubiquitin ligazıdır. Bu proteinler ubiquitinlendiğinde DNA kırılma bölgesine yer değiştirir ve BRIP1 (FANCI), PALB2 (FANCD1) ve BRCA2 (FANCD1) gibi diğer aşağı yönlü FANC protein ailesi üyeleriyle HR'nin aktivasyonuna katkıda bulunur. Daha sonra RAD51 rekombinazı, çeşitli yardımcı proteinlerin ("RAD51 paralogları": RAD51B, RAD51C, RAD51D, XRCC2 ve XRCC3) yardımıyla tek iplikçik çıkıntılarına bağlanır ve homolog bir sekansın araştırılmasını ve bunun kardeş kromatiddeki lokalizasyonun bulunmasını teşvik eder (Wendt ve Margolin, 2019).

1.6.14 Meme Kanseri ve Genetik Analiz Teknikleri

2000'li yılların başlarından itibaren NGS'nin gelişmesi ve maliyetinin kademeli olarak azalması, bu tekniğin hastane ortamında rutin tanıya yardımcı olmak ve yeni tedavi hedeflerinin keşfedilmesine yardımcı olmak üzere uygulanmasına olanak sağlamıştır. Özel şirketler de benzer şekilde klinik amaçlarla NGS hizmetleri sağlamaktadır. Analiz seçimi ve veri yorumlaması yerel uygulamaya göre değişiklik gösterebilir. İdeal olarak, NGS sonuçları artık tıbbi onkologların, patologların, genetikçilerin ve biyo-enformatikçilerin, hasta için en iyi tedavi seçeneğini doğru bir şekilde belirlemek

amacıyla NGS'nin klinik ve patolojik verilerle entegrasyonunu birleştirdiği moleküler tümör kurullarında tartışılmaktadır. Sağlık sistemlerinin dünya çapında farklılık gösterdiğini ve bazı ülkelerde NGS analizlerinin geri ödemesinin halen beklemede olduğunu akılda tutmak çok önemlidir (Nourieh vd, 2022).

NGS teknolojileri, milyonlarca deoksiribonükleik asit (DNA) molekülünün büyük ölçüde paralel dizilenmesine olanak tanır ve böylece veri verimini önemli ölçüde artırır. Günümüzde rutin teşhis laboratuvarlarında en çok kullanılan ikinci nesil yaklaşımlar, 'kısa okumalar' adı verilen, önceden parçalanmış, bağlanmış ve çoğaltılmış DNA molekülünün dizilenmesine dayanmaktadır. Sıralandıktan sonra okumalar, herhangi bir varyasyonu tespit etmek için bir referans dizisi üzerinde biyobilgisel olarak yeniden birleştirilir. Kısa okumaların sekanslanması, halihazırda kısmen bozulmuş olan formalinle sabitlenmiş parafine gömülü (FFPE) dokulardan ekstrakte edilen DNA için özellikle uygundur (Nourieh vd, 2022).

NGS, gen panellerinin dizilenmesine, tüm ekzom dizilimine ve tüm genom dizilimine olanak tanır ve bunların tümü onkoloji alanına değerli bilgiler sağlar. NGS, nokta mutasyonlarını, küçük baz eklemelerini ve silmelerini, kopya numarası değişikliklerini ve yapısal yeniden düzenlemeleri tespit etmeye olanak tanır (Nourieh vd, 2022).

Mevcut dizileme teknolojileri, örnek başına milyonlarca, hatta milyarlarca okumayı dizileyebilir, bu da ilgili genlerin, belirli bir konumdaki okuma sayısına karşılık gelen yüksek bir kapsama derinliğiyle analiz edilmesini mümkün kılar. Büyük derinlik özellikle alt klonal tümör mutasyonların veya düşük tümör hücresellğine sahip numunelerdeki mutasyonların tespit için gereklidir. Kullanılacak platformun seçimi, kapsanacak genlerin veya genomik bölgelerin sayısı ile düşük değişken allel frekansına sahip mutasyonları tespit etmek için istenen derinlik arasındaki bir uyumdur (Nourieh vd, 2022).

Ribonükleik asit (RNA), sekanslamadan önce RNA moleküllerinin tamamlayıcı DNA moleküllerine ters transkripsiyonu (RT) gerçekleştirilerek aynı sekanslama platformları kullanılarak analiz edilebilir. Mesajcı RNA'ların sekanslanması, farklılaşmış ekspresyon, gen füzyonları ve alternatif splayzing ile ilgili ek bilgiler sağlayabilir. Ek olarak, bazı mutasyonlar da benzer şekilde RNA dizileme verilerinden çıkarılabilir.

Birkaç düzine genden oluşan küçük bir panel, bilinen ve hedeflenebilir ana onkogenlerin hızlı ve uygun maliyetli bir şekilde analiz edilmesi için özellikle uygundur. Analiz edilecek tümör DNA'sı FFPE'den, dondurulmuş dokulardan veya kan gibi vücut sıvılarından (sıvı biyopsiler) izole edilebilir (Nourieh vd, 2022).

Yüzlerce genden oluşan daha büyük bir panel, yeni terapötik hedefleri araştırmak, hastalık izleme için yeni biyobelirteçleri tespit etmek ve yeni tespit edilen moleküler değişikliklere dayalı olarak klinik deney uygunluğunu test etmek için kullanılabilir. Ek olarak, bu daha büyük ölçekli sıralama, biyoenformatik araçlarını kullanarak tümör mutasyon yükünü (TMB) ve mikrosatellit kararsızlığı (MSI) durumunu tahmin etmeye olanak tanır. Bununla birlikte, yalnızca belirli genler kapsandığından, gen paneli ayarlarında genom çapında yapısal varyantlar tespit edilememektedir (Nourieh vd, 2022).

Son olarak, yaklaşık 1x kapsama sahip düşük kapsamlı tam genom dizilimi, kopya numarası değişikliklerini ve homolog rekombinasyon eksikliğini (örneğin; özel algoritmalar kullanan “yüzeysel homolog rekombinasyon eksikliği [HRD]”) özel algoritmalar kullanılarak tespit etmek için uygulanabilir. Kısa süre içinde bu teknik, poli-ADP riboz polimeraz inhibitörlerinden (PARPi) yararlanabilecek hastaları belirlemenin çok yararlı ve uygun maliyetli bir yolu haline gelebilir. Ayrıca bu teknik küçük hacimli, depolanabilir veriler üretir ve FFPE numuneleri için de uygundur (Nourieh vd, 2022).

1.6.15 Meme Kanserine Yatkınlık Genlerindeki Dizi Varyantlarının Klinik Yorumu

Meme kanserine yatkınlık genlerindeki mutasyonların göreceli olarak nadir olması, mutasyon analizlerini yalnızca yüksek riskli bireylerle sınırlandırmaktadır. Ulusal kılavuzlar büyük ölçüde Ulusal Kapsamlı Kanseri Ağ'ının (NCCN; www.nccn.org) belirli populasyon özelliklerine göre uyarlanmış kılavuzlarını esas almaktadır. Çok sayıda kansere yatkınlık geninden (gen panelleri) oluşan bir koleksiyonu hedef alan yakın zamanda tanıtılan NGS bazlı analizler, tek gen analizlerinin yerini almak üzere benimsenmiştir (Easton ve diğerleri, 2015). NGS temelli yaklaşımlar, patojenik mutasyonların taşıyıcılarının genel tespitini tüm yüksek riskli bireylerin %30'undan fazlasına çıkarır (Maxwell vd, 2014).

Bütünleştirici analizlere dayalı yöntemler, meme tümörünün heterojenliğine dair bir anlayış getirmiştir ve yüksek riskli meme tümörlerini tanımlayan yeni sınıflandırma stratejileri geliştirilmektedir. Somatik mutasyonların analizinin ve bireysel kanser

örneklerinde "ilaç hedefli" genlerdeki tetikleyici mutasyonların tanımlanmasının gelecekte rutin olarak uygulanması, kötü prognoza sahip meme kanseri alt tiplerinde tedavi yanıtını iyileştirmek için gereken özel tedaviye yönelik çok önemli bir adımdır (Kleibl vd, 2016).

1.6.16 Meme Kanseri Gen İfade Modeli

Kanser tanısındaki son teknolojik gelişmeler, tümör davranışının daha iyi anlaşılması için gen ekspresyon paterninin ortaya çıkmasına yol açmaktadır. Bu gelişmeler sadece prognozu desteklemekle kalmayıp, aynı zamanda erken teşhis ve tedaviyi de kolaylaştırmaktadır. Gen ekspresyonu sonuçları geleneksel klinikopatolojik özelliklerle birleştirildiğinde hastalık prognozunun doğruluğu artırılabilir (Latha vd, 2020). Kanser tanısına yönelik yöntemler yirminci yüzyılın sonlarına kadar histolojik ve klinik analizle sınırlıydı. 1995 yılında, Velculescu ve arkadaşlarının, ve Schena ve arkadaşlarının "Science" dergisinde yayınladıkları raporlar, gen ekspresyonu analizi için yeni bir alan açtı ve bu alan büyüleyici bir teknoloji olan "Microarray" analizleri için zemin hazırlamıştır (Schena vd, 1995). DNA mikrodizisinin gelişmesiyle birlikte, aynı örnekte birkaç bin genin ifadesini eş zamanlı olarak analiz etmek mümkün olmuştur (Latha vd, 2020).

1.6.17 Meme Kanseri Epigenetiği

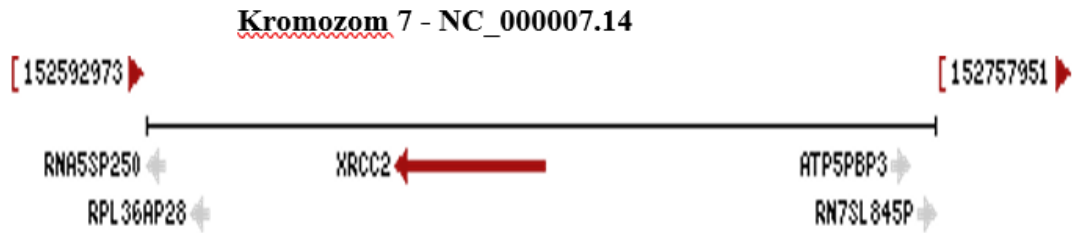
Mutasyonlar ve kopya sayısı değişikliklerinin bir kombinasyonu meme kanserinin türünü belirlerken, epigenetik değişiklikler kanser gelişiminin birincil başlatıcıları olabilmektedir (Byler vd, 2018). Son zamanlarda, bu değişiklikleri tanımlamaya odaklanan birçok çalışma yapılmıştır ve bu, histon modifikasyonları, DNA metilasyonu ve mikroRNA (miRNA) ekspresyonu gibi çeşitli epigenetik değişikliklerin sonuçta gen ekspresyonunu nasıl etkilediğinin anlaşılmasına yönelik önemli ilerlemelere yol açmaktadır (Byler vd, 2018). Ek olarak, diğer kapsamlı çalışmalar, meme kanserinde anormal ekspresyona sahip spesifik miRNA'ları tanımlamış ve sağlıklı meme dokusu ile meme kanseri hücreleri arasındaki miRNA ekspresyon modellerindeki farklılığı doğrulamaktadır. Spesifik olarak, miR-12b, miR-145, miR-21 ve miR-155'in tümü birden fazla meme kanseri türünde önemli ölçüde baskılanmaktadır (Kanser Genom Atlas Ağı, 2012).

miRNA'nın meme kanserindeki rolüne ek olarak, metilasyon gibi diğer epigenetik değişikliklerin de meme kanseri patogenezinde rol oynadığı gösterilmiştir. Kanser

Genomu Atlas Ağı, 802 meme tümörünün metilasyon dizilerine dayanarak beş farklı DNA metilasyon grubu (grup 1-5) tanımlamıştır (Kanser Genom Atlas Ağı, 2012). Ayrıca çalışmalar, metilasyon değişikliklerinin meme kanseri oluşumuyla nasıl ilişkili olduğunu ve normal ve iyi huylu meme hücrelerini kanserli hücrelerden ayırmak için kullanılabileceğini göstermektedir. Aleheikh ve arkadaşları tarafından yapılan meme kanserli 880 hastanın yer aldığı çalışmada, histon asetilasyonu ve metilasyon düzeylerindeki değişikliklerin meme kanserinin erken bir belirtisini temsil edebileceği bildirilmiştir (Aleheikh vd, 2009). Ayrıca, metilasyon değişikliğinin derecesinin, daha az metastatik olan meme kanseri hücrelerine kıyasla daha agresif metastatik meme kanseri hücrelerinin göstergesi olduğuna dair kanıtlar da vardır. Rodenhiser ve ark. yüksek düzeyde metastatik meme kanseri hücre dizisi MDA-MB-468LN' de birçok yolda rol alan yukarı yönlü promotor bölge ilişkili genlerin metilasyon durumunu, daha az metastatik bir hücre dizisi olan MDA-MB-468 GFB ile karşılaştırmıştır (12). Metastazın yanı sıra karsinogenezde rol oynayabilecek genlerin hiper-metilasyonunu ve hipo-metilasyonunu gözlemlemişlerdir. Sonuç olarak, genlerin %20-30'unun metilasyon durumunun iki hücre hattı arasında farklılık gösterdiği bildirilmiştir (Rodenhiser vd, 2008).

1.7. XRCC2 Gen Yapısı ve Fonksiyonları

X-ışını onarımı çapraz tamamlayıcı 2 geni (XRCC2), kromozom 7'nin (7q36.1) kısa kolu üzerinde lokalizedir (Şekil 1.13).



Şekil 1.13 XRCC2 Geni (*Homo sapiens* (insan)) (Gene, NCBI)

Bu gen, kromozom stabilitesini korumak ve DNA hasarını onarmak için homolog rekombinasyona katılan RecA/Rad51 ile ilişkili protein ailesinin bir üyesini kodlamaktadır.

Tablo 1.2: XRCC2 Gen Özellikleri (NCBI,2024)

Gen Sembolü	XRCC2
Genin Tam Adı	X-ışını onarımı çapraz tamamlayıcı 2
Genin Türü	Protein kodlayan gen
Diğer adları	FANCU; POF17; SPGF50
Ekzon sayısı	3
Nükleotid sayısı	4771
Genomdaki Lokasyonu	NC.000007.14 (152,644,776 – 152,676,141) NM_005431.2
Fonksiyonu hakkında özet	Bu gen, kromozom stabilitesini korumak ve DNA hasarını onarmak için homolog rekombinasyona katılan RecA/Rad51 ile ilişkili protein ailesinin bir üyesini kodlar. Bu gen, homolog rekombinasyon yoluyla DNA çift sarmal kırıklarının onarımında rol oynar ve bir dizi farklı DNA'ya zarar veren ajana karşı aşırı duyarlılık sergileyen, DNA onarımı eksik bir mutant “Chinese hamster irs1” 'i işlevsel olarak tamamlayıcı role sahiptir.
Ekspresyon Profili	Testiste (RPKM 1.4) ve kemik iliği (RPKM 1.0) başta olmak üzere yaklaşık 22 dokuda geniş ekspresyon profiline sahiptir.

XRCC2, tamamı Walker A ve B ATPase motiflerine sahip olan beş somatik RAD51 paralogundan biridir. XRCC2 de dahil olmak üzere paralogların her biri, homolog rekombinasyon (HR) yoluyla DNA çift iplikli kırılma onarımında bir fonksiyona sahiptir. Ancak rolleri RAD51'in kendisi kadar iyi anlaşılmamıştır. XRCC2 proteini, diğer üç RAD51 paralogu olan RAD51B, RAD51C ve RAD51D ile bir kompleks (BCDX2) oluşturur. XRCC2, RAD51'in DNA hasar odaklarına toplanmasında yer aldığından, BCDX2 kompleksinin, BRCA2'nin aşağısında RAD51'in yukarısında HR'ye aracılık ettiği düşünülmektedir. XRCC2, DNA'ya bağlanabilir ve RAD51D ile birlikte in vitro homolog eşleşmeyi destekleyebilir. HR'deki rolüyle tutarlı olarak, XRCC2 eksikliği olan hücrelerde spontan kromozom instabilitesi artmış düzeydedir ve mitomisin C ve sisplatin gibi DNA iplikçikler arası çapraz bağlama maddelerinin yanı sıra iyonlaştırıcı radyasyon, alkilleyici maddeler ve aldehitlere karşı aşırı duyarlılık sergilemektedir.

XRCC2 ayrıca hücre döngüsünde sinyal vermede de işlev görür, DNA replikasyonunu ve kromozom ayrılmasını teşvik eder.

XRCC2'nin (FANCU) bialelik mutasyonu, Fanconi anemisinin FA-U alt tipine neden olurken, XRCC2'deki zararlı mutasyonlar için heterozigotluk, artan meme kanseri riski ile ilişkili olabilir. XRCC2, Fanconi anemisi yolağında ana aşama olan FANCD2 monoubikitinasyonu için gerekli olmadğından, bu yolda “aşağı yönde” işlev görüyor gibi görünmektedir (Andreassen and Hanenberg, 2019).



BÖLÜM 2

LİTERATÜR ÖZETİ

Meme kanseri gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde kadınlarda en sık görülen kanser türüdür. Meme kanserlerinin tedavi stratejileri, tanı yaşı, adet durumu, beslenme düzeni, immünolojik yanıt, kanser hücrelerinin genetik varyasyonları vb. gibi bir dizi faktöre bağlıdır (Neetha Rajan Latha ve diğerleri, 2020). Meme kanseri, karakterize edilmesi ve tedavisi zor olan heterojen bir hastalık olmasına rağmen, son zamanlarda genetik ve epigenetik araştırmalarda yaşanan hızlı gelişmeler bu çabaların geliştirilmesine yardımcı olabilir (Bayler vd, 2018).

