SİMGELER VE KISALTMALAR

NBS	Nijmegen Brekeage Sendrom
NBN	Nibrin geni
VKİ	Vücut kitle indeksi
ATM	Ataksi Telenjektazi Mutasyon geni
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
PR	Progesteron reseptörü
ER	Östrojen reseptörü
HRT	Hormon replasman tedavisi
PCR-RFLP	Polimeraz zincir reaksiyonu-Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi
SERM	Selektif östrojen reseptör modülatörleri
FDA	ABD gıda ve ilaç idaresi
BCRAT	Meme kanseri risk değerlendirme aracı
TNM	Tümör nod metastaz evreleme sistemi
DCIS	Duktal karsinoma in situ
LCIS	Lobüler karsinoma in situ
HER2	İnsan epitelyal büyüme faktörü 2
MRM	Modifiye radikal mastektomi
MKC	Meme koruyucu cerrahi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Meme Kanseri Etyolojisinde Genetik Oranları

Şekil 2: BRCA1 ve BRCA2'nin Diğer Proteinlerle Etkileşimi

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1: Meme Kanseri İle İlişkili Genler

Tablo 2: Hasta ve kontrol grubunun demografik verileri

Tablo 3: Hasta grubunun klinik özellikleri

Tablo 4: Meme kanseri riski için NBS1 genotip ve allel frekansları

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri; en sık görülen kadın kanseri olup kadınlarda kanser ölümlerinin ikinci en yaygın nedenidir. 40-59 yaş arasındaki kadınların ise ilk sıradaki ölüm nedenidir (1). ABD'de meme kanseri için her yıl tahmin edilen yeni vaka sayısı yaklaşık 230.000 olup bunların yaklaşık 40.000'inin bu hastalıktan öleceği tahmin edilmektedir. Meme kanserine yakalanma olasılığı yaşam boyunca 1/6'dır (2).

Vakaların yaklaşık yarısı menarş yaşı, ilk canlı doğum, menopoz ve proliferatif meme hastalığı gibi bilinen risk faktörleri ile açıklanabilir. Vakaların yüzde 10'u ise pozitif aile öyküsü ile ilişkilidir (1). BRCA1 ve BRCA2 genlerinin ailesel meme kanseri olguları ile ilişkisi gösterilmiştir.

Bu ve daha başka genlerin tanımlanmasıyla beraber genetik taşıyıcıların kan testleri yoluyla belirlenmesi ve meme kanseri açısından riskli olan bu bireylere danışmanlık verilerek kanser surveyansı ile ilgili olarak kendi geleceklerini belirleme hakkını kullanmaları gündeme gelmiştir (3,4,5,6). Meme kanseri için risk faktörlerini anlamak, hem bireysel hem de toplumsal olarak, yüksek risk altındaki kadınları tespit etmek ve risk değiştirmek için müdahale etmeye izin verir.

BRCA1 ve BRCA2 mutasyonları meme kanseri gelişimi için %100 risk olduğunu gösteren belirteçler değildir. Bu mutasyonların penetrans oranları %45-90 arasında değişmektedir. Testlerin pozitif ya da negatif olmasının anlamının hastalık değil risklerle ilişkilendirilmesi gereklidir. Ayrıca henüz meme kanserinden sorumlu tüm genetik bilgi ortaya çıkarılamamıştır. Özellikle yatkınlık yaratan genler, onlarla etkileşime giren çevresel ve kişisel faktörler ölçülebilecek kadar detaylı tanımlanmamıştır. Bu konularda ortaya çıkarılacak bilginin artışı da önce riskli bireyler sonra da tüm kadınlara yaygınlaştırılacak şekilde bir bilgi ve danışmanlık hizmetinin oluşturulmasını gerektirecektir. Yapılan çalışmalarda mamografik taramanın meme kanserine bağlı ölümü azalttığı, seçici östrojen reseptör modülatörleri (SERMs) ile kemoprevensiyonun (Tamoksifen, Raloksifen) ve mastektomi, ooferektomi gibi profilaktik cerrahilerin meme kanserini önlediği gösterilmiştir (7,8,9). Meme kanseri

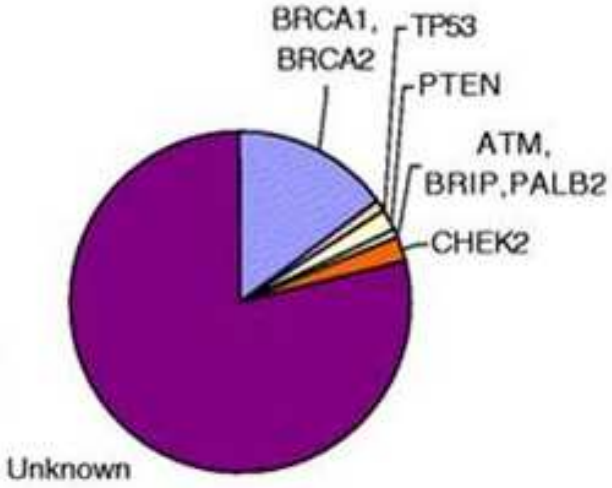
riskini ortadan kaldırmak ve azaltmak, erken tanı, görülme hızı ve mortaliteyi azaltmak için meme kanseri risk analizi yapılmaktadır. Analiz riski yüksek çıkan kadınlarda bahsedilen yöntemler uygulanarak meme kanserine bağlı mortaliteyi azaltmak amaçlanmaktadır.

Meme kanseri için çok yüksek risk oluşturan faktörlerin başında genetik yatkınlık vardır. Meme kanseri ile ilişkili genler yüksek penetrasyonlu ve düşük penetrasyonlu genler olarak sınıflandırılmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. Meme kanseri ile ilişkili genler (Gro ep et al.(2010) Pathology of Hereditary breast cancer Cellular.Oncol.)