Tıpta kesin tanıdaki daha fazla anlaşılma, bir dereceye kadar teknik ve hesaplamalı ilerlemeden kaynaklanmaktadır; gerçek bir teknik ilerlemenin ilk aşaması, transkriptomik analizin uygulanmasıdır. Moleküler alt tiplendirme, meme kanseri biyolojisine ilişkin anlayışımızı daha da geliştirmekte ve yeni bir tümör sınıflandırması aracılığıyla kişiselleştirilmiş tedavi rejimlerinin tahsis edilmesini sağlamaktadır. Teknik ilerlemedeki bir sonraki aşama, şu anda yeni ve heyecan verici sonuçlar sağlayan yeni nesil dizileme olmalıdır. Büyük ölçekli sıralama verileri, yeni somatik ve potansiyel hedeflenebilir mutasyonları ortaya çıkarmanın yanı sıra ailesel meme kanserine yatkın yeni aday genlerin tanımlanmasına da olanak tanımaktadır (Rossing vd, 2019).

Yıllar içinde, cDNA mikrodizi bazlı gen ekspresyon profili oluşturma, gen ekspresyonu bazlı prognostik belirteçler, hedeflenen Sanger dizilimi, pan-genomik analizler [karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (CGH)] ve NGS, meme kanseri çeşitliliği ve heterojenliğine ilişkin bilgimizi önemli ölçüde genişletmekte ve böylece meme kanseri sınıflandırılmasının önemli ölçüde iyileştirilmesini sağlamaktadır (Nourieh vd,2020)

Yeni bir NGS tabanlı çalışma, somatik mutasyonların meme kanserinde nasıl rol oynadığına dair kapsamlı kanıtlar sağlamaktadır. Stephens vd. (2012), somatik kopya

sayısı değişiklikleri ve protein kodlayan genlerin kodlayıcı ekzonlarındaki mutasyonlar açısından 100 tümörün genomunu inceledi. 21.416 protein kodlayan gende 7.421 somatik nokta mutasyonu belirlediler. Somatik mutasyonların sayısının, bireysel tümörler arasında belirgin şekilde farklılık gösterdiği bu alışma ile tespit edildi (Stephens vd, 2012). BRCA1, RB1, TP53, PTEN, AKT1, CDH1, GATA3 ve PIK3CA dahil olmak üzere meme kanseri gelişiminde rol oynayan köklü kanser genlerinin çoğunun somatik mutasyonlara sahip olduğu bulunmuştur (Byler vd, 2014).

Farklı meme kanseri türlerini sınıflandırmak için somatik mutasyonların kullanıldığı başka bir örnekte uzun süreli klinik takip ile yaklaşık 1000 insan meme tümöründe kopya sayısı sapmalarını (CNA'lar) inceledi. Çalışma, kalıtsal gen ekspresyon özelliklerinin çoğunun, ilgili geni çevreleyen 3 megabazlık (Mb) bir pencere içinde tanımlanan cis (yakın) lokuslar ve bu pencerenin dışındakiler olarak tanımlanan trans (uzak) lokusların bir kombinasyonu tarafından yönetildiği varsayımına dayanmaktaydı. PPP2R2A, MTAP ve MAP2K4 genlerinde delesyonlar ve bu genlerin yaklaşık %40'ında cis- veya trans-etkili CNA'ların bir sonucu olabilen somatik CNA'lar buldular (Byler vd, 2014). Başka bir çalışmada meme kanserine yatkınlık genlerinin çoklu gen panel testleri Avrupa ve Amerika'da kapsamlı bir şekilde yapılmıştır, ancak Asya'da nispeten nadirdir. Bu çalışmada, kalıtsal meme kanseri riski yüksek büyük bir Çin hasta kohortu arasında BRCA1 ve BRCA2 dahil 40 kanser yatkınlık genindeki germ hattı mutasyonlarının sıklığı değerlendirilmiştir. 2015'ten 2016'ya kadar Çin'in 26 merkezinden yüksek kalıtsal risk taşıyan meme kanseri hastaları çalışmaya alındı (n = 937). Klinik bilgiler toplandı ve germ hattı mutasyonlarını tanımlamak için katılımcıların kan örnekleri kullanılarak yeni nesil dizileme (NGS) yapıldı. Toplamda, BRCA1/2'de 159, diğer 15 meme kanseri yatkınlık geninde 61 ve hem BRCA1/2 de hem de diğer genlerde 3 olmak üzere varsayılan germline mutasyonları olan 223 hasta saptanmıştır. BRCA1/2 dışındaki mutant genler TP53 (n = 18), PALB2 (n = 11), CHEK2 (n = 6), ATM (n = 6) ve BARD1 (n = 5) olarak belirtilmiştir (Li vd, 2019).

XRCC2 geninin SNP'leri ile meme kanseri riski arasındaki ilişkiyi değerlendiren genom bazlı çalışmalar bulunmaktadır.

Rusya'da yapılan bir vaka kontrol çalışmasında, 672 vaka ve 672 kontrol Rus kadından oluşan bir örnekleme, XRCC1, ERCC2, XRCC3, XRCC2, EXOI ve TP53 DNA

onarım genlerindeki yedi polimorfizm, meme kanseri riski ile olası bir ilişki açısından test edilmiştir (Shadrina vd, 2016). XRCC1 (R399Q) rs25487 polimorfizminin alel A'sı için bir ilişki gözlenmiştir (ko-dominant model AA vs. GG: OR 1,76, P = 0.003; toplamsal model OR 1,28, P = 0,005; dominant model: OR 1,29, P = 0,03; resesif OR 1.63, P = 0.008). ERCC2 (D312N) rs1799793 polimorfizminin T alleli de meme kanseri riskiyle ilişkilendirilmiştir (ko-dominant model TT vs. CC: OR 1.43, P = 0.04; toplamsal model OR 1.21, P = 0.02; dominant model OR 1.30, P = 0,02), ancak Bonferroni düzeltilmesi uygulandıktan sonra ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Geri kalan SNP'ler için ise meme kanseri ile ilişki bulunamamıştır.

Başka bir çalışmada meme kanserinde XRCC2 genindeki azalma ile lenf nodu metastazının varlığı arasındaki ilişki değerlendirilmiştir (Bashir vd, 2014). Çalışmanın birinci kısmında tanısal bir belirteç olarak XRCC2 geninin rolünü tanımlamak amacıyla 14 adet yayınlanmış XRCC2 makalelerinin meta analizi yapılmıştır. Çalışmanın ikinci kısmında ise XRCC2 geninin ekspresyonu, 100 kadından oluşan çalışma kohortunda (50 meme kanseri hastası ve 50 kontrol) gerçek zamanlı PCR kullanılarak gözlenmiştir. Kanserli olmayan sağlıklı dokularla karşılaştırıldığında meme kanseri dokularında XRCC2'nin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde baskılandığı ($p < 0.04$) ve ki-67'nin arttığı ($p < 0.05$) gözlenmiştir. Gen-gen ve gen-klinikopatolojik parametreler ilişkisini araştırmak amacıyla Spearman korelasyonu yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda, XRCC2 ile Ki-67 ifadesi arasında anlamlı derecede negatif bir korelasyon saptanırken ($r = -0,376^{**}$, $p < 0,01$). Gen-klinikopatolojik parametreler ilişkisi durumunda, XRCC2 ekspresyonu ile memenin lenf nodu durumu ($r = -0,521^{***}$, $p < 0,002$) ve metastatik durumu ($r = -0,303^{*}$, $p < 0,04$) arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadığı bildirilmiştir.

Başka bir çalışmada, Çin' in Han kadın popülasyonunda meme kanseri ile ilişkili olarak beş DNA onarım geninden (XRCC1, XRCC2, XRCC3, XPA ve APEX1) yedi yaygın polimorfizmin potansiyel etkileşimlerini değerlendirmeyi amaçlanmıştır (Ding vd, 2014). Bu çalışma, sporadik meme kanseri tanısı alan 606 hasta ve yaş ve etnik köken açısından eşleştirilmiş, kansersiz 633 kontrolü kapsayan bir vaka kontrol çalışması olarak planlanmıştır. Genotiplerin belirlenmesinde polimeraz zincir reaksiyonu-ligaz tespit reaksiyonu yöntemi kullanılmıştır. Yedi polimorfizmin tamamı kontrollerde Hardy-Weinberg dengesine uygun bulunmuştur. XRCC1 geni rs25487 ve

XPA geni rs1800975'in genotipleri ve alellerindeki farklılıkların, Bonferroni düzeltmesinden sonra dahi hastalar ve kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunduğu rapor edilmiştir ($P < 0.05/7$). Buna göre meme kanseri riskinin rs25487 için belirgin şekilde arttığı (OR=1,28; %95 CI: 1,07-1,51; $P=0,006$), ancak rs1800975 için azaldığı (OR=0,77; %95 CI: 0,67-0,90; $P=0,001$) tespit edilmiştir. Alel kombinasyon analizi, kontrollerde hastalara göre (PSim=0,002) en yaygın C-G-G-C-G-G-G kombinasyonunun (rs1799782, rs25487, rs3218536, rs861539, rs1800975, rs1760944 ve rs1130409 sırasına göre aleller) daha yüksek frekanslarını göstermiştir. Daha ileri düzey etkileşim analizinde, rs1800975 ve rs25487'yi içeren iki lokuslu model, 0,654 maksimum test doğruluğu ve 10 üzerinden 10 çapraz doğrulama tutarlılığı ile genel olarak en iyi model olarak kabul edilmiştir ($P=0,001$). Bu çalışma, XRCC1 geni rs25487 ve XPA geni rs1800975'in kuzey Çinli kadınlar arasında meme kanseri gelişimi üzerinde hem bağımsız hem de etkileşimli etkiler gösterebileceğine dair açık kanıtlar sunmaktadır.

Meme kanserinden etkilenmiş birden fazla bireye sahip aileler için yapılan başka bir NGS tabanlı çalışmada ekzom dizilimi ile, biri protein kesen mutasyon ve diğeri muhtemel zararlı bir yanlış anlamlı mutasyon olan XRCC2 mutasyonlarına sahip iki aileyi tanımladı. Erken başlangıçlı meme kanseri olan 1.308 vakada altı muhtemel patojenik kodlama varyantını tanımlayan ve 1.120 kontrolde herhangi bir varyantı olmayan populasyona dayalı bir vaka kontrol mutasyon tarama çalışması gerçekleştirmişlerdir (önem derecesi $p < 0.02$ idi). Ayrıca 689 çoklu vaka ailesinde ek mutasyon taraması yapılmıştır. Meme kanserinden etkilenen on ailede XRCC2'de protein kesikli veya muhtemelen zararlı nadir yanlış anlamlı varyantlarla tanımlanmıştır. XRCC2'nin bir meme kanseri yatkınlık geni olarak tanımlanması, homolog rekombinasyon-DNA-onarım disfonksiyonu ve Fanconi anemisi ile ilişkili meme kanserlerinin oranını artırır ve dolayısıyla PARP (poli ADP riboz polimeraz) inhibitörleri gibi spesifik hedefe yönelik tedavilerden fayda görebilir. Bu çalışma, yaygın, karmaşık hastalıklara yatkınlık genlerinin keşfedilmesinde büyük ölçüde paralel dizilemenin gücünü göstermektedir (Park vd, 2012).

Ayrıca Çin'deki başka bir çalışmada XRCC2 gen polimorfizmlerinin meme kanseri riski ve hayatta kalma üzerindeki rolü araştırılmıştır (Lin vd, 2011). Çalışmada, Sheffield Meme Kanseri Çalışması'ndan (SBCS) 1131 meme kanseri vakasında

ve 1148 kontrolde tek nükleotid polimorfizmlerini (SNP'ler) etiketleyen 12 XRCC2 genotipini belirlenmiş ve OR, HR ve %CI'ler tahmin edilerek bunların meme kanseri riski ve hayatta kalma ile ilişkilerini incelenmiştir. Utah Meme Kanseri Çalışması'ndan (UBCS) elde edilen 860 vaka ve 869 kontrolde pozitif bulgular daha da araştırıldı ve meme kanseri riskine ilişkin yayınlanmış mevcut verilerle birlikte ortak olarak analiz edilmiştir. Sağkalım bulguları, Meme Kanseri Derneği Konsorsiyumu'nun (BCAC) yaptığı çalışmalarda (8074 vaka) daha da doğrulanmıştır. Sonuçta, SBCS veri setinde meme kanseri riski ile en anlamlı ilişki XRCC2 rs3218408 SNP idi (resesif model $p=2,3 \times 10^{-4}$), minör alel frekansı (MAF)=0,23). Bu SNP tüm veriler dahil edildiğinde, SBCS ve UBCS'nin iki bölgesi analizinde 1,64 (%95 GA 1,25 - 2,16) OR(rec) ve tamamı yayınlandığında 1,33 (%95 GA 1,12 - 1,57) meta-OR(rec) vermiştir. Bu SNP, kontrol popülasyonunun 1000'de ikisinin taşıdığı nadir bir risk haplotipini işaret ediyor olabilir. Ayrıca, R188H SNP'yi (rs3218536, MAF=0.08) kodlayan XRCC2, çok değişkenli bir analizde alel başına HR'nin 1.58 (%95 CI 1.01 ila 2.49) artmasıyla kötü hayatta kalma ile önemli ölçüde ilişkili bulunmuştur. Bu etki, BCAC'dan 8781 meme kanseri hastasının toplu meta-analizinde daha belirgin olarak tespit edilmiştir (HR 1.19, 95% CI 1.05 to 1.36; $p=0.01$).

Mevcut çalışmalara göre XRCC2 genindeki genetik ve epigenetik değişiklikler ile meme kanseri arasında bir ilişki olduğu sonucuna varabilmektedir. Ancak bu araştırmaların sayısı önemli değildir ve makalelerin çoğu genomik veya mono-omik düzeydedir. Çalışmamızda XRCC2 geni ve meme kanseri arasındaki ilişkiyi sadece genomik düzeyde değil aynı zamanda transkriptomik ve epigenetik düzeyde de NGS testi, RT-PCR ve metilasyon yöntemlerini kullanarak incelenmiştir.

Sonuç olarak bizim çalışmamız meme kanseri ile XRCC2 geni arasındaki ilişkiye yeni bir soluk getirmiş ve korelasyonu güçlendirmiştir

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOD

3.1. Örneklerin Tolpanması

Örnekler Irak Erbil’ de bulunan Zheen Uluslararası Hastanesi’ nde 2021 ile 2024 tarihleri arasında toplandı. Çalışmada 44 normal ve 44 tümör dokusu olmak üzere toplamda 88 örnek ile çalışıldı. Tümör örnekleri hastaların klinik özellikleri, yaş ve tümör türlerine göre sınıflandırıldı (Tablo 3.1). Memeden alınan bu normal ve tümörlü doku örnekleri genomik izolasyon yapılana kadar RNA koruyucu (RNAlater) (ThermoFisher, ABD) eklenerek -80 °C’ de saklandı.

Katılımcılara çalışma öncesi bilgi verilip onay veren katılımcılara gönüllü onam formu imzalatıldı. Çalışma Yerel Etik Kurul tarafından onaylandı. Etik kurul onay numarası: 05.01.2020\17’ dir.

Tablo 3.1Hasta örneklerinin yaş, kanser türü ve tümör evresine göre sınıflandırılması

No	Evre	Kanser Türü	Yaş (yıl)
1	I	İnvaziv duktal karsinom	59
2	I	Metaplastik karsinom, matriks üreten grup	42
3	I	Medullar benzeri karsinom	49
4	I	İnvaziv duktal karsinom	54
5	I	İnvaziv duktal karsinom	56
6	I	İnvaziv duktal karsinom	47
7	I	Metaplastik karsinom, matriks üreten grup	49
8	I	Medullar benzeri karsinom	49
9	I	İnvaziv duktal karsinom	39
10	II	İnvaziv duktal karsinom	64
11	II	Metaplastik karsinom, matriks üreten grup	34
12	II	İnvaziv duktal karsinom	42
13	II	Metaplastik karsinom, matriks üreten grup	30
14	II	İnvaziv duktal karsinom	30

15	II	Medullar benzeri karsinom	49
16	II	Medullar benzeri karsinom	46
17	II	İnvaziv duktal karsinom	44
18	II	İnvaziv duktal karsinom	56
19	II	İnvaziv duktal karsinom	45
20	II	İnvaziv duktal karsinom	80

Tablo 3.1 (Devamı) Hasta örneklerinin yaş, kanser türü ve tümör evresine göre sınıflandırılması

21	II	Medullar benzeri karsinom	43
22	II	İnvaziv duktal karsinom	53
23	II	Medullar benzeri karsinom	56
24	II	Metaplastik karsinom, matriks üreten grup	80
25	II	İnvaziv duktal karsinom	43
26	II	Medullar benzeri karsinom	57
27	II	İnvaziv duktal karsinom	38
28	III	Metaplastik karsinom, matriks üreten grup	60
29	III	Medullar benzeri karsinom	47
30	III	Medullar benzeri karsinom	53
31	III	İnvaziv duktal karsinom	30
32	III	Medullar benzeri karsinom	32
33	III	Metaplastik karsinom, matriks üreten grup	43
34	III	İnvaziv duktal karsinom	37
35	III	İnvaziv duktal karsinom	37
36	III	İnvaziv duktal karsinom	55
37	III	Metaplastik karsinom, matriks üreten grup	52
38	III	İnvaziv duktal karsinom	39
39	III	Metaplastik karsinom, matriks üreten grup	47
40	III	İnvaziv duktal karsinom	33
41	III	İnvaziv duktal karsinom	33
42	III	Metaplastik karsinom, matriks üreten grup	80
43	III	Metaplastik karsinom, matriks üreten grup	29
44	III	Metaplastik karsinom, matriks üreten grup	56

3.2. Cihazlar

Çalışmada kullanılan cihazlar Tablo 3.2’ de verilmektedir.

Tablo 3.2 Kullanılan cihazlar, marka üretim yerleri

No	Cihazlar	Marka	Üretim Yeri
1	Isıtıcıli manyetik karıştırıcı	Pars Azma	İran
2	Buzdolabı	Hisense	Türkiye
3	İnkübatör	Nuve	Türkiye
4	Vorteks	ThermoFisher	ABD
5	Soğutmalı santrifüj	Eppendorf	Almanya
6	Mikropipet seti	Eppendorf	Almanya
7	Biyogüvenlik kabini	Nuve	Türkiye
8	Mikrosantrifüj	Eppendorf	Almanya
9	Termal döngü cihazı (PCR)	ABI Vertti	ABD
10	RT-PCR cihazı	BIO RAD	ABD
11	Elektroforez tankı	EC apparatus	ABD

Tablo 3.2 (Devamı) Kullanılan cihazlar, marka üretim yerleri

12	Mikrodalga fırın	Hisense	Türkiye
13	Otoklav	Hirayama	Japonya
14	Yatay çalkalayıcı	J.P. SELECTA	İspanya
15	Spektrofotometre	Eppendorf	Almanya
16	UV translüminatör	UVPBioChemisystem	ABD
17	Hassas terazi	Shimadzu	Japonya

3.3. Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler Tablo 3.3’ de verilmektedir.

Tablo 3.3 Kullanılan kimyasal maddeler, marka ve üretim yerleri

No	Kimyasal Maddeler	Marka	Üretim Yeri
1	Etidyum Bromid	Sigma	Almanya
2	Nükleik asit boyası	GenetBio	Kore
3	İzopropanol	Sigma	Almanya
4	Bağlayıcı silan	Promega	Almanya
5	Gelsave	Merck	Almanya

6	MgCl ₂	Fermentase	ABD
7	Tris	Fermentase	ABD
8	dNTP	Fermentase	ABD
9	Taq DNA polimeraz	Fermentase	ABD
10	Agaroz	Prona	İspanya
11	EDTA	Merck	Almanya
12	100 bç lik markır	Fermentase	ABD
13	Bromofenol Mavisi	Merck	Almanya
14	Orange G	Sigma	Almanya
15	Etil alkol	Sigma	Almanya

3.4. Çözeltiler

Çalışmada kullanılan çözeltiler ve içerdiği bileşenler Tablo 3.4' de verilmektedir.

Tablo 3.4 Kullanılan çözeltiler ve kimyasal bileşenleri

No	Çözeltiler	Bileşenler
1	10X TBE	108,9 g Tris
		55 g boric asit
		9,37 g EDTA
		1000 ml distile su
2	6X Orange G yükleme boyası	% 60 gliserol
		15% Orange G
		10 mM Tris – HCl pH 7,6
		60 mM EDTA
3	Etidyum bromid	0,5 Etidyum bromid
		1 ml distile su

3.5. Mutasyon Analizi

3.5.1. DNA İzolasyonu

Periferal Kandan ve FFEP örneklerinden DNA PureLink™ genomik DNA mini kit (ThermoFisher, ABD) kullanılarak izole edildi. Yöntemde üretici firmanın protokolü takip edildi. DNA konsantrasyonlarının kantitatif ve kalitatif ölçümleri NanoDrop (Biometrica-Tayvan) cihazı kullanılarak ede edildi.

3.5.2. Yeni Nesil Dizileme (NGS)

Kütüphane oluşturmak için Twist Human Core Exome Enzymatic Fragmentation (EF) Multiplex Complete kiti kullanıldı ve kütüphanenin MGI sistemi üzerinde sekanslamaya hazır hale gelmesi için MGIEasy FS DNA Library Prep Kit uygulandı. Kütüphane, 100X ortalama hedef kapsamı ile 150 bp çift uçlu okuma üreten DNA sekanslayıcıda (MGI-DNBSEQ-G400, Çin) dizilendi. FastQC ile Raw fastq dosyalarının kalite kontrolü yapıldı. Daha sonra okumalar Burrows-Wheeler Aligner (BWA) kullanılarak referans insan genomuna (hg19) göre hizalandı. Varyantlar Genom Analiz Araç Seti (GATK) ile tanımlandı.

3.5.3. *In silico* Analiz

Tespit edilen mutasyonların yapısal özelliklere ya da protein işlevine olan etkisini tahmin etmek için farklı *in silico* araçlar kullanıldı. Polymorphism Phenotyping (PolyPhen-2) ve Sorting Intolerant from Tolerant (SIFT) varyantların işlevsel etkilerini değerlendirmek için kullanıldı. Mutasyonun protein yapı ve işlevi üzerindeki etkilerini analiz etmek için Mutation Taster kullanıldı. Biyokimyasal mesafe skorunu hesaplamak için Align GVGD kullanıldı. Varyantların görselleştirilmesi için Integrative Genomic Viewer yazılımı (IGV) kullanıldı.

PolyPhen, amino asit ikamesinin neden olduğu yapısal özellikleri ve dizi hizalama değişikliklerini bulmak için tahminler verir. PolyPhen, bir allel değişikliğinin işlevsel önemini tahmin eder. 0,0 puana sahip varyantların iyi huylu olduğu, 0,15-0,85 puanın muhtemelen zarar verici olduğu tahmin edilirken, 0,85'in üzerindeki puanların zararlı olduğu daha kesin olarak kabul edilir.

SIFT, dizi homolojisini değerlendirerek varyantların fonksiyonel etkilerini değerlendirir ve türler arasındaki amino asit kalıntıların korunma derecesini araştırır. SIFT, bir proteindeki amino asit değişiminin fenotipik bir etkiye sahip olup olmayacağını tahmin eder. 0,05'ten büyük veya ona eşit puanların tolere edileceği, 0,05'ten küçük puanların ise zararlı olacağı tahmin edilmektedir. XRCC2' nin bir

varyantında tolere edilen etkileri ve bazı varyantlarında zararlı etkileri SIFT ile tahmin edilmektedir.

MutationTaster, mutasyonun protein fonksiyonu ve yapısı üzerindeki etkisini değerlendirir. Ayrıca mRNA ifadesinin veya birleştirmenin etkisini de dikkate alır. Bir değişikliğin hastalık potansiyelini, hastalığa neden olan muhtemelen zararlı, hastalığa neden olan otomatik zararlı, muhtemelen zararsız polimorfizm ve otomatik zararsız polimorfizm olarak tahmin eder. Sonuçlar, XRCC2 varyantlarındaki polimorfizmi ve XRCC2 varyantlarında hastalığa neden olduğunu göstermektedir.

Align-GVGD, biyokimyasal mesafe skorunu (Grantham farkı (GD)) ve koruma skorunu (Grantham varyasyonu (GV)) hesaplar. Yer değiştirmeler, GD ve GV puanlarına göre, işlevi engelleme olasılığı en düşük olan C0'dan, işlevi engelleme olasılığı en yüksek olan C65'e kadar 7 sınıfta kategorize edilir.

3.6 Ekspresyon Analizi

3.6.1. RNA İzolasyonu

Meme dokusundan RNA örnekleri ticari izolasyon kiti (Thermofisher-ABD) kullanılarak üreticinin önerisi doğrultusunda yöntemler uygulanarak elde edildi. Total RNA konsantrasyonunun kalitatif ve kantitatif ölçümü Nano Drope (Biometrika, Tayvan) cihazı kullanılarak yapıldı.

3.6.2. Komplementer DNA Sentezi

İzole edilen mRNA'ların komplementer DNA (cDNA)'ya çevirimi Ipsogen RT Kit (Qiagen, GmbH, Almanya) kullanılarak yapıldı. Termal döngü cihazı olarak Mastercycler pro-PCR System (Eppendorf, Almanya) kullanıldı. Çalışma alanı %70 (v / v) etanolle temizlendi ve her aşamada filtreli steril uçlar kullanıldı. Kitin eriyen bileşenleri buzun üzerine alındı. Örneklerde DNA kontaminasyonunu araştırmak için reverse transkriptaz içermeyen kontrol reaksiyonu hazırlandı. Her örnek için total RNA konsantrasyonu farklı eşit olmadığından farklı miktarlarda RNA kullanıldı.

3.6.2.1. cDNA Sentez Aşamaları

Reaksiyon bileşenleri eritilip buz üzerine alındı. Örneklerde DNA kontaminasyonu olup olmadığını tespit etmek için Revers transkriptaz içermeyen bir kontrol reaksiyonu hazırlandı.

1- İki steril RNaz içermeyen tüpte aşağıdaki bileşenler aşağıda verilen miktarlarda karıştırıldı;

Total RNA.....	1 -6 µl
d(T)23VN (50 µM) primeri.....	2 µl
Nükleazsız H ₂ O.....	değişken
Toplam Hacim.....	8 µl

2- RNA 70 °C’ de 5 dakika denature edildi. Kısaca döndürülerek buz üzerine alındı. Bu aşama opsiyoneldir. Bu aşama uzun mRNA’lar ve CG içeriği fazla olan RNA bölgelerinde cDNA verimin arttırmaktadır.

3- Steril bir tüpe aşağıdaki bileşenler eklendi:

M-MuLV reaksiyon karışımı.....	10 µl
M-MuLV Enzim karışımı.....	2 µl

Negatif kontrol tüpüne aşağıdaki bileşenler eklendi:

M-MuLV reaksiyon karışımı.....	10 µl
dH ₂ O.....	2µl

4- 20 µL cDNA sentez reaksiyonu 42 °C’ de 1 saat inkübe edildi. Eğer Random Primer kullanılırsa 42 °C’deki inkübasyon aşamasından önce 25 °C’ de 5 dakika ön inkübasyon önerilmektedir.

5- Enzim 80 °C’ de inaktif olur ve reaksiyon 30 µl H₂O ile 50 µl’ ye dilüe edildi. Ürün 20 °C’ de saklandı. PCR amplifikasyon deneyleri için cDNA ürün hacmi PCR reaksiyon hacminin 1/10’ unu geçmemelidir.

3.6.3. Primer Dizaynı

Primer, sıklıkla DNA sentezi için başlangıç noktası olarak kullanılan bir nükleik asit zinciridir. Genomik ile ilgili olarak bir primer, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi belirli laboratuvar tekniklerinde kullanılan kısa, tek sarmallı bir DNA parçasıdır. PCR yönteminde bir çift primer, örnek DNA ile hibridize olup çoğaltılacak bölgeyi tanımlar ve çok kısa bir zaman diliminde milyonlarca, milyonlarca kopya elde edilir (<https://www.genome.gov>). Gen ifadesi için tasarlanan primerler hedef genin ifade edilip edilmediğini anlamak için genin kodlanan bölgesinin herhangi bir kısmından alınabilir. Dizideki primerlerin seçimi hedef bölgeye dayanmaktadır. XRCC2/Exp için bir çift mRNA dizi primeri tasarlandı. Bunun için primer dizayn programı olan

<http://workbench.sdsc.edu> web adresinden yararlanıldı. Tablo 3.5’ te primerlerin dizisi, bağlanma sıcaklıkları ve PCR ürünlerinin uzunluğu gösterilmektedir.

Gen ekspresyonuna yönelik primerlerin, genin kodlama bölgelerinde herhangi bir yerde nasıl eksprese edildiğini bilmesi gerekmektedir. Primer dizaynında önemli olan spesifik RNA’ yı kodlamak olduğu için ilgili RNA ürünü dışında herhangi bir ürünün kopya sayısının artmasını önlemek için bir veya iki ekzon-ekzon bağlantı bölgesini içermesine dikkat edilmelidir. Çünkü amplifikasyonu olan ürünün seçilen spesifik RNA ürünü mü yoksa kontaminasyondan kaynaklı mı olduğundan emin olunması gerekmektedir.

Tablo 3. 5 XRCC2/Exp primer dizileri, PCR ürün büyüklükleri ve optimal bağlanma Sıcaklığı

Gen Adı	Primer dizisi	Optimal bağlanma sıcaklığı	PCR ürün büyüklüğü
XRCC2	İleri Primer TGTTTGCTGATGAAGATTCAC	59.2 °C	255 bç
	GeriPrimer TCGTGCTGTTAGGTGATAAAGC		
GAPDH	İleri Primer GGTCCACCACCCTGTTGCTGT	59.4 °C	456 bç
	Geri Primer AGACCACAGTCGATGCCATCAC		

3.6.4. PCR Optimizasyonu

Primer bağlanma sıcaklığını belirlemek amacıyla yapılan PCR gradian çalışmasında bir cDNA örneği kullanıldı. Amplifikasyon için termal döngü cihazı olarak ABI Vertti PCR System (ABI, ABD) kullanıldı. Primer için optimum erime sıcaklığının belirlenmesi agaroz jel elektroforezindeki verime bağlı olarak değerlendirildi. Gradyan PCR reaksiyon bileşenleri Tablo 3.6’ da verilmektedir.

Tablo 3.6 PCR Reaksiyonu Bileşenleri ve 25µL toplam hacimdeki miktarları

No	Kimyasal Bileşenler	Miktar (µL)
----	---------------------	-------------

1	dH ₂ O	15
2	10X PCR tampon amonyum sülfat (NH ₄) ₂ SO ₄	2.75
3	25 mM MgCl ₂	2
4	2 mM dNTP	1.5
5	20 mM (İleri primer)	1
6	20 mM (Geri primer)	1µL
7	5 U/ML Taq DNA polimeraz	0,125 µL
8	Kalıp cDNA	1.5µL

Tablo 3.7’ de gösterilen her parametre termal döngü sisteminde 40 döngü olarak tamamlandı.

Tablo 3.7. Gradyan PCR Reaksiyon aşamaları

No	Aşama	Sıcaklık	Süre
1	Ön-denatürasyon	94°C	7 dakika
2	Denatürasyon	94°C	40 saniye
3	Primer bağlanma	55°C - 60°C	40 saniye
4	Uzama	72°C 40 döngü	40 saniye
5	Son Uzama	72°C	5 dakika
6	Saklama	4°C	∞

Son ürün etidyum bromid ile boyanan %2’ lik agaroz jel elektroforezinde tespit edildi. Jel 100 volta 60 dakika yürütüldü. cDNA bantları UV ışık altında incelendi. Optimum sıcaklık bağlanma sıcaklığı olarak kabul edildi. XRCC/Exp geni primer bağlanma sıcaklığı Şekil 3.1’ de yer alan jel elektroforez görüntüsünde gösterildiği üzere 59,2 °C olarak tespit edildi.

3.6.5. GAPDH Amplifikasyonu

“Housekeeping” olarak bilinen endojen kontrol genleri, bir türün veya organizmanın bütün hücreleri için değişmeyen seviyelerdeki ekspresyonları olan genlerdir. Bununla

birlikte, housekeeping genlerinin moleküler biyoloji analizlerinde kullanımı, ekspresyon seviyelerinin hücreden hücreye, numuneden numuneye, tedaviden tedaviye ve/veya kişiden kişiye aynı kalması gerçeğine dayanmaktadır. Bundan dolayı hücredeki diğer genlerin ekspresyon seviyeleri housekeeping genlerle kıyaslanabilir ve bu şekilde ekspresyonları deneylerde kontrol amacıyla kullanılırlar. Yani gen ekspresyon çalışmalarında çalışılan doku ve hücrelerde asıl gene referans olarak kullanılmasına ve yorumlanmasını kolaylaştırır. Bu şekilde verilerin güvenilirliğini sağlarlar. β -aktin, α -tübülün gibi hücre iskeleti proteinleri ve glikoliz enzimi olan GAPDH, en yaygın kullanılan housekeeping genleridir (Ağaoğlu ve Sidekli, 2020). Bu analizde, XRCC2 olan hedef genlerin mRNA ekspresyon miktarını tahmin etmek için housekeeping gen olarak GAPDH kullanıldı.

3.6.6. Agaroz Jel Elektroforezi

Elektroforez, bir karışımındaki parçacıkları ayırt etmek için çeşitli elektrik yüklerini uygulayan bir tekniktir ve proteinler ve nükleik asitler gibi makromoleküller bu yöntemle ayrıştırılabilir, saflaştırılabilir ve tanımlanabilir. DNA molekülleri negatif yüklere maruz kalır (Lee vd, 2012). Pozitif kutba doğru hareket eden bir elektrik alanında bulunurlar. Bir molekülün elektroforetik ortamdaki göç hızı iki ayrı faktöre bağlıdır: molekülün yapısı ve kütlesi. Kütlesi fazla olan daha yavaş hareket ederek jel üzerinde ayrışması daha uzun sürmektedir. Örneğin, baz çifti miktarı fazla olan PCR ürünü jel üzerinde daha yavaş göç eder. Benzer şekilde DNA' nın düz zincir ya da sarmal yapısı elektroforetik alandaki göç hızını etkilemektedir.

Bu çalışmada primer, agaroz jel elektroforezi kullanılarak optimize edildi. cDNA örnekleri %2 agaroz jelde yürütüldü ve DNA'nın UV ışığı altında görülebilmesini sağlayacak bir madde ile boyandı. cDNA'yı görünür kılmak için interkalasyon ajanı olarak etidyum bromür (EtBr) kullanıldı. Elektrik akımı içeren alanda cDNA örnekleri 100 voltta 60 dakikaya kadar elektroforezlendi. PCR ürün uzunluğu 310 bp olarak kullanılmıştır.

3.6.7. Gerçek Zamanlı PCR (RT-PCR)

Gerçek Zamanlı PCR tekniği, DNA bağlayıcı boyaların amplifikasyondan sonra sürekli olarak kullanılmasına olanak tanır. SYBR Green bu tür amaçlar için en sık kullanılan renklendiriciler arasındadır. Çift sarmallı DNA bileşiklerine bağlanır ve floresan ışımaya yayar. SYBR Green'in DNA'ya bağlanma yoğunluğu, hedef DNA çift sarmallı hale geldiğinde artar ve böylece primerin bağlanmasından sonra gerçekleşen uzama aşamasında floresans emisyonunun arttığı görülür.

SYBR Green sadece çift iplikli DNA' ya bağlanan bir boyadır. Primerlerin bağlanmasını takiben gerçekleştirilen polimerizasyon aşamasında hedef DNA'nın çift sarmal hale gelmesiyle DNA'ya bağlanan boya miktarı artar ve buna bağlı olarak yayılan ışımada artış gözlenir. SYBR Green boyasından alınan ışımada sınır değeri aştığı noktaya "Ct değeri" denilmektedir (Stephenson, 2010). Bu noktada hedef DNA çoğalmaya başlamıştır. Elde edilen floresanın istenen hedef bölgenin amplifikasyonu ile mi gerçekleştiği, yoksa non-spesifik bir ürün mü olduğunu anlayabilmek için "melting curve" (erime eğrisi) analizi yapılır. Çünkü SYBR Green belirli bir DNA molekülüne bağlanan özgül bir boya değildir ve primer dimerleri gibi tüm çift iplikli DNA moleküllerine bağlanabilmektedir (Buckingham, 2007).