İlgili Gen	**Sitobant**	**Meme kanseri riski**
BRCA1	17q21	Yüksek
BRCA2	13q12.3	Yüksek
TP53	17p13.1	Yüksek
ATM	11q22.3	Orta
CDH1	16q22.1	Orta
PTEN	10q23.31	Orta
STK1	19p13.3	Orta
NBS1	8q21	Orta
BRIP/FANJ	17q22	Orta
PALB2/FANCN	16p12	Orta
FANCA	16q24.3	Düşük
FANCE	6p22.p21	Düşük
MSH2	2p22.p21	Düşük
MSH3	5q11.q12	Düşük
MSH6	2p16	Düşük
MLH1	3p21.3	Düşük
PMS1	2q31.q33	Düşük
PMS2	7p22	Düşük

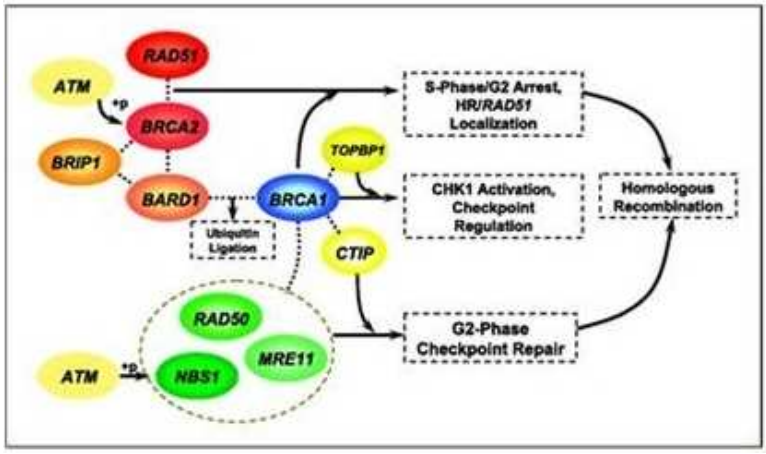
Yüksek penetrasyonlu genlerin başında BRCA1 ve BRCA2 yer almaktadır. Ailesel meme kanserinde risk analizi yapılırken BRCA1 ve BRCA2 genleri yetersiz kalmaktadır (Şekil 2).



Şekil 1: Meme Kanseri Etyolojisinde Genetik Oranları (Ding L etal.Hum.Mol.Genet.2010;19:R188-R196)

Günümüzde TP53, PTEN, ATM, NBS1, CDH1 gibi diğer bazı genlerin de meme kanseri etyolojisinde yer aldığı ve meme kanseri risk hesabına etkisi olduğu düşünülmektedir ve literatürde bu yönde araştırmalar yapılmıştır.

Nibrin (NBS1) gen mutasyonu da meme kanseri etyolojisinde orta derecede risk oluşturmaktadır (10,11,12,13,14). 8q21 bandında lokalize nibrin geni NBS1 (p95 veya nibrin) proteinini kodlar. Bu protein MRE 11 ve RAD50 proteinleri ile etkileşerek DNA çift zincir kırık tamirinde rol almaktadır. Bu anahtar düzenleyici bozulunca kromozomal aberrasyon birikerek solid malignitelerde artış olur (Şekil 3).



Şekil 2. BRCA1 ve BRCA2 nin Diğer Proteinlerle Etkileşimi (Rebbeck T Retal.Cancer Res 2009;69:5801-5810)

Bu çalışmadaki amacımız; Türk popülasyonunda, sporadik meme kanserli kadınlarda NBS1 polimorfizminin meme kanseri ile ilişkisini araştırmak ve literatüre katkıda bulunmaktır. Başka ülkelerde yapılmış olan bu yöndeki araştırmalar Türk toplumunda ilk defa araştırılmış olacaktır. Elde edilen sonuçlar anlamlı bulunursa bu çalışma ülke genelini kapsayacak bir çalışmaya öncülük edecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. MEME ANATOMİSİ

Erişkin kadın memesi toraks ön duvarının yüzeyel fasiası içinde yer alır. Memenin tabanı üstte 2. kot, altta 6. veya 7. kot, medialde sternum kenarı, lateralde orta aksiller hat arasındadır (15). Memenin üçte ikisi pektoralis major kası, geri kalanı serratus anterior kasının önünde uzanır.

Meme bezi meme başı çevresinde ışınsal bir şekilde yer alan 15-20 lobdan meydana gelir. Parankimin alt birimleri salgı yapan asinilerdir. Asiniler bir araya gelerek lobülüsleri, lobülüsler de lobları oluşturur. Her lob ayrı bir duktus laktiferiyus ile meme başına açılır. Bunlar meme başına açılmadan önce sinüs laktiferiyusları oluştururlar. Meme dokusu en fazla memenin üst dış kadranında bulunur. Meme tümörleri de en sık bu kısımda oluşur (16).

2.1.1.Memenin Arterleri ve Venleri:

Meme kanlanması iyi olan ve bir çok kaynaktan beslenen bir organdır. Memenin arteriel kanlanmasını sağlayan damarlar ve bunların dalları şunlardır;

1. İnternal mamarien arterin ön perforan dalları
2. Lateral torasik arter (Axiller arterin dalı)
3. Torakoakromial arterin pektoral dalı (Axiller arterin dalı)
4. En üst torasik arter (Supreme torasik arter) (Axiller arterin dalı)
5. Posterior interkostal arterlerin lateral dalları
6. Subskapuler arter (Axiller arterin en büyük dalı)
7. Torakodorsal arter.

Memenin venleri ise İnternal mamarian ven, aksiller ven ve interkostal venler olup arterlerin dağılımına uymakta ve onlara eşlik etmektedir.

2.1.2. Memenin Sinirleri:

Memenin duyusal inervasyonu başlıca 2, 3, 4, 5 ve 6. interkostal sinirler ile sağlanır.