3.6.8. RT-PCR Bileşenleri

RT-PCR, RotorGene 5 plex (Qiagen, Almanya) cihazı kullanılarak çalışıldı. XRCC2 gen ekspresyonu tayini için RT2 SYBR Green ROX FAST Mastermix (Qiagen GmbH, Almanya) reaksiyon karışımı kullanıldı. Real-Time PCR reaksiyon karışımı Tablo 3.8' de belirtilen miktarlarda buz üzerinde hazırlandı. Sonrasında karıştırılarak buz üzerine alındı. RT-PCR reaksiyon karışımı mRNA ekspresyonunun hesaplamak için gerekli olan cDNA ve primerler dışındaki PCR tampon, SYBR Green boya, DNA polimeraz gibi diğer tüm bileşenleri içermektedir.

Tablo 3.8 XRCC2 ekspresyon seviyelerini ölçmek için uygulanan RT-PCR reaksiyon bileşenleri

No	Bileşen	Miktar (µl)
1	RT ² SYBR Green ROX FAST Master Mix	10.5
2	İleri Primer (10 µM)	1
3	Geri Primer (10 µM)	1
4	RNAz/DNAz içermeyen su	15.5
5	cDNA (50 ng)	2.5
6	Toplam	30

cDNA RT-PCR reaksiyon karışımını içeren her tüpe eklendi. Tüpler dikkatlice karıştırıldı, 12.000xg' de 1 dakika santrifüj edildi ve tekrar buz üzerine konuldu.

RotorGene 5 plex cihazında kaydedilen program yürütüldü (Qiagen, Almanya) (Tablo 3.9).

Tablo 3.9 XRCC2 ekspresyon seviyesini belirlemek için RT-PCR koşulları

No	Aşama	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü
1	Enzim aktivasyonu	94	10 dakika	x40
2	Denatürasyon	94	10 saniye	
3	Primer bağlanma	59.2	40 saniye	
4	Uzama	72	40 saniye	

3.6.9. İstatistiksel Analiz

Bağıl nicelik ölçülen RT-PCR üç kopya halinde gerçekleştirildi. Değerler, XRCC2 için eşik döngüsü (Ct) olarak elde edildi ve housekeeping gen kullanılarak sırasıyla normalleştirildi. Tümör ve normal örneklerdeki XRCC2 ifadelerindeki bağıl değişiklikleri (housekeeping genine veya internal kontrole göre gen ifadesi) ayrı ayrı hesaplamak için $2^{-\Delta C_t}$ yöntemi kullanıldı. qRT-PCR sonuçlarına göre dokular arası istatistiksel karşılaştırmada $2^{-\Delta \Delta C_t}$ formülü kullanıldı. Bu değer, kontrol örneğine dayalı olarak ilgili genin meme kanseri dokusundaki ekspresyon düzeyindeki artış ya da azalış hakkında bilgi verdi. İstatistiksel analiz için SPSS 22.0 yazılımı (SPSS, Chicago, ABD) kullanıldı. Araştırma verilerinin değerlendirilmesinde normal dağılım gösteren parametrelere sahip iki grubun karşılaştırılmasında student's t testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık $p < 0.05$ ' te kabul edildi.

3.7. Metilasyon Analizi

XRCC2 promotör bölgesinin DNA metilasyon analizi, metilasyona duyarlı restriksiyon enzimi kesimi PCR (MSRE-PCR) kullanılarak yapıldı. Bu yöntem genomic DNA' nın metilasyona duyarlı restriksiyon enzimi ve gen spesifik primerlerle PCR uygulamasına dayanmaktadır. Thermo Scientific EpiJET Metilasyon Analiz Kiti (MspI/HpaII) kullanılarak belirli bir lokustaki DNA metilasyon durumu değerlendirildi. Metilasyona duyarlı restriksiyon enzim kesimi, Epi MspI ve Epi HpaII (metilasyona karşı farklı hassasiyete sahip izoşizomerler) enzimleri ile 1 µg DNA' nın

1 gece boyunca muamele edilmesi ile gerçekleştirildi ve sonrasında CpG adaları içinde yer alan genomik parçaları çoğaltmak için tasarlanmış gene spesifik primerlerle

yapılan PCR ile örneklerin amplifikasyonu gerçekleştirildi. Primer3 yazılımı kullanılarak XRCC2 geni için primer tasarımı yapıldı ve primer dizileri şu şekildedir: XRCC2-M ileri primer dizilimi: 5'-TTGCTGCCATGCCTTACAGA-3', XRCC2-M geri primer dizilimi: 5'- TGGATAGACCGCGTCAA-3'. Metilasyon yüzdesi üreticinin talimatlarına göre hesaplandı. Metillenmiş bir numuneyi adlandırmak için %20'lik bir sınır değeri kullanıldı.

3.8. XRCC2 Gen Etkileşimleri Analizi

GeneMANIA, gen fonksiyonunu tahmin etmek için gerçek zamanlı bir çoklu ilişki ağı entegrasyon algoritmasıdır. XRCC2 geni ve Protein-Protein etkileşimi bu araçla hesaplandı.



BÖLÜM 4

BULGULAR

4.1. Total DNA Miktarı ve Kalitesi ile İlgili Bulgular

Meme kanseri hastalardan alınan meme tümörlü dokulardan elde edilen total DNA miktarları ve DNA' nın saflığı ile ilgili bilgi veren A260/280 oranları Tablo 4.1' de verilmiştir. A260/280 oranı saf DNA için yaklaşık 1.8 olmalıdır. Bulgularımız elde edilen DNA' ların saf olduklarını gösterir niteliktedir.

Tablo 4.1 Total DNA ölçümü ve kalitesi

Örnek	Konsantrasyon ng/μL	A260/280	Örnek	Konsantrasyon ng/μL	A260/280
1	76	1.7	23	70	1.8
2	94	1.77	24	91	1.73
3	160	1.68	25	154	1.7
4	246	1.82	26	144	1.9
5	68	1.7	27	202	1.77
6	77	1.8	28	100	1.73
7	92	1.9	29	108	1.81
8	111	1.68	30	200	1.8
9	175	1.71	31	75	1.78
10	83	1.7	32	88	1.74

11	96	1.9	33	83	1.77
12	72	1.8	34	107	1.66
13	169	1.66	35	89	1.85
14	93	1.7	36	92	1.8
15	78	1.81	37	196	1.9
16	99	1.7	38	93	1.8
17	72	1.72	39	88	1.75
18	163	1.6	40	75	1.68

Tablo 4.1 (devamı) Total DNA ölçümü ve kalitesi

19	200	1.58	41	70	1.81
20	301	1.7	42	126	1.7
21	150	1.81	43	158	1.72
22	85	1.8	44	95	1.8

4.1.1 * Bu mutasyon meme kanserinde ilk kez bu çalışmada gözlenmiştir.

Tablo 4.2 Meme kanseri hastalarında tanımlanan XRCC2 mutasyonları

SNP Adı	Allel Değişimi	Aminoasit Değişimi	Moleküler sonuç	Yorumu	SIFT Tahmini	PolyPhen Tahmini
*	c.134A>C	p.Glu45Gly	Yanlış anlamlı	Belirsiz önem	Zararlı	NA
rs730882043	c.271C>T	p.Arg91Trp	Yanlış anlamlı	Belirsiz önem	Zararlı	Muhtemel zararlı
rs140214637	c.283A>C	p.Ile95Val	Yanlış anlamlı	Belirsiz önem	Tolere edilebilir	İyi huylu
rs746142129	c.651_652del	p.Cys217_Asp218delinsTer	Çerçeve kayması: anlamsız	Muhtemel patojenik	NA	NA
rs769829135	c.582G>T	p.Thr194	Sessiz	Muhtemel iyi huylu	NA	NA
rs569810249	c.181C>A	p.Leu61Ile	Yanlış anlamlı	Belirsiz önem	Zararlı	Muhtemel zararlı
rs768232997	c.-1G>A	-	5' UTR	Belirsiz önem	NA	NA

4.3. Total RNA Miktarı ve Kalitesi ile İlgili Bulgular

Meme kanseri hastalardan alınan meme tümör ve normal dokulardan elde edilen total RNA miktarları ve RNA' nın saflığı ile ilgili bilgi veren A260/280 oranları Tablo 4.1' de verilmiştir. A260/280 oranı saf RNA için yaklaşık 2 olmalıdır. Bulgularımız elde edilen RNA' ların saf olduklarını gösterir niteliktedir.

Tablo 4.3 Total RNA ölçümü ve kalitesi

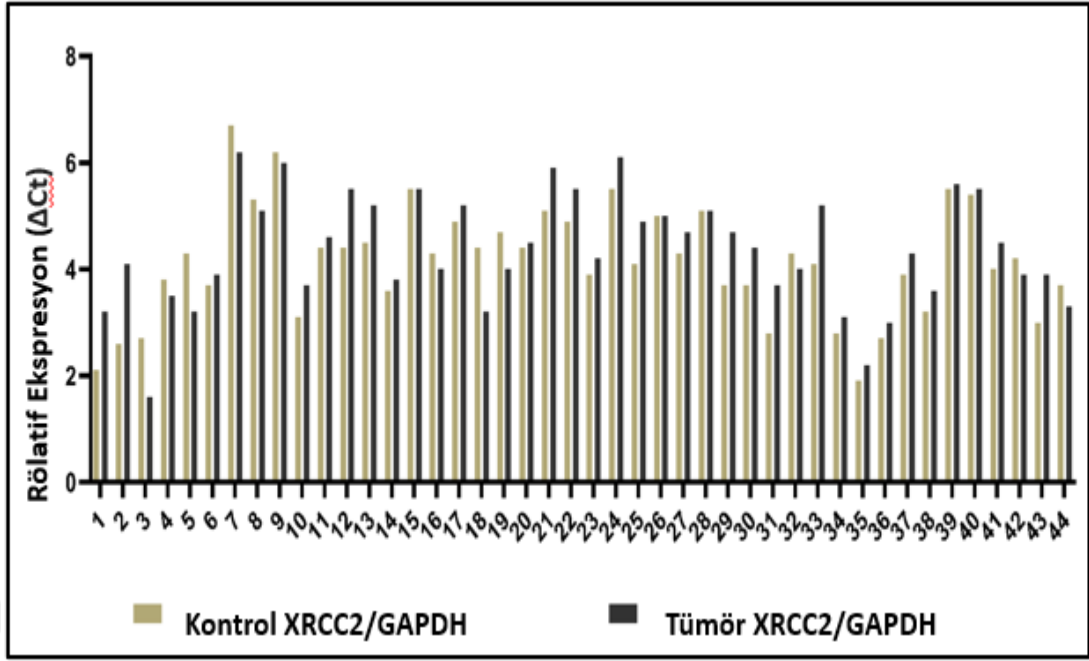
Örnek	Konsantrasyon ng/μL	A260/280	Örnek	Konsantrasyon ng/μL	A260/280
1N	34.2	2.1	13N	57.2	2.1
1T	71.3	2.0	13T	86.3	1.9
2N	39.3	2.0	14N	71.1	2.0
2T	58.2	2.2	14T	73.9	2.0
3N	75.3	2.1	15N	78.0	2.0
3T	63.3	1.89	15T	172.9	1.9
4N	13.6	2.0	16N	45.3	1.7
4T	102.9	2.0	16T	59.0	1.8
5N	114.3	2.0	17N	99.8	1.9
5T	201.4	2.0	17T	54.8	2.0
6N	33.2	2.2	18N	87.2	1.9
6T	27.9	1.9	18T	89.2	2.0
7N	21.3	2.0	19N	91.4	2.0
7T	36.9	2.0	19T	87.4	1.8
8N	98.1	2.0	20N	97.8	1.8
8T	87.4	2.0	20T	83.2	1.9
9N	151.1	1.8	21N	85.9	2.1
9T	100.1	1.8	21T	76.6	1.9
10N	123.1	2.0	22N	98.5	2.1
10T	89.7	2.0	22T	43.9	2.0
11N	39.8	2.0	23N	49.0	2.1
11T	202.4	2.0	23T	37.9	2.0
12N	233.5	2.0	24N	44.6	2.1
12T	38.1	2.0	24T	49.2	2.0

Tablo 4.3 (devamı) Total RNA ölçümü ve kalitesi

Örnek	Konsantrasyon ng/μL	A260/280	Örnek	Konsantrasyon ng/μL	A260/280
25N	53.9	1.9	35N	87.3	2.0
25T	61.1	1.9	35T	73.7	2.0
26N	69.3	2.1	36N	68.2	2.0
26T	88.9	1.9	36T	163.9	2.0
27N	49.9	1.9	37N	46.2	2.0
27T	48.3	2.0	37T	93.2	1.8
28N	16.8	1.9	38N	71.8	1.99
28T	49.3	1.9	38T	57.2	2.0
29N	138.8	2.0	39N	81.3	1.92
29T	73.8	2.0	39T	78.2	1.89
30N	38.6	2.0	40N	36.8	1.9
30T	92.7	2.1	40T	98.7	2.1
31N	109.4	1.9	41N	38.2	2.0
31T	19.5	1.9	41T	29.1	2.1
32N	73.0	2.0	42N	41.1	1.99
32T	98.9	1.8	42T	36.3	2.0
33N	37.0	1.8	43N	37.1	2.1
33T	69.2	1.9	43T	92.4	2.1
34N	79.1	2.0	44N	87.1	2.0
34T	57.2	1.9	44T	81.2	2.1

4.4. XRCC2 Geni mRNA Ekspresyon Bulguları

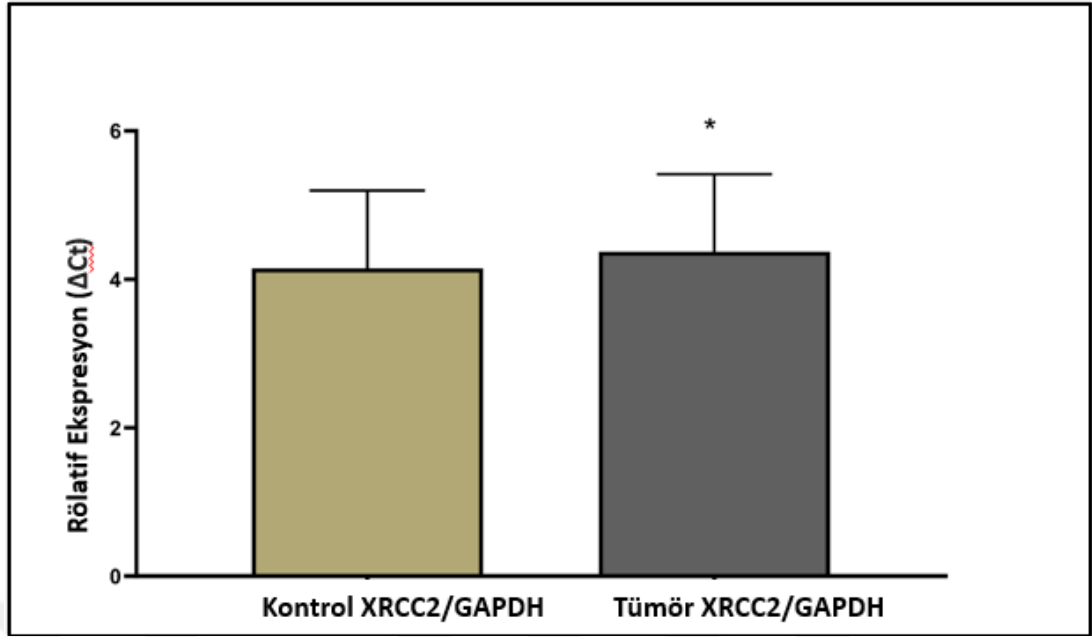
44 kanser hastası için XRCC2 geninin mRNA ekspresyon hızı hem normal dokular hem de kanserli dokular için yapıldı. Ayrıca, Şekil 4.1'de gösterildiği gibi normal kontroller ve tümörler arasındaki karşılaştırmada her hastanın ekspresyon düzeyinin farklı olduğu belirlenmiştir.



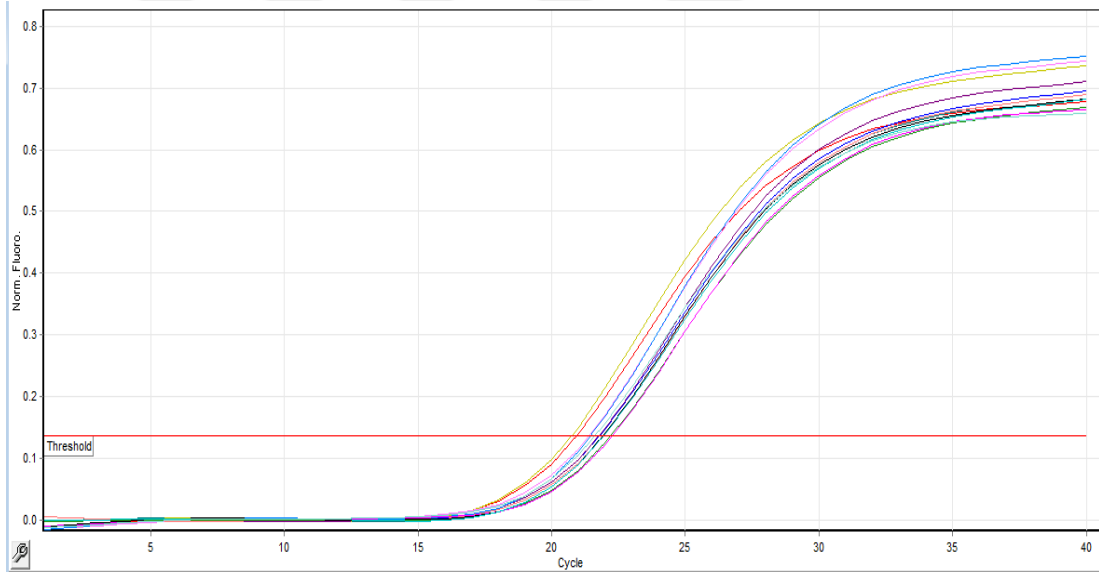
Şekil 4.1 XRCC2 geninin ΔC_t ' sine göre hem kontrol hem de tümörler için mRNA'nın ekspresyon oranı.