2.1.3 Meme Lenfatik Sistemi:

Lenf damarları memede iki büyük pleksus yapar. Bunlar areola altındaki subareolar (sappey) pleksusu ile meme bezinin arkasında muskulus pektoralis majorun önünde yer alan memenin derin pleksusudur. Gerek yüzeyel gerekse de derin pleksustan çıkan ana lenf damarları başlıca 3 yolla memenin bölgesel lenf bezlerine ulaşırlar. Aksiller yol: apikal, santral ve subskapular lenf nodu gruplarına dökülürler. Transpektoral yol: interpektoral (rotter) gangliyona döküldüğü gibi, aynı zamanda yukarıya doğru ilerleyerek infraklavikular lenf bezlerine de ulaşırlar. Bu yol hem doğrudan hem de infraklavikular lenf bezleri üzerinden supraklavikular gangliyonlara gitmektedir. Mammariya interna yolu: mammariya interna lenf bezi grubuna dökülür.

2.2. EPİDEMİYOLOJİ VE RİSK FAKTÖRLERİ

2.2.1 İnsidans: Meme kanseri ABD'de en sık görülen kadın kanseri, kadınlarda kanser ölümlerinin ikinci en yaygın nedeni, 40-59 yaş arasındaki kadınların başlıca ölüm nedenidir. ABD de meme kanseri için her yıl tahmin edilen yeni vaka sayısı yaklaşık 230.000 olup bunların yaklaşık 40,000'inin bu hastalıktan öleceği tahmin edilmektedir. Meme kanserine yakalanma olasılığı yaşam boyunca 1/6 olup bu oran invaziv hastalık için 1/8 dir (1,2).

Meme kanseri insidansı Kuzey Amerika, Avustralya, Yeni Zelanda, Batı ve Kuzey Avrupa'da en yüksek; Asya ve Sahra Güneyi Afrika'da en düşüktür. Kuzey Amerika'da görülme oranlarında azalma olmasına rağmen, meme kanseri insidansı Asya ve Afrika gibi dünyanın diğer bölgelerinde artmaktadır. Bu uluslararası farklılıkların sanayileşme, yağ alımı, vücut ağırlığı, menarş yaşı, emzirme, gebelik, ilk doğum yaşı, üreme şekillerindeki toplumsal değişimler ile ilgili olduğu düşünülmektedir (17,18).

2.2.2 Etyoloji ve Risk Faktörleri:

Birçok risk faktörü meme kanseri ile ilişkili bulunmuştur:

- Yaş ve cinsiyet

- Irk ve etnisite
- İyi huylu meme hastalıkları
- Kişisel meme kanseri öyküsü
- Yaşam tarzı ve diyet faktörleri
- Üreme ve hormonal faktörler
- Aile öyküsü ve genetik faktörler
- İyonize radyasyona maruz kalma
- Çevre faktörleri
- Sigara içme

2.2.2.1 Yaş ve Cinsiyet : Yaş ve cinsiyet meme kanseri için en güçlü risk faktörleri arasında yer almaktadır. Meme kanseri kadınlarda erkeklere göre 100 kat daha sık oluşur (19).

İnsidans oranları 45 ila 50 yaş civarına kadar yaşla birlikte hızla yükselir. 75-80 yaşlarında azalmaya başlar (20).

2.2.2.2 Benign Meme Hastalıkları: Benign meme hastalıkları patolojik çok geniş bir yelpaze içerir. Tek nonproliferatif lezyon (fibrokistik değişiklik, soliter papillom, basit fibroadenom) meme kanseri riski ile ilişkili değildir. Birden çok nonproliferatif lezyonların varlığı bir kohort çalışmasına göre 10 yılda 1.8 kat meme kanseri riskini artırabilir (21).

Noninvaziv veya invaziv meme kanserinin daha önemli öncüleri, özellikle sitolojik atipi ile birlikte olan proliferatif lezyonlardır. İnvaziv meme kanseri riski atipisiz proliferatif lezyon için (karmaşık fibroadenom, orta veya florid hiperplazi, sklerozan adenozis, intraduktal papillom) göreceli risk 1,3-2 kat artmıştır. Atipi multifokal olduğunda risk 10 kat artar. Atipik proliferatif bir lezyon için (atipik lobüler hiperplazi, atipik duktal hiperplazi) rölatif risk 4 ila 6 kat daha yüksektir (22).

2.2.2.3 Kişisel Meme Kanseri Öyküsü: İnvaziv veya in situ meme kanseri öyküsü kontralateral invaziv meme kanseri gelişme riskini artırır. Bu risk sırasıyla menopoz öncesi ve menopoz sonrası kadınlar için yılda yüzde 1 ve yüzde 0.5 tir. İn situ

lezyonlarda ise kontralateral invaziv meme kanserine yakalanma 10 yıllık riski yüzde 5'tir (23).

2.2.2.4 Yaşam Tarzı ve Diyet: Yüksek sosyoekonomik durumu olanlar meme kanseri için daha büyük risk altındadır. Ancak sosyoekonomik durum bağımsız bir risk faktörü olarak görünmemektedir. Sosyoekonomik durumun (eğitim, mesleki ve ekonomik düzey) etkisinin menarş, ilk doğum yaşı, sigara, parite, üreme şekilleri farklılığı ve tarama mamografi kullanımı ile ilgili olduğu düşünülmektedir (24).

Vücut ağırlığı arttıkça meme kanseri riski artmaktadır. VKİ > 33 kg/m2 olan bir kadında VKİ<21 kg/m2 olanlara göre yüzde 27 artmış meme kanseri riski saptanmıştır(25).

Bu ilişkiler daha fazla yağ dokusunun östrojen öncüsü olmasına ve östrojenin periferal dönüşümünün artmasına ve böylece östrojenin kandaki düzeylerinin yüksek olmasına bağlanmıştır. Obezite aynı zamanda yüksek insülin düzeyleri ile ilişkilidir. Hiperinsülinemi de obezite ile meme kanseri ilişkisini açıklayabilir (26).

2.2.2.5 Fiziksel Aktivite: Düzenli fiziksel egzersizin meme kanserine karşı mütevazı bir koruma sağladığı görülmektedir (27).

2.2.2.6 Sigara: Birçok yayın, özellikle menopoz öncesi kadınlarda, aktif ve pasif sigara içimi ve artan meme kanseri riski arasında ilişki olduğunu desteklemektedir (28).

2.2.2.7 Alkol Alımı: Hormon reseptörü pozitif meme kanseri riskinde artışla ilişkilidir. Yağ tüketimi ile artan meme kanseri riski arasında pozitif bir korelasyon gösterilmiştir (29).

2.2.2.8 Kırmızı Et: Kırmızı et alımı (haftada 5 posiyondan fazla olacak şekilde) ve ER/ PR (östrojen ve progesteron reseptörü) pozitif premenopozal meme kanseri arasındaki ilişki gösterilmiştir (29).

2.2.3 ÜREME ve HORMONAL RİSK FAKTÖRLERİ: Yüksek konsantrasyonlardaki endojen östrojene uzun süreli maruz kalma meme kanseri riskini artırır. Östrojen alt tiplerinin üretimi (östradiol, östriol, östron) yumurtalık fonksiyonu ile modüle edilir.

Menopozdan sonra östrojenin ana kaynağı böbreküstü bezidir. Üretilen östradiol ve östron periferik yağ dokusunda metabolize edilir (30).

Meme kanseri riskini etkileyen temel faktörler; üreme, menarş yaşı, ilk canlı doğum yaşı, menopoz yaşı ve muhtemelen parite ve emzirmedir.

2.2.3.1 Menarş ve Menopoz Yaşı: Menarş yaşı meme kanseri ile ilişkilidir. Menarş başlangıcında her iki yıllık gecikme için, kanser riskinde yüzde 10'luk bir azalma olur. Erken menarş ve geç menopoz meme kanseri riskini artırır (31).

2.2.3.2 Parite: Nullipar kadınlarda meme kanseri gelişme riski daha yüksektir; rölatif risk 1.7 kat artmıştır.

2.2.3.3 İlk Doğum Yaşı: Erken ilk canlı doğum meme kanseri gelişme riskini azaltır (32).

2.2.3.4 Kürtaj: Kürtajın meme kanseri riskini artırdığı öne sürülmektedir (33).

2.2.3.5 Emzirme: Emzirmenin koruyucu etkisi birçok vaka-kontrol ve kohort çalışmada gösterilmiştir, büyüklüğü emzirme süresine bağımlı olabilir (34).

2.2.3.6 Östrojen Seviyeleri: Gözlemler, serum östrojen düzeyi artışının meme kanseri riskiyle bağlantılı olduğunu göstermektedir. Mevcut epidemiyolojik veriler premenopozal kadınlara kıyasla menopoz sonrası için daha ikna edicidir (35).

2.2.3.7 Kemik Yoğunluğu: Yüksek kemik yoğunluğu olan kadınlarda daha yüksek meme kanseri riski vardır (36).

2.2.3.8 Meme Yoğunluğu: Mamografik algılama zorluğunu artırmasının yanı sıra, yoğun meme dokusu varlığı bağımsız olarak meme kanseri riskinde artış ile ilişkilidir (37).

2.2.3.9 Eksojen Hormon Faktörleri: Çalışmalar eksojen hormon tedavisi ve meme kanseri arasındaki nedensel ilişkiyi desteklemektedir. Uzun süreli kullanımın risk artışında en önemli faktör olduğu gösterilmiştir. Kombine östrojen-progesteron tedavisinin kısa süreli kullanımı (3 yıldan az) mamografik tespiti güçleştirebilmesine rağmen, belirgin olarak meme kanseri riskini artırmadığı görülmüştür. Bazı veriler özellikle menopozdan sonra başlayan hormon tedavisinin 5 yıldan başlayarak daha fazla meme kanseri riski ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Karşılıksız östrojen kullanımıyla (kullanım süresi ortalama 5.9 yıl) meme kanseri riskinde hafif bir azalma bildirilmiştir. Ancak gözlemsel çalışmalar uzun süreli kullanımı ile risk artışı göstermektedir.

Özetle; meme kanseri riski artmış hormon replasman tedavisi (HRT) süresi ile artar. Bu etki, HRT kullanımının bırakılmasından sonra azalır ve tamamen değilse de büyük ölçüde yaklaşık 5 yıl sonra ortadan kaybolur (38).

2.2.4 AİLE ÖYKÜSÜ ve GENETİK FAKTÖRLER: Ailede meme kanseri varlığı önemli bir risk faktörüdür. Ancak, birinci derece akrabada pozitif aile öyküsü, sadece meme kanseri olan kadınların %15-20'sinde bildirilmektedir. Etkilenen birinci veya ikinci derecede anne veya baba tarafından akrabaların yaş ve sayısı önemlidir. Tek etkilenen birinci derece akrabası olan bir kadın için meme kanseri riski 1.80 kat artmıştır. İki etkilenen birinci derece yakınları olanda ise risk 2.93 kat artmıştır. Risk oranları genç etkilenen yakınları olan kadınlar için en yüksektir. Böylece, risk göreceli olup 30 yaşından önce meme kanseri tanısı konan akrabası olan bir kadın için 2.9 kat artmış, ancak etkilenen akrabasının 60 yaşından sonra teşhisi konmuş ise risk sadece 1.5 kat artmıştır (39).

2.2.4.1 Genetik Mutasyonlar: Sporadik kanser oluşumu için kalıtsal faktörlerin katkısı belirsizdir. İkizlerde yapılan çalışmalarda ailesel kümelenme çoğunluğu göstermektedir ki kalıtsal yatkınlık meme kanserinde önemlidir. İkizlerin çalışmaları malign hastalıkların gelişmesine kalıtsal genlerin genel katkısını araştırmıştır. Ancak meme kanseri yatkınlık belirli genetik mutasyonları nadirdir. Tüm meme kanserlerinin sadece % 5-6'sında meme kanseri kalıtımı ile doğrudan ilişkilendirilebilen BRCA1, BRCA2, p53, ATM ve PTEN gibi bir meme kanseri yatkınlık geni mevcuttur (40-43).