4.4.1 RT-PCR Bulguları

İfade düzeyi RT-qPCR ile değerlendirildi. Tümör örneklerinde XRCC2 geninin ekspresyonunun normal doku örneğine göre önemli ölçüde arttığı tespit edildi. Bu verileri istatistiksel olarak çok önemli bulunmuş ($p < 0,0001$) ve RT-qPCR değerlendirmesinin XRCC2 gen ekspresyonunun önemli ölçüde arttırmasının anlamlı olduğu şeklinde değerlendirilmiştir. Şekil 4.2, hem normal kontrollerde hem de tümörlerde mRNA'nın ekspresyon seviyesinin istatistiksel sonuçlarını ortaya koymaktadır. RT-PCR sonucu elde edilen amplifikasyon eğrisi ise Şekil 4.3' de; primerlere doğru bağlanmanın gerçekleştiğini ve yapılan analizin güvenilirliğini ortaya koyan erime eğrisi grafiği Şekil 4.4' de yer almaktadır. Erime eğrisinin tek tepe degree sahip olması primer dimerlerinin olmadığı ve doğru bölgeden bağlandığını ortaya koymaktadır.



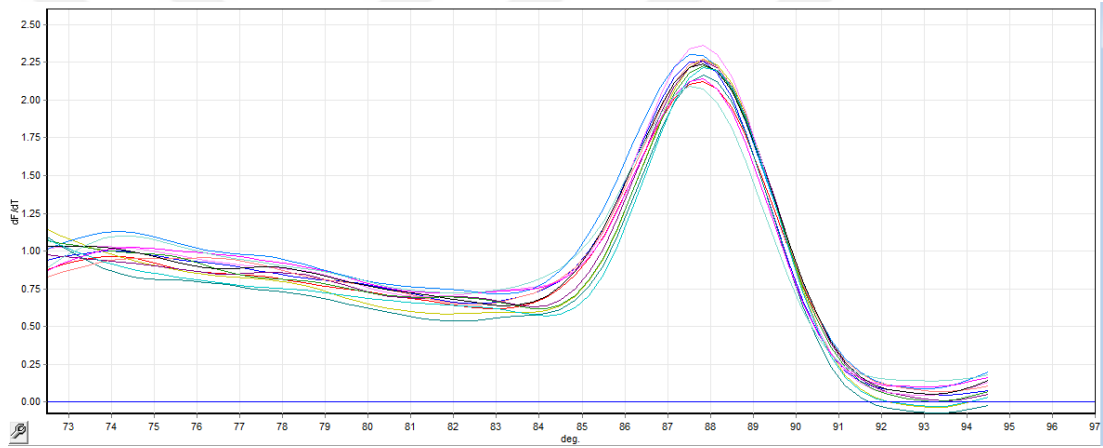
Şekil 4.2 Kontrol ve tümör mRNA' sının ekspresyon seviyelerinin istatistiksel sonuçları.



Şekil 4.3 XRCC2 ekspresyonunun RT-PCR daki amplifikasyon eğrisi

Tablo 4.4 Katılımcıların yaş ile XRCC2 gen ekspresyonu arasındaki ilişki ile ilgili bulgular

Yaş (yıl)	Sayı (%)	XRCC2 Ekspresyonu (p-değeri)	Farklılıkların ortalaması	Farklılıkların SD değeri	Farklılıkların SEM değeri
<40	13 (29.54)	0.8149	0.050	0.7832	0.2093
40- 55	20 (45.45)	0.0392	0.0280	0.5653	0.1264
> 56	11 (20.45)	0.0191	0.3200	0.3553	0.1123



Şekil 4.4 XRCC2 ekspresyonunun RT-PCR daki erime eğrisi

4.4.2 İstatistiksel Analiz Bulguları

XRCC2 ekspresyonunun istatistiksel önemi yaşa (Tablo 4.3), kanser derecesine (Tablo 4.4) ve meme kanseri türlerine (Tablo 4.5) göre değerlendirilmiştir. SEM: Ortalamaların standart hatası, SD: Ortalamaların standart sapması

XRCC2 ekspresyonundaki artış 40-55 yaş ve > 56 yaş grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Ancak 40 yaşın altındaki kanser hastalarında azalmanın anlamlı olmadığı görülmüştür ($p > 0.05$). Ayrıca meme kanseri derecesi II ve III olan hastalarda XRCC2 ekspresyonunun önemli ölçüde arttığı bulundu ($p < 0.05$). Ancak kanser derecesi I olan hastalardaki azalma istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır.

Kanser evresi	Sayı (%)	XRCC2 Ekspresyonu (p-değeri)	Farklılıkları n ortalaması	Farklılıkları n SD değeri	Farklılıklarn SEM değeri
I	9 (20.45)	0.8273	-0.06667	0.8874	0.2958
II	18 (40.9)	0.0013	0.3722	0.4099	0.09661
III	17 (38.63)	0.0051	0.2412	0.5789	0.1404

Tablo 4.5 Katılımcıların meme kanser evresi ile XRCC2 gen ekspresyonu arasındaki ilişki ile ilgili bulgular

SEM: Ortalamaların standart hatası, SD: Ortalamaların standart sapması

Tablo 4.6 Meme Kanseri türü ile XRCC2 gen ekspresyonu arasındaki ilişki ile ilgili

Meme kanseri türü	Sayı (%)	XRCC2 Ekspresyonu (p-değeri)	Farklılıklarn ortalaması	Farklılıklarn SD değeri	Farklılıklarn SEM değeri
İnvaziv duktal karsinom	22 (50)	0.0006	0.3682	0.4247	0.09055
Medullar benzeri karsinom	10 (22.72)	0.8088	0.0500	0.6346	0.2007
Matriks üreten metaplasti	12 (27.27)	0.6647	0.1083	0.8426	0.2432

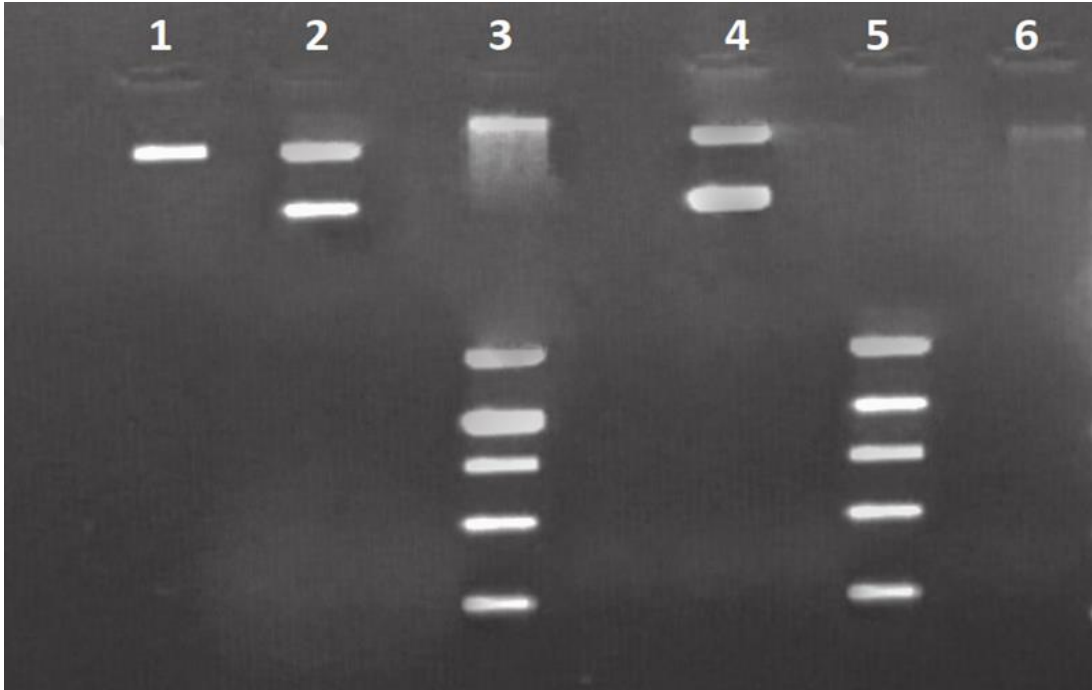
bulgular

SEM: Ortalamaların standart hatası, SD: Ortalamaların standart sapması

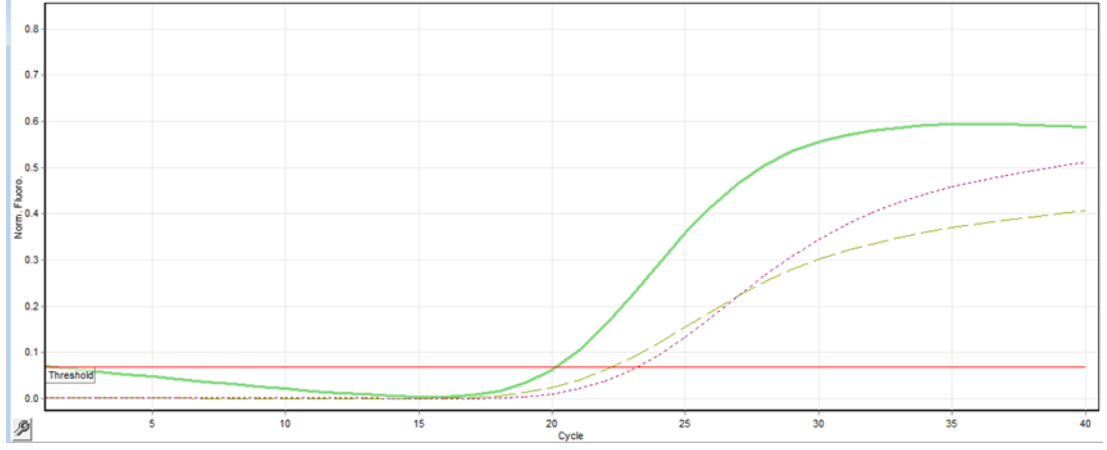
İnvaziv duktal karsinom tipinde XRCC2 ekspresyonunun artışı anlamlı bulundu ($p<0.05$). Ancak bu artış Karsinoma Medüller benzeri ve Matriks üreten metaplastik hastalarda anlamlı değildi ($p>0.05$).

4.5. XRCC2 Geni Metilasyon Bulguları

Bu çalışmada, patofizyolojik ve prognostik önem bağlamında insan meme kanserinde seçilen DNA onarım geni XRCC2'nin DNA metilasyonu araştırıldı. Tümör dokusundaki genel metilasyon oranları XRCC2 geni için %7 bulundu. Ancak XRCC2 promotör metilasyonuna dair bir kanıt bulunamadı. Metilasyon analizinde kullanılan kesim enzimleri ile muamele sonucu elde edilen DNA fragmentlerine ait jel görüntüsü Şekil 4.5' de yer almaktadır. Yine Şekil 4.6' da XRCC2 geni metilasyon analizinin kantitatif olarak gösterimi bulunmaktadır. MspI ve HpaII ile kesilen örnekler arasındaki ct farkının anlamlı ve 4,7'den az (kısmen metillenmiş) olduğu hesaplandı. Son olarak formül kullanılarak gen metilasyon yüzdesi %7 olarak hesaplandı.



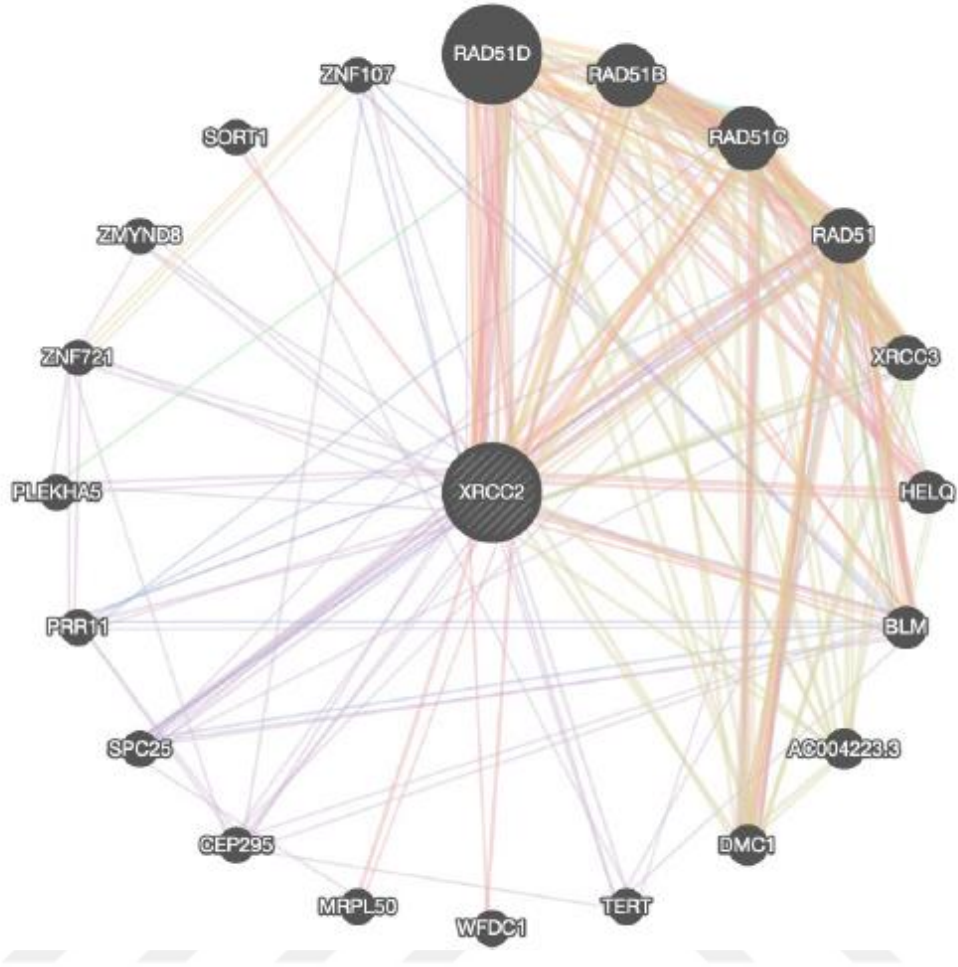
Şekil 4.5. Genomik ve kontrol DNA' nın Epi MspI ve Epi HpaI ile kesimi (1. dizi: Kesilmeyen genomik DNA, 2. dizi: Epi HpaI ile CpG metillenen kontrol pUC19/SmaI DNA, 3. dizi: Epi MspI ile CpG metillenen kontrol pUC19/SmaI DNA, 4. dizi: Kesilmeyen Genomik DNA ve plasmid control, 5. dizi: Epi MspI ile metillenmeyen control pUC19/SmaI DNA, 6. dizi: Kesilemeyen genomik DNA)



Şekil 4.6 Kantitatif XRCC2 metilasyon durumu. Yeşil eğri "Kesilmemiş DNA" yı, Noktalı eğri "Epi HpaII ile Kesilmiş DNA" yı ve Kesikli çizgi "Epi MspI ile Kesilmiş DNA" yı gösterir.

4.6. XRCC2 Gen Etkileşim Bulguları

GeneMANIA veri tabanı kullanılarak XRCC2 geninin etkileşimde olduğu genler ve protein-protein etkileşimi Şekil 4.7' de verilmiştir. Tablo 4.6' da ise XRCC2' nin etkileşimde olduğu bu genlerin açıklaması yer almaktadır.



Bağlantılar

- Fiziksel Etkileşimler
- Ortak ekspresyon
- Tahmin edilen
- Ortak lokalizasyon
- Genetik Etkileşimler
- Yolak
- Paylaşılan protein domainleri

Şekil 4.7 XRCC2 gen etkileşimleri

Tablo 4.7 XRCC2 ile etkileşimi bulunan genlerin tanımlaması

Genler	Tanımı
XRCC2	X-ışını onarımı çapraz tamamlayıcı 2
RAD51D	RAD51 paralog D
RAD51B	RAD51 paralog B
RAD51C	RAD51 paralog C
RAD51	RAD51 rekombinaz
XRCC3	X-ışını onarımı çapraz tamamlayıcı 3
HELQ	helikaz, POLQ benzeri
BLM	BLM RecQ-benzeri helikaz
AC004223.3	RAD51L3-RFFL okuması
DMC1	DNA mayotik rekombinaz1
TERT	Telomeraz ters transkriptaz
WFDC1	WAP dört-disülfid merkez domain 1
MRPL50	mitokondriyal ribozomal protein L50
CEP295	sentrozomal protein 295
SPC25	NDC80 kinetokor kompleksi bileşeni
PRR11	Prolin zengin gen 11
PLEKHA5	A5 içeren pleckstrin homoloji domaini
ZNF721	Çinko parmak proteini 721
ZMYND8	8 içeren çinko parmak MYND tipi
SORT1	Sortilin 1
ZNF107	Çinko parmak proteini 107

BÖLÜM 5

TARTIŞMA ve SONUÇ

Meme kanseri kadınlar arasında en sık görülen kanser türüdür. Dünya genelinde her yıl yaklaşık 2,3 milyon yeni meme kanseri vakası tespit edilmektedir. Meme kanseri için risk faktörlerinin prevalansı oldukça yüksektir ve hem değiştirilebilir hem de değiştirilemeyen faktörleri kapsamaktadır (Sung H vd, 2021).