BRCA1 geni hücre siklus kontrolünde ve DNA onarımında rol alır. 17. kromozom üzerinde q12-21 loküsünde yerleşmiştir. BRCA1 ailevi meme kanseri vakalarının %45'inden; meme ve over kanserinin birlikte olduğu vakalarda ise % 90'ından sorumludur (44).

BRCA2 geni 13. kromozomun q12-13 loküsünde yer alır. Bu gen hücre siklus kontrolünde ve DNA onarımında rol alır. Ailevi meme kanseri vakalarının % 35'inden sorumludur (44).

BRCA1 ve BRCA2 mutasyonları genel populasyonda 1/800 oranında görülmektedir. Riskli gruplar için erken tanıda kullanılabilirler.

17. kromozomun kısa koluna lokalize olan p53 geni normal hücre büyümesi, diferansiasyon ve programlı hücre ölümünde rol oynar. Bu gendeki mutasyonlar Li-Fraumeni sendromuna yol açar. Bu sendromda premenopozal meme kanseri ile birlikte çocukluk sarkomu, beyin tümörleri, lösemi ve adrenokortikal karsinom görülür.

PTEN germline mutasyonu 10. kromozomun 10q23 loküsünde bulunur. Cowden sendromuna neden olur. Bu sendrom mukokutanöz lezyonlar, meme, tiroid ve genitoüriner sistem kanserleri ile karakterizedir (44).

Meme kanseri oluşma riskini arttıran diğer genetik hastalıklar ise Nijmegen sendromu (NBS1 geninde mutasyonla bulunur), Peutz-Jeghers sendromu (LKB1 geninde mutasyonlar ile karakterizedir) ve otozomal resesif geçişli bir hastalık olan ataksia telenjiektazinin de oluşmasına neden olan ATM geni mutasyonlarıdır (45).

Buraya kadar sözü edilen tüm nadir sendromların hepsi bir araya geldiğinde ailesel meme kanseri olgularının %1'ini oluşturmaktadır .

Bu bulgular, çevrenin sporadik kansere yol açmada başlıca rolü olduğunu ve kanser genetik bilgimizin büyük boşluklar içerdiğini gösterir. Özetle; meme kanserine genetik penceresinden bakıldığında, bugünkü literatür, bu hastalığın etyolojisinde genetik ve çevresel faktörlerin bir kombinasyon halinde etkileştiğini göstermekdir. Meme kanseri için predizpozisyon yaratan bazı yüksek geçişli genler gösterilmiş olmakla beraber başka pek çok düşük geçişli predispozan genin de bulunduğu ve bunların poligenik bir model içinde hareket ederek meme kanseri riskini arttırdığına inanılmaktadır. Düşük geçişli bu genlerin bulunması oldukça zordur. Ancak böylelikle meme kanserinin erken tanısı ve patofizyolojisi biraz daha açıklanabilir olacaktır. Bu ve daha başka genlerin tanımlanmış olmaları ile genetik taşıyıcıların kan testleri yoluyla belirlenmesi ve meme kanseri açısından riskli olan bu bireylere danışmanlık verilerek kanser surveyansı ile ilgili olarak kendi geleceklerini tartışma hakkı vermektedir (46,47).

Etkilenen ailelerde, paylaşılan çevrenin veya paylaşılan bir yaşam tarzının meme kanseri gelişimine katkısının ne ölçüde olduğu bilinmemektedir. Düşük penetranslı kalıtsal genleri tespit etmek zor olabilir. Bu tür genler kanser patogenezinden ya da meme kanserini tetikleyecek DNA toksinlerinin ailesel özel metabolizmasından sorumlu olabilir. Bu zayıf genlerin ifadesi farklılıkları belirgin şekilde etkileyebilir.

2.2.4.2 İyonizan Radyasyona Maruziyet: Genç yaşta özellikle de en savunmasız prepubertal 10-14 yaşlarında iyonizan radyasyona maruz kalma meme kanseri riskinde artış ile ilişkilidir (48).

2.2.4.3 Erkek Meme Kanseri İçin Risk Faktörleri: Erkeklerde kadınlara göre meme kanseri sıklığı yüz kat daha azdır. Erkek meme kanseri için risk faktörleri Klinefelter sendromu, testis ve karaciğer patolojisi, meme kanseri aile öyküsü, ve BRCA2 gen mutasyonlarıdır.

2.2.4.4 Meme Kanserinde Korunma: Yaşam tarzı değişiklikleri bir dizi değiştirilebilir risk faktörlerini etkileyerek meme kanseri riskini azaltmaya yardımcı olabilir:

- Postmenopozal hormon tedavisi kullanma süresini en aza indirip non-östrojenik alternatifleri (örneğin, osteoporoz tedavisi için bifosfonatlar) kullanmak.
- En az altı ay süreyle emzirme.
- Kilo almaktan kaçınmak ve sağlıklı kiloyu korumak postmenopozal meme kanseri riskini azaltacaktır.
- Alkol tüketiminin sınırlandırılması. İçmek isteyenler için, diyete folik asit eklenmesi riski hafifletebilir .
- Düzenli fiziksel aktivite.
- Sigaradan kaçınmak.