Çoklu genetik mutasyonların meme kanserine karşı artan duyarlılıkla güçlü bir şekilde ilişkili olduğu tespit edilmiştir. BRCA1 ve BRCA2 güçlü bir penetrasyona sahip iki önemli gendir. ATM, PALB2, BRIP1 veya CHEK2 gibi çeşitli DNA onarım genlerinin BRCA genleriyle etkileşime girdiği ve meme kanseri gelişiminde rol oynadığı gösterilmiştir.

Bununla birlikte, bu genler BRCA1 veya BRCA2 ile karşılaştırıldığında daha düşük derecede etkiye (orta düzeyde penetrasyon) sahiptir (Shiovitz vd, 2015). Polonya'da yapılan araştırmalarda, XRCC2 genindeki mutasyonların meme kanserine karşı daha yüksek duyarlılıkla bağlantılı olabileceğini öne sürülmektedir (Park vd, 2012).

XRCC2 geni, homolog rekombinasyon adı verilen bir süreç yoluyla hasarlı DNA'nın onarılmasında rol oynayan proteinler üreten RAD51 gen ailesinin bir parçasıdır. Bu genler; RAD51B (RAD51L1 olarak da bilinir), RAD51C (RAD51L2 olarak da bilinir), RAD51D (RAD51L3 olarak da bilinir), XRCC2 ve XRCC3 genleridir. Her biri amino asit dizilimlerinde RAD51 ve birbirleriyle yaklaşık %25 benzerlik göstermektedir (Miller vd, 2004). Tüm RAD51 paralogları, homolog rekombinasyon yoluyla DNA çift sarmal kopmalarının etkili bir şekilde onarılması için gereklidir. Herhangi bir paralog azaldığı takdirde homolog rekombinasyonun sıklığında dikkate değer bir düşüş olması muhtemeldir. XRCC2, dört parçalı bir kompleks oluşturmak için ilgili üç paralog olan BCDX2 (RAD51B-RAD51C-RAD51D-XRCC2) ile birleşir. Ek olarak iki paralog, CX3 (RAD51C-XRCC3) adı verilen ayrı bir kompleks oluşturur. Bu iki kompleks, homolog rekombinasyonel DNA onarımının farklı aşamalarında işlev görmektedir. BCDX2 kompleksi, RAD51'in hasar bölgelerinde toplanmasından veya stabilizasyonundan sorumludur (Chun vd, 2013).

BCDX2 kompleksi, RAD51 nükleoprotein filamanının oluşumunu veya dayanıklılığını artırmada role sahiptir.

44 meme kanseri hastasında yürütülen bu çalışmamızda XRCC2 geninde oluşan mutasyonlar NGS yöntemiyle araştırıldı. Bu yöntemin uygulanmasının ardından söz konusu gende 7 adet mutasyon tespit edildi. Bu mutasyonların tümü heterozigot olarak bulundu. Patojenite açısından bu mutasyonlardan 5'i belirsiz öneme sahip bulunurken (c.134A>C, c.271C>T, c.283A>C, c.181C>A, c.-1G>A (5UTR varyantı)); c.651_652del mutasyonu ise muhtemel patojenik ve c.582G>T ise muhtemel iyi huylu olarak tespit edildi. Çalışmamıza paralel olarak Park ve arkadaşları tarafından yürütülen popülasyona dayalı vaka kontrol mutasyon tarama araştırmasında, 1.308 erken başlangıçlı meme kanseri vakasında patojenik olması muhtemel 6 kodlama varyasyonu tespit edildi. Buna karşılık 1.120 kontrolde hiçbir varyant bulunamadı. Bu varyantların önem derecesi $p < 0,02$ olarak belirlendi. Ayrıca birden fazla vakanın olduğu 689 ailede ek mutasyon taraması yapıldı ve meme kanserinden etkilenen on ailenin, XRCC2 geninde protein kesen veya muhtemelen zararlı, yaygın olmayan yanlış anlamlı mutasyonlara sahip olduğu belirlendi. XRCC2' nin bireyleri meme kanserine karşı daha duyarlı hale getiren bir gen olarak tanımlanması, homolog rekombinasyon-DNA onarımı ve Fanconi anemisindeki işlev bozukluğuyla bağlantılı meme kanseri sayısını artırmaktadır (Park vd, 2012).

c.134A>C mutasyonu bu popülasyonda bulunan belirsiz öneme sahip değişkenlerden biridir; XRCC2 geninin kodlayıcı ekson 3'ünde yer alan p.Glu45Gly varyantı (c.134A>C olarak da bilinir), 134. nükleotit pozisyonunda A'dan C'ye bir değişimden kaynaklanır. Kodon 45'teki glutamik asit, farklı özelliklere sahip amino asit olan glisin ile değiştirilir. In-silico testlerinin sonuçları şu şekildedir; bu amino asit pozisyonu korunmuş ve zararlıdır. Bu varyant hatalıdır ve kalıtsal kansere yatkınlık sendromu, neoplastik sendromlar, kalıtsal kansere yatkınlık sendromu, tümör yatkınlığı vb. durumlarla ilişkilidir. Bu mutasyon, yanlış anlamlı doğası ve temel genetik yapısı nedeniyle bu gende ilk kez rapor edilmiştir. Proteinin aminoasit dizisinde yarattığı değişiklikler nedeniyle bu proteinin fonksiyonunun bozulması beklenen sonuçlardandır. XRCC2 geni üzerinde tespit edilen bu mutasyon bu çalışma ile ilk kez ortaya konmuştur. Çalışmamız bu yönüyle özgün olup literature XRCC2 geni ile ilgili yeni bir mutasyon verisi kazandırma özelliğine sahiptir. Başka bir mutasyon, cDNA seviyesinde XRCC2 c.271C>T, protein seviyesinde p.Arg91Trp (R91W) olarak gösterilir ve bir argininin triptofana (CGG>TGG) değişmesiyle sonuçlanır. Bu varyant

meme kanseri ailelerinde gözlenmiştir; ancak bir ailede kanserle tamamen ayrılmamıştır (Park vd, 2012). Silico analizleri bu varyantın muhtemelen protein yapısına ve işlevine zarar verdiğini öngörmektedir. Bu değişiklik, önemli meme kanseri öyküsü olan iki Kafkasyalı ailede rapor edilmiştir (Hilbers vd, 2012). Bu değişikliğin ayrıca, üç tamamlama testinin ikisindeki performansına dayalı olarak XRCC2-DNA onarımı eksik fenotipleri geri yükleme konusunda orta derecede bir yeteneğe sahip olduğu da gösterilmiştir (Hilbers vd, 2012). Bu değişiklik, Birleşik Krallık'ta 13087 meme kanseri vakası ve 5488 kontrol bireyi üzerinde yapılan bir çalışmada en az bir meme kanseri hastasında rapor edilmiştir (Kluźniak vd, 2019). Bizim çalışmamızda ise yapılan in silico analizler neticesinde bu mutasyon yanlış anlamlı, belirsiz öneme sahip muhtemel zararlı olarak tespit edilmiştir. Bu amino asit pozisyonu mevcut omurgalı türlerinde yüksek oranda korunmuştur. Ek olarak, bu değişime ilişkin in silico tahminler kesin olmamakla beraber şu anda destekleyici kanıtlar sınırlı olduğundan, bu değişikliğin klinik önemi belirsizliğini korumaktadır.

c.283A>C bu çalışmada gözlemlenen bir diğer varyanttır. Bu mutasyon, 95. pozisyondaki izolösin amino asidinin valin amino asidi (p.Ile95Val) ile yer değiştirmesini içerir. Park ve ark. tarafından yürütülen bir çalışmada bu mutasyon bir erkek meme kanseri örneğinde tespit edilmiştir. Çalışmada bu değişikliğin oldukça zararsız bir yanlış anlamlı mutasyon olduğu rapor edilmiştir (Park vd, 2012). Bizim çalışmamızda da Park vd.'nin bulgularına paralel olarak muhtemel iyi huylu yanlış anlamlı belirsiz öneme sahip bir mutasyon olarak tespit edilmiştir.

XRCC2 geninin 3. ekzonunda yer alan c.651_652delTG varyantı, 651 ila 652 nükleotid konumlarındaki iki nükleotidin delesyonundan kaynaklanır ve öngörülen bir alternatif stop kodonu (p.C217*) ile translasyonel bir çerçeve kaymasına neden olur. Bu çerçeve kayması, XRCC2'nin 3' terminalinde meydana gelir, anlamsız mRNA bozunmasını tetiklemesi beklenmez ve proteinin yalnızca son 64 amino asidini etkiler. cDNA tamamlama analizlerini kullanan fonksiyonel çalışmalar, bu değişikliğin, XRCC2 eksikliğini onarma yeteneğinde kısmi bir kayıpla (yabanıl tipin %31'i) sonuçlandığını göstermektedir. Bu dizi değişikliği, XRCC2 geninde erken bir translasyon durdurma sinyali (p.Cys217*) oluşturur. Ek olarak p.C217*, erken başlangıçlı meme kanseri ve erkek meme kanseri olan bireyler de dahil olmak üzere birçok kalıtsal meme ve/veya yumurtalık kanseri kohortunda rapor edilmiştir (Park vd, 2012, Golmard vd, 2017). Sonlanma kodonuna yol açan bu mutasyonun yaptığımız analizlerle literature paralel olarak muhtemel patojenik olduğu ortaya konulmuştur.

Tek nükleotid değişikliği olan c.582G>T, ClinVar veri tabanında olası patojenik olarak sınıflandırılmıştır ve ekson 3'ün kodlama bölgesinde yer almaktadır. Sessiz mutasyonlar olarak sınıflandırılır ve amino asit dizisinde herhangi bir değişikliğe yol açmaz. Bu tip mutasyonun popülasyondaki sıklığının çok düşük olduğu, dolayısıyla her 100.000 kişiden 1 kişide bu mutasyonun görüldüğü bildirilmektedir. Bizim çalışmamızda ise yapılan analizler sonucu bu sessiz mutasyon muhtemel iyi huylu olarak yorumlanmış patojenik veri elde edilmemiştir. Sessiz bir mutasyon olması sebebiyle bu sonucu bulmuş olmamız muhtemeldir ancak c.582G>T mutasyonunun rolünün tam olarak ortaya konabilmesi için daha fazla kohortlu çalışmalara ve farklı tümör örneklerinde test edilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Diğer bir dizi değişikliği olan c.181C>A, XRCC2 proteininin (p.Leu61Ile) 61. kodonunda nötr ve polar olmayan lösinin yerini nötr ve polar olmayan izolösin ile değiştirir. Bu varyant popülasyon veritabanlarında mevcuttur (rs569810249, genomAD %0,02). Bu yanlış anlam değişikliği meme kanseri ve mide kanseri olan bireylerde gözlemlenmiştir (Park vd, 2012, Lu vd, 2015). Deneysel çalışmalar, bu yanlış anlam değişikliğinin XRCC2 fonksiyonunu büyük ölçüde etkilemediğini göstermiştir (Hilbers vd, 2016). Lösin ve İzolösin benzer özellikleri paylaştığından, bu konservatif bir amino asit değişimi olarak kabul edilir. XRCC2 Leu61Ile, türler arasında korunan ve bilinen bir fonksiyonel alanda bulunmayan bir pozisyonda meydana gelir. In silico analizleri, bu varyantın protein yapısı ve fonksiyonu üzerindeki etkisi konusunda tutarsızdır. Ancak bizim çalışmamızda yapılan in silico analizlerde bu mutasyonun muhtemel zararlı olduğu ortaya konulmuştur.

c.-1G>A varyantı, XRCC2 geninin 5' kodlanmayan bölgesinde (5'UTR) bulunur. Bu varyant, birinci kodlanmış kodondan yukarı yönde bir G'den A'ya 1 bazının değiştirilmesinden kaynaklanır. Bu değişiklik Park vd (2012) tarafından yapılan çalışmada 1/1308 erken başlangıçlı meme kanseri hastasında ve 0/1120 kontrolde tespit edildi (Park vd, 2012). Bizim çalışmamızda da NGS ile meme tümörlerinde tespit edilen bu mutasyon belirsiz öneme sahip olarak bulunmuştur. Nükleotid dizisi hizalamasına bağlı olarak, bu nükleotid konumu mevcut omurgalı türlerinde iyi korunmuştur. Halen destekleyici kanıtlar sınırlı olduğundan, bu değişikliğin klinik önemi belirsizliğini korumaktadır. Yapılacak geniş kohortlu çalışmalarla bu bulguların desteklenmesi önerilebilir. XRCC2' nin gen ekspresyonu değişikliği RT-qPCR yöntemiyle yapıldı ve veriler Δ CT yöntemiyle analiz edildi. Sonuçlar, tümör

örneklerinde bu genin ekspresyon seviyesinin, komşu sağlıklı dokuya kıyasla önemli ölçüde arttığını gösterdi.

Bu genin rejeneratif rolü göz önüne alındığında, tümör oluşumu sürecinde ekspresyon düzeyinin azalması ve tümör baskılayıcı bir yapıya sahip olması beklenmektedir. Ancak bu çalışma, bu genin meme kanserinde aşırı eksprese edildiğini ve onkogenik bir yapı olarak kabul edilebileceğini gösterdi. Çalışmamızdaki bu bulgulara paralel olarak daha önce yapılan çalışmalar XRCC2 geninin glioblastomada (Liu vd, 2021), kolorektal (Xu vd, 2014), yumurtalık kanserinde (Liu vd, 2021), meme kanserlerinde (Mohamed vd, 2021) ve hepatosellüler karsinomda (Zhou vd, 2021) aşırı ifadelendiğini göstermiştir. Verilerimizle çelişkili olarak, XRCC2' nin lenf nodu metastatik meme kanseri dokusunda baskılandığı ve ifade seviyesinin azaldığı bildirilmiştir (Bashir vd, 2014). Bu farklılığın kanserin oluştuğu dokunun çeşitliliği ile ilişkili olduğu düşünülebilir. XRCC2 gen ekspresyonu artışı bizim çalışmamızda özellikle invaziv duktal meme karsinomunda gözlenmiştir. Bashir vd, tarafından yapılan çalışmada meme knaseri türünün farklı olması her iki çalışma arasında farklı sonuçlar ortaya çıkarmış olabilir. Aynı zamanda XRCC2 geninin kanserleşme sürecindeki rolünün (onkogenik ya da tümör baskılayıcı olarak) tam olarak anlaşılabilmesi için daha fazla kanser çeşidinde araştırılması önerilmektedir

XRCC2 geni DNA onarımında önemli bir rol oynadığından, fonksiyonundaki herhangi bir kusur, mutasyon oranını ve DNA yapısındaki kusurları artırabilir, bunun sonucunda yaşın artmasıyla ve DNA içeriğindeki mutasyon sayısının artmasıyla birlikte, çeşitli kanser türlerinin ortaya çıkması beklenen sonuçlardandır. Bu çalışmada 13 hasta 40 yaş altı, 20 hasta 40-55 yaş arası ve 11 hasta 55 yaş üzerinde olup, sonuçlar 40 yaş üstü hastalarda bu genin artan ekspresyonu ile anlamlı bir ilişki olduğunu gösterdi ($p=0,0392$). Literatür tarandığında meme kanseri yaş faktörü ile XRCC2 ekspresyon seviyesi arasında istatistiksel analiz yapılan bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamız bu yönüyle özgündür.

Gen ekspresyonu ile hastalığın derecesi arasındaki ilişkinin değerlendirildiğinde anlamlı bir ilişki olduğu bulundu. I. evre ile genin ekspresyonundaki artış arasında anlamlı bir ilişki gözlenmezken ($p=0,8273$) II. ve III. evredeki hastaların gen ekspresyonundaki artış ile hastalık evresi arasında anlamlı ilişki gözlemlendi (sırasıyla $p=0,0013$ ve $p=0,0051$). Benzer şekilde yumurtalık kanseri görülen hastalarda yapılan bir çalışmada XRCC2 geni ekspresyonu ile III. evre tümörler arasında anlamlı ilişki bulunmuştur (Liu vd, 2021). Bu bulgulara göre hastalığın ilerlemesiyle birlikte bu

gendeki yapısal değişikliklerin muhtemelen ekspresyonunda artışa yol açacağı çıkarımı yapılabilir.

22 invaziv duktal karsinom vakası, 10 medullar benzeri karsinom vakası ve 12 matriks üreten metaplastik vakası dahil edilen bu çalışmada, gen ekspresyonu ile meme kanseri türü arasındaki ilişkinin değerlendirildiğinde invaziv duktal karsinom tipi ile XRCC2 geni ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki görüldü ($p=0,0006$). Ancak Amerikan Kanser Derneği' nin istatistiklerine göre meme kanseri vakalarının çoğunun (%80) invaziv duktal karsinom olduğu dikkate alındığında elde ettiğimiz sonucun doğruluğu muhtemeldir. Bununla beraber literatür tarandığında meme kanseri tümör çeşidi ile XRCC2 gen ekspresyonu arasındaki ilişkiyi konu alan bir çalışmaya rastlanılmamış olması bu verinin çalışmamızın özgünlüğünü ortaya koymaktadır. Bu yönüyle çalışmamız meme tümör çeşidi ile XRCC2 gen ya da protein ekspresyonları arasında yapılacak meme kanserinin moleküler alt yapısının daha iyi anlaşılmasını sağlayacak ileriki çalışmalar için ön çalışma niteliği taşımaktadır.

DNA metilasyonu, 5'-C-fosfat-G-3' (CpG) nükleotid sekansındaki sitozin bazına bir metil grubunun eklenmesini içeren epigenetik bir işlem olup özellikle bir genin promotör bölge metilasyonunun tespiti kanser tanısında kullanılan biyobelirteçler arasında yer almaktadır (Bouras vd, 2019; Murata vd, 2002). Bu görüşten yola çıkarak XRCC2 geni promotör bölgesinin metilasyon durumunu incelediğimizde promotör bölgede metilasyona rastlanmamıştır. Genel olarak genin usuturulması sonucunu doğuran promotör metilasyonunun gözlenmemesi çalışmada XRCC2' nin artan gen ekspresyonu ile ilişkilendirilebilir. Gen promotöründeki metilasyon, ekspresyonundaki azalmayla doğrudan ilişkili olduğundan, promotör metilasyon testi sonucu, gen ekspresyonundaki artışla doğrudan ilişkili olan metilasyonda anlamlı bir değişiklik göstermemiştir. Ancak Kluźniak vd, (2019) tarafından yapılan bir çalışmada 54 rahim ağzı kanseri vakasının 52'sinde XRCC2 geninin promotör bölgesinde hipermetilasyona sahip olduğu bildirilmiştir. Yine benzer şekilde Paulíková vd, (2013), XRCC2 genindeki promotör hipermetilasyonu ile III. ve IV. evrelerde rahim ağzı kanseri olan bireyler arasında güçlü bir korelasyon tespit etmiştir ($p = 0.0357$). Bu keşif, radyasyona maruz kalan hastalarda geç hasarı tahmin etme potansiyeli taşımaktadır (Paulíková vd, 2013). Literatürdeki bulgular ile bizim bulgularımızın çakışmasında farklı tümör türlerinin analiz edilmiş olması ya da çalışılan örnek sayısının yetersiz olması etkili olabilir. Kanser riskindeki artış, XRCC2 kaybından

kaynaklanan iki iyi bilinen epigenetik faktöre bağlanmaktadır. Bunun bir örneği, EZH2 proteininin artan üretimi nedeniyle XRCC2' nin epigenetik baskılanmasına yol açan XRCC2 gen promotör bölgesinin metilasyonudur. Homolog rekombinasyonel onarımdaki azalmaya ve XRCC2 gibi RAD51 paraloglarının baskılanmasına, EZH2 ifadesinin artan regülasyonu eşlik eder. Meme kanserinde %40 ile %75 arasında değişen yüksek EZH2 proteini seviyeleri gözlemlenmiştir (Hridy vd, 2020).

In-silico analizinin sonuçları, bu genin, çoğunlukla DNA hasarına tepki olarak onarım sürecine dahil olan birçok gen ile fiziksel olarak etkileşime girdiğini ve bu genlerle ortak ifadeye sahip olduğunu gösterdi. Greenhough vd, (2023) tarafından yapılan çalışmada bizim de in silico analiz yoluyla ilişkili bulduğumuz RAD51B, RAD51C, RAD51D ve XRCC3 genleri ile etkileşimde olup DNA hasarı tamirinde sinerjistik bir etki oluşturdıkları bildirilmiştir (Greenhough vd, 2023). Yine Li vd, (2021) tarafından yapılan çalışmada DMC1 ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur (Li vd, 2021).

SONUÇ VE ÖNERİLER

- XRCC2 geni, NGS yöntemiyle gen dizilimi kontrol edilmiş, 7 mutasyon bulunmuş olup bu mutasyonların tamamı heterozigottur.
- Patojenite açısından bu mutasyonlardan 5'i belirsiz öneme sahip olup, bunlar arasında c.134A>C, c.271C>T, c.283A>C, c.181C>A, c.-1G>A (5UTR varyantı) yer almaktadır.
- c.651_652del mutasyonu muhtemel patojeniktir ve c.582G>T muhtemel iyi huyludur.
- c.134A>C ilk kez meme kanserinde bu çalışmada rapor edilmiştir.
- Promotör metilasyonu değerlendirildiğinde metilasyonda anlamlı bir değişiklik tespit edilemedi. Meme tümörü ile XRCC2 geninin metilasyonu arasındaki ilişkinin doğrulanması için ileri analizlerin yapılması önerilmektedir.
- Gen ekspresyonunun RT-qPCR yöntemiyle incelenmesi, tümör grubunda sağlıklı gruba göre anlamlı bir ifade artışı olduğunu gösterdi.
- Yaş, hastalık derecesi ve meme kanseri türü ile artan gen ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki olduğu tespit edilmiştir.

Elde edilen sonuçlara ve daha önce yapılan çalışmalara dayanarak bu genin onkogen olarak sınıflandırılabileceği ileri sürülebilir. Bu genin onarım fonksiyonu göz önüne alındığında, meme kanserinde potansiyel bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği beklenebilir. XRCC2 geninden meme kanseri erken tanısında biyobelirteç olarak ve

tedavide aday hedef gen olarak yararlanabilmek için daha fazla ileri düzey çalışmalara ve klinik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.



KAYNAKLAR

- Abel, E. L., & DiGiovanni, J. (2010). Multistage carcinogenesis. In Chemical Carcinogenesis (pp. 27-51). Totowa, NJ: Humana Press.
- Ağaoğlu, Ö. K., & Sidekli, Ö. (2020). Kantitatif RT-PCR (RT-qPCR) Çalışmalarında Uygun Housekeeping Genlerin (HKGs) Seçimi ve Validasyonu. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 17(1), 76-83
- Alberghina, L., Gaglio, D., Gelfi, C., Moresco, R. M., Mauri, G., Bertolazzi, P., & Vanoni, M. (2012). Cancer cell growth and survival as a system level property sustained by enhanced glycolysis and mitochondrial metabolic remodeling. *Frontier in physiology*, 3, 362.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2015). *Molecular Biology of the Cell*. New York: Garland Science. Taylor and Francis Group, 4, 973-975
- Alkabban, F.M., Menon, G., Ferguson, T. (2018). Breast Cancer - StatPearls - NCBI Bookshelf, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482286/>.
- Altekruse, S. F., Kosary, C. L., Krapcho, M., Neyman, N., Aminou, R., Waldron, W & Edwards B.. (2009). SEER cancer statistics review, 1975-2007 National Cancer Institute. Bethesda, Md.
- Andre, F., & Puztai, L. (2006). Molecular classification of breast cancer: implications for selection of adjuvant chemotherapy. *Nature clinical practice Oncology*, 3(11), 621-632.
- Andreassen, P. R., & Hanenberg, H. (2019). XRCC2 (X-ray repair cross complementing 2). *Atlas of genetics and cytogenetics in oncology and haematology*, 23(1), 1.
- Arnold, M., Karim-Kos, H. E., Coebergh, J. W., Byrnes, G., Antilla, A., Ferlay, J., ... & Soerjomataram, I. (2015). Recent trends in incidence of five common cancers in 26 European countries since 1988: Analysis of the European Cancer Observatory. *European journal of cancer*, 51(9), 1164-1187.
- Arnold, M., Morgan, E., Rumgay, H., Mafra, A., Singh, D., Laversanne, M., &

- Soerjomataram, I. (2022). Current and future burden of breast cancer: Global statistics for 2020 and 2040. *The Breast*, 66, 15-23.
- Bashir, N., Sana, S., Mahjabeen, I., & Kayani, M. A. (2014). Association of reduced XRCC2 expression with lymph node metastasis in breast cancer tissues. *Familial cancer*, 13, 611-617.
- Berger, E. R., & Golshan, M. (2021). Surgical management of hereditary breast cancer. *Genes*, 12(9), 1371.
- Bouras, E., Karakioulaki, M., Bougioukas, K. I., Aivaliotis, M., Tzimagiorgis, G., & Chourdakis, M. (2019). Gene promoter methylation and cancer: An umbrella review. *Gene*, 710, 333-340.
- Buckingham, L. (2007). *Molecular Diagnostics*. (2nd Ed). Oxford Press.
- Byler, S., Goldgar, S., Heerboth, S., Leary, M., Housman, G., Moulton, K., & Sarkar, S. (2014). Genetic and epigenetic aspects of breast cancer progression and therapy. *Anticancer research*, 34(3), 1071-1077.
- Cain, E. H., Saha, A., Harowicz, M. R., Marks, J. R., Marcom, P. K., & Mazurowski, M. A. (2019). Multivariate machine learning models for prediction of pathologic response to neoadjuvant therapy in breast cancer using MRI features: a study using an independent validation set. *Breast cancer research and treatment*, 173, 455-463.
- Carey, L. A., Perou, C. M., Livasy, C. A., Dressler, L. G., Cowan, D., Conway, K., ... & Millikan, R. C. (2006). Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *Jama*, 295(21), 2492-2502.
- Carlson, G. W., Grossl, N., Lewis, M. M., Temple, J. R., & Styblo, T. M. (1996). Preservation of the inframammary fold: what are we leaving behind?. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 98(3), 447-450.
- Chan, S. R., & Blackburn, E. H. (2004). Telomeres and telomerase. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Science* 359(1441), 109-122.
- Clark, B.Z., Onisko, A., Assylbekova, B., Li, X., Bhargava, R., Dabbs, D.J. (2019). Breast cancer global tumor biomarkers: a quality assurance study of intratumoral heterogeneity. *Modern Pathology*, 32(3):354-366.
- Cleveland Clinic, Breast Anatomy: Milk Ducts, Tissue, Conditions & Physiology (clevelandclinic.org).
<https://my.clevelandclinic.org/health/articles/8330-breast-anatomy>.

- Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. (2001). Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58 209 women with breast cancer and 101 986 women without the disease. *The Lancet*, 358(9291), 1389-1399.
- Criscitiello, C., & Corti, C. (2022). Breast cancer genetics: diagnostics and treatment. *Genes*, 13(9), 1593.
- Chun, J., Buechelmaier, E. S., & Powell, S. N. (2013). Rad51 paralog complexes BCDX2 and CX3 act at different stages in the BRCA1-BRCA2-dependent homologous recombination pathway. *Molecular and cellular biology*, 33(2), 387-395.
- Ding, P., Yang, Y., Cheng, L., Zhang, X., Cheng, L., Li, C., & Cai, J. (2014). The relationship between seven common polymorphisms from five DNA repair genes and the risk for breast cancer in northern Chinese women. *PloS one*, 9(3), e92083.
- Doren, A., Vecchiola, A., Aguirre, B., & Villaseca, P. (2018). Gynecological–endocrinological aspects in women carriers of BRCA1/2 gene mutations. *Climacteric*, 21(6), 529-535.
- Easton, D. F., Pharoah, P. D., Antoniou, A. C., Tischkowitz, M., Tavtigian, S. V., Nathanson, K. L., ... & Foulkes, W. D. (2015). Gene-panel sequencing and the prediction of breast-cancer risk. *New England Journal of Medicine*, 372(23), 2243-2257.
- Elsheikh, S. E., Green, A. R., Rakha, E. A., Powe, D. G., Ahmed, R. A., Collins, H. M., ... & Ellis, I. O. (2009). Global histone modifications in breast cancer correlate with tumor phenotypes, prognostic factors, and patient outcome. *Cancer research*, 69(9), 3802-3809.
- Gaskin, K. M., Peoples, G. E., & McGhee, D. E. (2020). The attachments of the breast to the chest wall: a dissection study. *Plastic and reconstructive surgery*, 146(1), 11e-22e.
- Gefen, A., & Dilmoney, B. (2007). Mechanics of the normal woman's breast. *Technology and Health Care*, 15(4), 259-271.
- Green, D. W., & Drebin, J. A. (2001). Cancer Genetics. *Surgical Research*, 17(17p), 445.
- Greenhough, L. A., Liang, C. C., Belan, O., Kunzelmann, S., Maslen, S., Rodrigo-Brenni, M. C., ... & West, S. C. (2023). Structure and function of the

- RAD51B–RAD51C–RAD51D–XRCC2 tumor suppressor. *Nature*, 619(7970), 650-657.
- Golmard, L., Castéra, L., Krieger, S., Moncoutier, V., Abidallah, K., Tenreiro, H., ... & Houdayer, C. (2017). Contribution of germline deleterious variants in the RAD51 paralogs to breast and ovarian cancers. *European Journal of Human Genetics*, 25(12), 1345-1353.
- Goldhirsch, A., Wood, W. C., Coates, A. S., Gelber, R. D., Thürlimann, B., & Senn, H. J. (2011). Strategies for subtypes—dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Annals of oncology*, 22(8), 1736-1747.
- Goodman, M. F., & Tiffin, B. (2000). Sloppier copier DNA polymerases involved in genome repair. *Current opinion in genetics & development*, 10(2), 162-168.
- Gucalp, A., Traina, T. A., Eisner, J. R., Parker, J. S., Selitsky, S. R., Park, B. H., ... & Cardoso, F. (2019). Male breast cancer: a disease distinct from female breast cancer. *Breast cancer research and treatment*, 173, 37-48.
- Haber, J. E. (2000). Partners and pathways: repairing a double-strand break. *Trends in Genetics*, 16(6), 259-264.
- Hassiotou, F., & Geddes, D. (2013). Anatomy of the human mammary gland: Current status of knowledge. *Clinical anatomy*, 26(1), 29-48.
- Hoeijmakers, J. H. (2001). Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. *nature*, 411(6835), 366-374.
- Hilbers, F. S., Wijnen, J. T., Hoogerbrugge, N., Oosterwijk, J. C., Collee, M. J., Peterlongo, P., ... & Devilee, P. (2012). Rare variants in XRCC2 as breast cancer susceptibility alleles. *Journal of Medical Genetics*, 49(10), 618-620.
- Hilbers, F. S., Luijsterburg, M. S., Wiegant, W. W., Meijers, C. M., Völker-Albert, M., Boonen, R. A., ... & van Attikum, H. (2016). Functional analysis of missense variants in the putative breast cancer susceptibility gene XRCC2. *Human Mutation*, 37(9), 914-925.
- Howlander, N. N. A. K. M., Noone, A. M., Krapcho, M., Garshell, J., Neyman, N., Altekruse, S. F., ... & Cronin, K. A. (2014). SEER cancer statistics review, 1975–2012. National Cancer Institute.
- Hridy, A. U., Shabnaz, S., d Asaduzzaman, M., Shahriar, M., Bhuiyan, M. A., Islam, M. S., ... & Emran, T. B. (2020). Genetic variations of RAD51 and XRCC2

- genes increase the risk of colorectal cancer in the Bangladeshi population. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*, 21(5), 1445.
- Huang, T. H. M., Laux, D. E., Hamlin, B. C., Tran, P., Tran, H., & Lubahn, D. B. (1997). Identification of DNA methylation markers for human breast carcinomas using the methylation-sensitive restriction fingerprinting technique. *Cancer Research*, 57(6), 1030-1034.
- Huang, S. Y., Boone, J. M., Yang, K., Packard, N. J., McKenney, S. E., Prionas, N. D., ... & Yaffe, M. J. (2011). The characterization of breast anatomical metrics using dedicated breast CT. *Medical physics*, 38(4), 2180-2191.
- Jan, R. (2019). Understanding apoptosis and apoptotic pathways targeted cancer therapeutics. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 9(2), 205.
- Jiang, M., Jia, K., Wang, L., Li, W., Chen, B., Liu, Y., ... & Zhou, C. (2020). Alterations of DNA damage repair in cancer: from mechanisms to applications. *Annals of Translational Medicine*, 8(24).
- Jiang, M., Jia, K., Wang, L., Li, W., Chen, B., Liu, Y., ... & Zhou, C. (2021). Alterations of DNA damage response pathway: Biomarker and therapeutic strategy for cancer immunotherapy. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 11(10), 2983-2994.
- Jurj, M. A., Buse, M., Zimta, A. A., Paradiso, A., Korban, S. S., Pop, L. A., & Berindan-Neagoe, I. (2020). Critical analysis of genome-wide association studies: triple-negative breast cancer quae exempli causa. *International journal of molecular sciences*, 21(16), 5835.
- Karim, A. M., Kwon, J. E., Ali, T., Jang, J., Ullah, I., Lee, Y. G., ... & Kang, S. C. (2023). Triple-negative breast cancer: epidemiology, molecular mechanisms, and modern vaccine-based treatment strategies. *Biochemical Pharmacology*, 115545.
- Khanna, K. K., & Jackson, S. P. (2001). DNA double-strand breaks: signaling, repair and the cancer connection. *Nature genetics*, 27(3), 247-254.
- Kitamura, M., Nakayama, T., Mukaisho, K. I., Mori, T., Umeda, T., Moritani, S., ... & Sugihara, H. (2019). Progression potential of ductal carcinoma in situ assessed by genomic copy number profiling. *Pathobiology*, 86(2-3), 92-101.
- Kleibl, Z., & Kristensen, V. N. (2016). Women at high risk of breast cancer: Molecular characteristics, clinical presentation and management. *The Breast*, 28, 136-144.