2.2.4.5 Kemoprevensiyon: Beş yıllık tamoksifen veye raloksifen kullanımı ile kadınlar için meme kanseri gelişme riski en az yüzde 50 veya daha fazla azaltılabilir. Bu iki ilaç meme kanserinin önlenmesi için ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanmıştır. Tamoksifenin yaygın yan etkileri (örneğin, sıcak basması, adet düzensizlikleri, vaginal akıntı) ciddi değildir, ancak nadir olanlar (örneğin, pıhtılaşma bozuklukları, pulmoner emboli, inme ve rahim kanseri) hayatı tehdit edici olabilir ve

özellikle 50 yaş üstü kadınlarda görülür. Raloksifen osteoporoz tedavisi için onaylanmıştır ve tamoksifen ile karşılaştırıldığında, tromboembolik olay ve rahim kanseri ile ilişkisi zayıftır, fakat sadece menopoz sonrası kadınlar için onaylanmıştır (49).

2.2.5 MEME KANSERi TARAMASI iÇiN RiSK TAHMiN MODELLERi

Meme kanserini öngörmek amacıyla çoklu meme kanseri risk modelleri geliştirilmiştir. Bir hastanın meme kanseri açısından yüksek risk grubunda olup olmadığının belirlenmesi tarama ve klinik yönetim stratejilerini optimize etmede yararlı olabilir, ama mutlaka doğru belirtilen süre içinde meme kanseri için bağımsız bir risk tahmini değildir.

2.2.5.1 Modelin Geçerliliği Değerlendirilmesi: Bir tahmin modelinin yararlılığı veya doğruluğu iki şeye bakarak değerlendirilir; kalibrasyon ve ayrımcılık. Duyarlılık ve özgüllük de hesaplanabilir.

2.2.5.2 Kalibrasyon: Kalibrasyon bir modelde gözlenen kanser oranını öngörür. Modelin performansını gösterir. Modelinin kalibrasyon iyi ise oranı 1.00 yakın olur ve doğruluk oranı artar.

2.2.5.3 Ayrımcılık: Bireysel düzeyde performansı değerlendirir. Modelin ayrımcılığının iyi olması yüksek riskli kadınları tahminde tutarlıdır ve sonuçta hastalık gelişir.

2.2.5.4 Meme Kanseri Riskini Öngörmek Amacıyla Araçlar: Çoklu meme kanseri risk modelleri meme kanseri riski hesaplamak için geliştirilmiştir. Ömür süresi tüm modellerde aynı olmasa da bazıları hem beş yıllık ve hem de yaşam boyu riskleri hesaplar. Ayrıca değişken türü ve sayısı farklıdır, bazı araçlar aile öyküsü ve meme biyopsisi öyküsü, parite ve mamografik dansite gibi kişisel değişkenlere daha fazla konsantre olur. Test edilen tüm modellerde yüksek yanlış pozitif ve yanlış negatif oranları bulunmuştur (50).

a) GAİL MODELİ (BCRAT): Meme kanseri riskini hesaplamak için en yaygın kullanılan araç, Dr Mitchell Gail tarafından uygulanan ve daha sonra Ulusal Kanser

Enstitüsü tarafından geliştirilen Gail modeli olarak adlandırılan Meme Kanseri Risk Değerlendirme Aracı (BCRAT)'dır. Önümüzdeki beş yıl içinde bir kadının meme kanseri için bireysel riskini hesaplar.

Birey için 90 yaşa kadar aşağıdaki verilere dayalı risk hesaplar:

- Şimdiki yaş
- Menarş yaşı
- Ilk canlı doğum yaşı
- Meme kanseri olan birinci derece yakınların sayısı
- Önceki meme biyopsileri sayısı
- Herhangi bir meme biyopsisinin atipik hiperplazi olması
- Irk

BCRAT kalıtsal meme kanseri kuvvetli bir aile öyküsü olmayan kadınlar için tasarlanmıştır. Meme kanserli ikiden fazla birinci derece yakını olan kadınlar için geçerli değildir .Daha uzak akrabalarda meme kanseri veya yumurtalık kanseri öyküsü dikkate alınmaz. Baba tarafında meme kanseri aile öyküsü güçlü olan kadınlar için kullanışlı değildir(51).

BCRAT, klinisyenler ve hastalar için kolayca kullanılabilir ve toplum düzeyinde iyi çalışır. Gail modelinin meme kanseri gelişecek kadınları saptamada duyarlılığı % 44 hesaplanmıştır. % 66 olarak çalışmalarda bildirilen Gail modelin özgünlüğü de düşüktür. Bir çalışmada, pozitif prediktif değeri 2.30'dur. Bu test performansları karşılaştırıldığında, Gail modelinin sınırlı ayrımcılık yeteneği açıktır. Bireysel ve klinik kullanımda sonuçların sadece yaklaşık olduğu unutulmamalıdır(52).

b) Aile Riski Vurgulayan Modeller: Bir aile üyesi veya birden çok aile üyesinde meme kanseri veya yumurtalık kanseri öyküsü olan hastalar için geliştirilmiştir. Bu modeller sadece meme kanseri riskini değil, aynı zamanda BRCA1 veya BRCA2 gen mutasyonu taşıyanların riskini değerlendirir. Bu tahminler daha sonra genetik test için kadın seçmek için kullanılır.

- **BRCAPRO Modeli:** Kadının gelişmekte olan meme (veya yumurtalık) kanseri ve mutant BRCA1 veya BRCA2 geni taşıma olasılığını hesaplamak için kullanılabilir. Aile ağacı öyküsü iyi bilinmelidir (53).

-Tyrer-Cuzik Modeli: 10 yıllık meme kanseri gelişimini tahmin etmek için tasarlanmıştır. BRCAPRO gibi meme ve yumurtalık kanseri öyküsü içerir. Ek olarak tıbbi geçmiş öyküsü de içerir. Atipik hiperplazisi olan kadınlarda bu model önerilmemektedir (54).

2.2.6. EVRELEME VE PROGNOZ

Meme kanseri tümör nod metastaz (TNM) evreleme sistemi hastalığın evresini belirlemek için kullanılan uluslararası kabül gören bir sistemdir. Hastalığın evresi, tedavisi, rehberlik ve prognozu belirlemek için kullanılır. Hastalığın yayılımının bir ölçüsüdür. TNM evreleme sistemi primer tümörün tipi (invaziv veya in situ) ve boyutu (T), bölgesel lenf nodu tutulumu (N) varlığı veya yokluğu ve metastaz varlığı veya yokluğu temelinde tümörleri sınıflandırır. Tümörü genel olarak dört evreye ayırır. Periyodik revizyonları gereklidir.