- Kleer, C. G., Cao, Q., Varambally, S., Shen, R., Ota, I., Tomlins, S. A., ... & Chinnaiyan, A. M. (2003). EZH2 is a marker of aggressive breast cancer and promotes neoplastic transformation of breast epithelial cells. *Proceedings of the national academy of sciences*, 100(20), 11606-11611.
- Kluźniak, W., Wokołorczyk, D., Rusak, B., Huzarski, T., Gronwald, J., Stempa, K., ... & Cybulski, C. (2019). Inherited variants in XRCC2 and the risk of breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 178, 657-663.
- Kontomanolis, E. N., Koutras, A., Syllaios, A., Schizas, D., Mastoraki, A., Garmpis, N., ... & Fasoulakis, Z. (2020). Role of oncogenes and tumor-suppressor genes in carcinogenesis: a review. *Anticancer research*, 40(11), 6009-6015.
- Kumar, A., Abbas, A. K., & Jon, C. (2015). *Aster: Robbins and Cotran pathologic basis of disease. Professional Edition*.
- Kunkel, T. A., & Bebenek, K. (2000). DNA replication fidelity. *Annual review of biochemistry*, 69(1), 497-529.
- Latha, N. R., Rajan, A., Nadhan, R., Achyutuni, S., Sengodan, S. K., Hemalatha, S. K., ... & Srinivas, P. (2020). Gene expression signatures: A tool for analysis of breast cancer prognosis and therapy. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 151, 102964.
- Li, F., Zhang, Y., Shi, Y., & Liu, S. (2021). Comprehensive analysis of prognostic and immune infiltrates for RAD51 in human breast cancer. *Critical Reviews™ in Eukaryotic Gene Expression*, 31(4).
- Lin, W. Y., Camp, N. J., Cannon-Albright, L. A., Allen-Brady, K., Balasubramanian, S., Reed, M. W., ... & Cox, A. (2011). A role for XRCC2 gene polymorphisms in breast cancer risk and survival. *Journal of medical genetics*, 48(7), 477-484.
- Lindahl, T. (1993). Instability and decay of the primary structure of DNA. *nature*, 362(6422), 709-715.
- Liedtke, C., Kolberg, H. C., Kerschke, L., Görlich, D., Bauerfeind, I., Fehm, T., ... & Kühn, T. (2018). Systematic analysis of parameters predicting pathological axillary status (ypN0 vs. ypN+) in patients with breast cancer converting from cN+ to ycN0 through primary systemic therapy (PST). *Clinical & experimental metastasis*, 35, 777-783.
- Liu, Z., Zhang, W., Cheng, X., Wang, H., Bian, L., Wang, J., ... & Gao, Y. (2021). Overexpressed XRCC2 as an independent risk factor for poor prognosis in

- glioma patients. *Molecular Medicine*, 27(1), 52.
- Liu, Y., Xu, Y., Jiang, M., Chen, W., & Zhu, X. (2021). Significant value of XRCC2 and XRCC9 expression in the prognosis of human ovarian carcinoma. *Journal of Cancer*, 12(20), 6254.
- Lu, C., Xie, M., Wendl, M. C., Wang, J., McLellan, M. D., Leiserson, M. D., ... & Ding, L. (2015). Patterns and functional implications of rare germline variants across 12 cancer types. *Nature communications*, 6(1), 10086.
- Mahvi, D. A., Liu, R., Grinstaff, M. W., Colson, Y. L., & Raut, C. P. (2018). Local cancer recurrence: the realities, challenges, and opportunities for new therapies. *CA: a cancer journal for clinicians*, 68(6), 488-505.
- Maxwell, K. N., Wubbenhorst, B., D'Andrea, K., Garman, B., Long, J. M., Powers, J., ... & Nathanson, K. L. (2015). Prevalence of mutations in a panel of breast cancer susceptibility genes in BRCA1/2-negative patients with early-onset breast cancer. *Genetics in medicine*, 17(8), 630-638.
- Mayrovitz, H. N. (2022). Breast Cancer [Internet].
- McGhee, D. E., & Steele, J. R. (2020). Breast biomechanics: what do we really know?. *Physiology*, 35(2), 144-156.
- Miller, K. A., Sawicka, D., Barsky, D., & Albala, J. S. (2004). Domain mapping of the Rad51 paralog protein complexes. *Nucleic acids research*, 32(1), 169-178.
- Mohamed, R. I., Bargal, S. A., Mekawy, A. S., El-Shiekh, I., Tuncbag, N., Ahmed, A. S., ... & Elserafy, M. (2021). The overexpression of DNA repair genes in invasive ductal and lobular breast carcinomas: Insights on individual variations and precision medicine. *Plos one*, 16(3), e0247837.
- Murata, H., Khattar, N. H., Kang, Y., Gu, L., & Li, G. M. (2002). Genetic and epigenetic modification of mismatch repair genes hMSH2 and hMLH1 in sporadic breast cancer with microsatellite instability. *Oncogene*, 21(37), 5696-5703.
- Narod, S. A. (2018). Personalised medicine and population health: breast and ovarian cancer. *Human genetics*, 137(10), 769-778.
- National cancer institute.(2021), <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>.
- Nourieh, M., Vibert, R., Saint-Ghislain, M., Cyrta, J., & Vincent-Salomon, A. (2023). Next-generation sequencing in breast pathology: real impact on routine practice over a decade since its introduction. *Histopathology*, 82(1), 162-

- Qin, D. (2019). Next-generation sequencing and its clinical application. *Cancer biology & medicine*, 16(1), 4.
- Parada Jr, H., Sun, X., Tse, C. K., Olshan, A. F., & Troester, M. A. (2019). Lifestyle patterns and survival following breast cancer in the Carolina Breast Cancer Study. *Epidemiology*, 30(1), 83-92.
- Parlak, C., Gemici, C. (2004). *Radyasyon Onkolojisi Tedavi Kararları. İçinde Meme: Evre Tis, T1 ve T2 tümörler. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.*
- Park, D. J., Lesueur, F., Nguyen-Dumont, T., Pertesi, M., Odefrey, F., Hammet, F., ... & Southey, M. C. (2012). Rare mutations in XRCC2 increase the risk of breast cancer. *The American Journal of Human Genetics*, 90(4), 734-739.
- Paulíková, S., Chmelarova, M., Petera, J., Palicka, V., & Paulík, A. (2013). Hypermethylation of RAD51L3 and XRCC2 genes to predict late toxicity in chemoradiotherapy-treated cervical cancer patients. *Folia biologica*, 59(6), 240.
- Pediconi, F., Marzocca, F., Cavallo Marincola, B., & Napoli, A. (2018). MRI-guided treatment in the breast. *Journal of magnetic resonance imaging*, 48(6), 1479-1488.
- Shadrina, A. S., Ermolenko, N. A., Boyarskikh, U. A., Sinkina, T. V., Lazarev, A. F., Perou, C. M., Sørlie, T., Eisen, M. B., Van De Rijn, M., Jeffrey, S. S., Rees, C. A., ... & Botstein, D. (2000). Molecular portraits of human breast tumours. *nature*, 406(6797), 747-752.
- Petrova, V. D., & Filipenko, M. L. (2016). Polymorphisms in DNA repair genes and breast cancer risk in Russian population: a case–control study. *Clinical and experimental medicine*, 16, 21-28.
- Raff, J. W. (2003). Genome maintenance. *Nature*, 423(6939), 493-495.
- Rehnke, R. D., Groening, R. M., Van Buskirk, E. R., & Clarke, J. M. (2018). Anatomy of the superficial fascia system of the breast: a comprehensive theory of breast fascial anatomy. *Plastic and reconstructive surgery*, 142(5), 1135-1144.
- Rocque, G. B., Williams, C. P., Kenzik, K. M., Jackson, B. E., Azuero, A., Halilova, K. I., ... & Bhatia, S. (2018). Concordance with NCCN treatment guidelines: Relations with health care utilization, cost, and mortality in breast cancer patients with secondary metastasis. *Cancer*, 124(21), 4231-4240.

- Rodenhiser, D. I., Andrews, J., Kennette, W., Sadikovic, B., Mendlowitz, A., Tuck, A. B., & Chambers, A. F. (2008). Epigenetic mapping and functional analysis in a breast cancer metastasis model using whole-genome promoter tiling microarrays. *Breast cancer research*, 10, 1-15.
- Rossing, M., Sørensen, C. S., Ejlersen, B., & Nielsen, F. C. (2019). Whole genome sequencing of breast cancer. *Apmis*, 127(5), 303-315.
- Seroussi, B., Lamy, J. B., Muro, N., Larburu, N., Sekar, B. D., Guézennec, G., & Bouaud, J. (2018, January). Implementing Guideline-Based, Experience-Based, and Case-Based Approaches to Enrich Decision Support for the Management of Breast Cancer Patients in the DESIREE Project. In *EFMI-STC* (pp. 190-194).
- Shiovitz, S., & Korde, L. A. (2015). Genetics of breast cancer: a topic in evolution. *Annals of Oncology*, 26(7), 1291-1299.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 71(3), 209-249.
- Sirisena, N. D., Samaranayake, N., & Dissanayake, V. H. (2019). Electrophoretic mobility shift assays implicate XRCC2: rs3218550C> T as a potential low-penetrant susceptibility allele for sporadic breast cancer. *BMC Research Notes*, 12, 1-5.
- Stephenson, F.H. (2010). *Molecular Biology and Biotechnology: A Guide to Mathematics in the Laboratory*. (2nd Ed). London; Elsevier.
- Stephens, P. J., Tarpey, P. S., Davies, H., Van Loo, P., Greenman, C., Wedge, D. C., ... & Stratton, M. R. (2012). The landscape of cancer genes and mutational processes in breast cancer. *Nature*, 486(7403), 400-404.
- The Cancer Genome Atlas Network. (2012), Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 490(7418): 61-70, <http://doi:10.1038/nature11412>. Tsang, J. Y., & Gary, M. T. (2020). Molecular classification of breast cancer. *Advances in anatomic pathology*, 27(1), 27-35.
- Tsaousis, G. N., Papadopoulou, E., Apeessos, A., Agiannitopoulos, K., Pepe, G., Kampouri, S., ... & Nasioulas, G. (2019). Analysis of hereditary cancer syndromes by using a panel of genes: novel and multiple pathogenic

- mutations. *BMC cancer*, 19, 1-19.
- Vande Perre, P., Toledano, D., Corsini, C., Escriba, E., Laporte, M., Bertet, H., ... & Pujol, P. (2018). Role of the general practitioner in the care of BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: General practitioner and patient perspectives. *Molecular Genetics & Genomic Medicine*, 6(6), 957-965.
- Viale, G. (2012). The current state of breast cancer classification. *Annals of oncology*, 23, x207-x210.
- Watanabe, Y., & Anan, K. (2019). The decision to perform or omit sentinel lymph node biopsy during mastectomy for ductal carcinoma in situ should be tailored in accordance with preoperative findings. *Breast Cancer*, 26(2), 261-262.
- White, A. J., Bradshaw, P. T., & Hamra, G. B. (2018). Air pollution and breast cancer: a review. *Current epidemiology reports*, 5, 92-100.
- Xu, K., Song, X., Chen, Z., Qin, C., He, Y., & Zhan, W. (2014). XRCC2 promotes colorectal cancer cell growth, and regulates cell cycle progression, and apoptosis. *Medicine*, 93(28), e294.
- Yedjou, C. G., Sims, J. N., Miele, L., Noubissi, F., Lowe, L., Fonseca, D. D., ... & Tchounwou, P. B. (2019). Health and racial disparity in breast cancer. *Breast cancer metastasis and drug resistance: challenges and progress*, 31-49.
- Yoshida, R. (2021). Hereditary breast and ovarian cancer (HBOC): review of its molecular characteristics, screening, treatment, and prognosis. *Breast Cancer*, 28(6), 1167-1180.
- Zeidler, M., & Kleer, C. G. (2006). The Polycomb group protein Enhancer of Zeste 2: its links to DNA repair and breast cancer. *Journal of Molecular Histology*, 37(5), 219-223.
- Zhao, Z., He, K., Zhang, Y., Hua, X., Feng, M., Zhao, Z., ... & Xia, Q. (2021). XRCC2 repairs mitochondrial DNA damage and fuels malignant behavior in hepatocellular carcinoma. *Cancer Letters*, 512, 1-14.
- Zhou, B. B. S., & Elledge, S. J. (2000). The DNA damage response: putting checkpoints in perspective. *Nature*, 408(6811), 433-439.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı ve Soyadı: Naser Gilani

EĞİTİM BİLGİLERİ

	Mezun olduğu okul	Mezuniyet yılı
Tibbi Doktor (MD)	Tahran Tıp Bilimler Üniversitesi	2003

YAYINLAR

- 1- **Gilani, N.**, Ozaslan, M. (2024). Association of XRCC2 gene with breast cancer. A multi-omics analysis at genomic, transcriptomic, and epigenomic level. Cellular and Molecular Biology 2024 May 05; 70(9)
- 2- Khailany, R., **Gilani, N.**, Ozaslan, M., Safdar, M., Al-Shamari, I., Kanabe, B., Saadat, K., Homayounvash, J., Monfaredan, A., Al-Attar, M., & Arslan, A. (2020). Association of a point mutation (m.9176T>G) of the MT-ATP6 gene with Leigh syndrome: A case report. Biomedical Research and Therapy, 7(5), 3739-3743.
- 3- **Gilani, N.**, , Bitarafan, F., Ozaslan, M., Asheim, S., heydari M., Garshasbi M. (2024). Homozygous TREM2 c.549del; p.(Leu184Serfs*5) variant causing Nasu-Hakola disease in three siblings in a consanguineous Iraqi family: case report and review of literature, Molecular Genetics & Genomic Medicine. 2024;12:e2476. <https://doi.org/10.1002/mgg3.2476>
- 4- Bertoli- Avella, A., Hotakainen , R., **Gilani, N.** et al. (2021). A disorder clinically resembling cystic fibrosis caused by biallelic variants in the AGR2 gene, Journal of Medical Genetics, 2021;0:1–9. doi:10.1136/jmedgenet-2021-108150
- 5- **Gilani, N.**, · Razmara, E., Ozaslan, M., Ihsan Kareem Abdulzahra, I.K., Arzhang, S., Tavasoli, A., Garshasbi, M.(2021). A novel deletion variant in CLN3 with highly variable expressivity is responsible for juvenile neuronal ceroid lipofuscinoses. Acta Neurologica Belgica. <https://doi.org/10.1007/s13760-021-01655-9>

1.1.1 6- Khailany , R.A., Gilani, N., Ozaslan, M., Safdar, M., Al-Shamari, I., Kanabe, B.O., Saadat, K. S. M., Homayounvash, J., Monfaredan, A., Al-Attar, M. S., Arslan, A. (2020). Association of a point mutation (m.9176T>G) of the MT-ATP6 gene with Leigh syndrome: A case report. Biomedical Research and Therapy - Vietnamese Journal for Medical Biotechnology and Medicine Incorporating Advances in Regenerative Medicine, 7(5), 3739-3743. DOI : [10.15419/bmrat.v7i5.601](https://doi.org/10.15419/bmrat.v7i5.601)

Konferans Bildirileri:

1.Gilani, N., Ozaslan, M. “XRCC2 gene study by Next Generation Sequencing and Establishing its relation with Breast Cancer.” 4th International Conference on General Health Sciences (ICGeHeS) , May 02-05, 2024 in Alanya, Turkey

1 .

2.Gilani, N., Ozaslan, M. “Evaluation of XRCC2 Expression in Breast Cancer.” 4th International Conference on General Health Sciences (ICGeHeS) , May 02-05, 2024 in Alanya, Turkey

3. Gilani, N., Ozaslan, M. “Methylation of XRCC2 and MLH3 genes in breast cancer.” International Conference on Medical and Health Science (ICMeHeS). November 5-8, 2021 in Antalya, Turkey

4. Khailany, R. A., Gilani, N., et al. “Expression Analysis of PBRM1 and BAP1 Genes in Prostate Cancer.” 7th Annual Meeting of the Middle-Eastern Association for Cancer Research, December 21-22, 2017, Gaziantep University, Gaziantep, Turkey.

5. Khailany, R. A. Gilani, N. et al. “Mutations of the CHRNE and CHAT Genes In Congenital Myasthenic syndrome: A Case Report.” III International Conference of Cell Biology, May 26-27,2017, Krakow, Poland.

6. Jabbar, R., Khailany, R. A., Gilani, N. et al. “Association of LncRNA GAS5 Expression with Gastric Cancer.” III International Conference of Cell Biology, May 26-27,2017, Krakow, Poland.

7. Gilani, N. N., Khailany, R. A. Arslan, A. Et al. “Whole Exome Sequencing Reveals c.640G>A Mutation in ARSA Associated with Metachromatic Leukodystrophy: A Case Report.” III International Conference of Cell Biology, May 26-27,2017, Krakow, Poland.

8. Kanabe, B. Khailany, R. A, Arslan, A., Gilani, N. et al. “Non Coding RNA Value in Cancer Diagnosis,” III International Conference of Cell Biology, May 26-27,2017, Krakow, Poland.

9. Gilani, N., Khailany R. A., Arslan, A. et al. “Mentally and Physically Retarded Patient with Numerous Pathogenic Variants Revealed By Whole Exome Screening: A

Case Report.” VI International congress of Molecular Medicine, 22-25 May, 2017, Istanbul, Turkey.

10. Khailany R. A., Ozaslan, M. **Gilani, N.** et al. “Expression Evaluation of MiR-22 and MiR-452 in Renal Cell Carcinoma: A Molecular Investigation.” VI International congress of Molecular Medicine, 22-25 May, 2017, Istanbul, Turkey

11. **Gilani, N.**, Khailany R. A. et al. “A point mutation detection of MT-ATP6 gene in Leigh syndrome: A case report.” 15th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry, 10.5505/2017ichc.PP-217 [Neuroscience], May 18-21, 2017, Antalya, Turkey.

12. Khailany, R. A., **Gilani, N.** et al “Expression pattern of miR-23b-3p and its target SETD2 in Renal Cell Carcinoma.” 15th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry, 10.5505/2017ichc.PP-143 [Cancer biology], May 18-21, 2017, Antalya, Turkey.

13. Khailany, R. A., **Gilani, N.** et al. “A computational Analysis: Structural and Functional Concomitance of MicroRNAs involved in Colorectal Cancers.” 15th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry, 10.5505/2017ichc.PP-141 [Cancer biology], May 18-21, 2017, Antalya, Turkey.

14. **Gilani, N.**, Khailany, R. A. Arslan, A. et al, “Next Generation Sequencing Reveals Association Of C.2461g>A In Col1a1 Gene With Osteogenesis Imperfecta: A Case Report.” SANKO University Innovation in Medicine Summit-3, 11-13 May 2017, Gaziantep, Turkey.

15. Khailany, R. A., **Gilani, N.** et al “A Single Nucleotide Polymorphism of Sur1 Gene Detected in Type 2 Diabetic Patients Living in Erbil Province-Iraq.” SANKO University Innovation in Medicine Summit-3, 11-13 May 2017, Gaziantep, Turkey.

16. Khailany, R. A., **Gilani, N.** et al “Expression association of miRNA-103 with acute myeloid leukemia.” IV International Hematology Congerece, 28-30 April 2017, Gaziantep University, Gaziantep, Turkey.

17. Khailany, R. A., Hasan, A. A., **Gilani, N.** et al “Expression analysis of PTEN gene in acute myeloid leukemia.” IV International Hematology Congerece, 28-30 April 2017, Gaziantep University, Gaziantep, Turkey.

18. Khailany, R. A., Shareef, A. A., **Gilani, N.** et al “Single Nucleotide Polymorphism Investigation of PDX-1 (D76N) Gene in Type 2 Diabetes of Northern Iraq Population.” International Conference - Latest Trends in Domestic and Wild Animal Genomics and Biotechnology. October, 2016, Pakistan.

Diller: İngilizce, Persian, Türkçe