TNM sisteminin en son sürümü 1 Ocak 2010 da yürürlüğe giren "Malign Tümörlerde TNM Sınıflaması" yedinci sürümüdür.

(YEDİNCİ EDİSYON) TNM MEME KANSERİ EVRELEME SİSTEMİ

Primer Tümör Sınıflandırılması: Tümör sınıflandırma tanımları klinik veya patolojik olarak değerlendirilmelidir. CT veya pT evrelemenin klinik veya patolojik kriterlere dayalı olup olmadığını belirtmek için kullanılır. Patolojik sınıflandırma tercih edilir.

- **Tx:** Primer tümör değerlendirilemiyor
- **T0:** Primer tümör kanıtı yok
- **Tis:** karsinoma in situ
- **Tis (DCIS):** Duktal karsinoma in situ
- **Tis (LCIS):** in situ lobüler karsinom

- **Tis (Paget):** meme başının Paget hastalığı olan bireylerde meme parankiminde altta yatan invaziv karsinoma in situ ve / veya karsinom (DCIS ve / veya LCIS) ile ilişkilidir.
- **T1:** En büyük boyutu Tümör ≤ 20 mm
- **T1mi:** Tümör ≤ En büyük boyutu 1 mm
- **T1a:** Tümör> 1 mm ancak büyük boyutu ≤ 5 mm
- **T1b:** Tümör> 5 mm ama büyük boyutu ≤ 10 mm
- **T1c:** En büyük boyutu Tümör> 10 mm ancak ≤ 20 mm
- **T2:** En büyük boyutu Tümör> 20 mm ancak ≤ 50 mm
- **T3:** En büyük boyutu Tümör> 50 mm
- **T4:** Göğüs duvarı ve / veya cilde (ülserasyon veya deri nodülleri) doğrudan uzantısı olan herhangi bir boyutta tümör
- **T4a:** Göğüs duvarına yayılım, sadece pektoralis kas yapışması / işgali
- **T4b:** Ülserasyon ve / veya ipsilateral uydu nodüller ve / veya inflamatuvar karsinom için kriterlere uymayan deride ödem (peau d'orange dahil)
- **T4c:** Her ikisi (T4a ve T4b)
- **T4d:** İnflamatuar karsinom

Bölgesel lenf düğümleri (N): Lenf nodu sınıflandırma kriterleri klinik veya patolojik olarak değerlendirilmektedir. CN veya pN ayrım yapmak için kullanılır. Patolojik sınıflandırma tercih edilir.

Bölgesel lenf düğümleri aksilla, iç meme düğümleri ve supraklavikular düğümleri içerir. Servikal veya karşı taraf koltuk altı lenf düğümleri de dahil olmak üzere başka herhangi bir lenf nodu, metastaz (M1) uzak olarak sınıflandırılır.

Bölgesel lenf nodlarının Patolojik sınıflandırması

- **pNX** - Bölgesel lenf düğümleri (örneğin, daha önce patolojik inceleme için çıkarıldı ya da çıkarılmış) değerlendirilemiyor
- **pN0** - Bölgesel lenf nodu metastazı yok
- **PNO** - Bölgesel lenf nodu metastazı histolojik olarak tespit edilememiş
- **pN1** - Mikrometastaz, veya bir ila üç koltuk altı lenf bezlerinde metastaz

- **pN1mi** - Mikrometastaz (den daha büyük 0.2 mm ve / veya daha az 200 hücreleri, ancak 2.0 mm'den daha büyük yok)
- **pN1a** - 1-3 koltuk altı lenf düğümleri metastazı, en az bir metastazı 2,0 mm den daha büyük
- **pN1b** - sentinel lenf nodu biyopsisi ile tespitli mikrometastaz veya makrometastaz ile internal meme bezlerinde metastaz
- **pN1c** 1-3 aksiller lenf düğümleri ve sentinel lenf nodu biyopsisi ile tespitli mikrometastaz veya makrometastaz ile iç meme lenf düğümleri
- **pN2** - 4-9 aksiller lenf bezlerinde metastaz veya klinik olarak algılanan iç meme lenf düğümleri
- **pN2a** - 4-9 aksiller lenf düğümleri (2.0 mm 'den daha fazla) metastazları
- **pN2b** - Sadece klinik olarak tespitli ipsilateral internal meme bezlerinde ve klinik olarak belirgin aksiller lenf nodu metastazı yokluğunda metastaz
- **pN2b** - aksiller lenf nodu metastazı yokluğunda klinik olarak tespitli iç meme lenf bezlerinde metastaz.
- **pN3-** 10 veya daha fazla aksiller lenf düğümlerine metastaz veya infraklavikular (seviye III aksiller) lenf düğümlerine veya klinik olarak algılanan 1 veya daha fazla düzeyde seviye I, II aksiller lenf nodu varlığında ipsilateral iç meme lenf düğümleri; ya da en fazla 3 aksiller lenf düğümü ve sentinel lenf nodu biyopsisi ile tespitli mikrometastaz veya makrometastaz ile iç meme lenf düğümleri (ancak klinik olarak algılanmaz); veya ipsilateral supraklaviküler lenf nodlarının pozitifliği
- **N3a -** 10 veya daha fazla aksiller lenf düğümlerinde (2.0 mm 'den daha fazla) metastaz; infraklavikular (seviye III aksiller lenf) düğümlerine metastaz
- **pN3b -** Bir veya daha fazla pozitif aksiller lenf nodu varlığında klinik olarak tespitli ipsilateral internal mammaryan lenf nodu metastazı veya üçten fazla koltuk altı lenf bezlerinde ve sentinel lenf nodu biyopsisi ile tespitli mikrometastaz veya makrometastaz ile iç meme lenf bezlerinde metastaz (ancak klinik olarak tespitli değildir)
- **pN3c -** ipsilateral supraklaviküler lenf bezlerinde metastaz

Uzak metastaz (M)

- **M0** - uzak metastaz klinik , radyolojik ve patolojik negatif
- CMO (i +) - uzak metastaz klinik ve radyolojik kanıtlar, ancak herhangi bir belirti veya bulguları olmayan bir hastada 0.2 mm daha büyük olan kan, kemik iliği ya da diğer nonregional nodal dokularda dolaşan moleküler veya mikroskobik olarak algılanmış tümör hücrelerinin metastazı
- **M1** - Klasik klinik ve radyolojik araçla ve / veya histolojik olarak kanıtlanmış 0.2 mm den daha büyük belirlenen uzak metastaz mevcut

EVRELEME

Evre 0

Tis N0 M0

Evre IA: T1 N0 M0

Evre IB: T1 N1mi M0

Evre IIA: T0 N1 MO

T1 N1 M0

T2 N0 M0

Evre IIB: T2 N1 M0

T3 N0 M0

Evre IIIA: T0 N2 M0

T1 N2 M0

T2 N2 M0

T3 N1 M0

T3 N2 M0

Evre IIIB: T4 N0 M0

T4 N1 M0

T4 N2 M0

Evre IIIC: Herhangi bir T N3 M0
Evre IV: Herhangi bir T Herhangi bir N M1

2.2.6.1 Meme Kanserinde Prognostik Faktörlerin Ölçülmesi

Adjuvan sistemik tedavinin yaygın uygulanması Batı dünyasında meme kanserinden ölümü azalttı. Adjuvan sistemik tedaviden yararlanması en olası hastaları seçmeye yardımcı olabilecek güvenilir prognostik faktörler mevcuttur. Tedavi kararı için gerekli kritik bilgiler içinde prognostik TNM evresi, aksiller lenf nodu tutulumu, tümör büyüklüğü ve derecesi ve hormon reseptör durumu vardır.

2.2.6.2 Patolojik değerlendirme Önemi: Rutin patolojik değerlendirme meme kanseri olan hastalarda prognozu belirleyen en önemli unsur olmaya devam etmektedir. Mevcut en güçlü prognostik faktörler arasında lenf nodu durumu, tümör boyutu ve histolojik grade, histolojik tümör tipi ve lenfatik vasküler invazyon bulunmaktadır (55).

Prognostik marker ölçümü ve kullanım kılavuzu meme kanserinde tümör belirteçleri için 2007 ASCO uzman paneli mevcuttur. Kılavuz için altısı yeni olan meme tümör belirteçleri 13 kategoride kabul edildi. Aşağıdaki kategorilerin klinik faydası kanıtlanarak pratik kullanım için tavsiye edilmiştir: CA 15-3, CA 27-29, karsinoembriyonik antijen, östrojen reseptörü, progesteron reseptör, insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2, ürokinaz plazminojen aktivatörü, plazminojen aktivatör inhibitörü 1 ve belirli multiparameter gen testleri, Flow sitometri, p53, katepsin D, siklin E, proteomiks, bazı multiparametre testleri, kemik iliği mikrometastazlarının tespiti ve DNA / ploidi (56).

ER, PR, HER2 ekspresyonu her primer meme kanseri üzerinde değerlendirilmelidir. Hormon reseptör ekspresyonu endokrin tedavi kararlarına rehber olarak kullanılmalıdır. HER2 aşırı olumsuz bir prognostik faktördür. HER2 pozitifliği metastatik hastalığı tahminde ve HER2-yönelimli terapi (transtuzumab) tedavisine uygun hastaları seçmek için kullanılmalıdır (57).

2.2.7 MEME KANSERİNDE TEŞHİS

Meme ya da koltukaltında ele gelen kitle veya başka anormal değişiklik (ciltte çekilme, asimetri, şekil değişikliği veya meme derisinde bir renk değişimi) bir kadının kendisi tarafından ya da onun sağlık kuruluşu tarafından bulunduğunda meme kanseri tespit edilebilir. Hikaye, fizik muayene, mamografi ve meme ultrasonu, gerekli hallerde biyopsi ve meme MR ı tanıda kullanılan yöntemlerdir.

Bir memede kitle fark edildiğinde mamografi ve meme ultrasonu genellikle tavsiye edilir. Gerekli durumlarda meme biyopsisi de tavsiye edilebilir.

Meme kanserlerinin çoğunluğu anormal mamografi sonucunda tanı almaktadır. Anormal bir tarama mamografisi olan kadınların sıklıkla doku örneklemesi ya da biyopsi ihtiyacını belirlemek için büyütme görüntüleri, spot sıkıştırma veya ultrasonografi ile ileri tanısal değerlendirilmesi gerekir. Bunun yanı sıra, lezyonların yaklaşık % 15'i mamografide gizli olabilir. Klinik olarak şüpheli kitle ne olursa olsun biyopsi yapılmalıdır. İlk biyopside amaç en az invazif yaklaşım kullanarak yeterli tanısal materyal elde etmek ve iyi huylu lezyonların cerrahi eksizyonundan kaçınmaktır (58).

2.2.7.1 Multidisipliner Yaklaşımın Önemi: Meme kanseri şüphesi ve tedavisi çeşitli branşlardaki hekimlerin koordine çalışmasını gerektirir. Radyologların ve meme cerrahlarının entegre yaklaşımı gereksiz biyopsileri en aza indirebilir ve meme kanseri tanısı koymayı hızlandırabilir. Benzer şekilde meme ve rekonstrüktif cerrah, radyasyon ve tıbbi onkolog, radyolog ve patologlar arasında multidisipliner koordinasyon hasta bakımı ve tedavi planlamasını kolaylaştırır (59).

2.2.8 TEDAVİ:

Meme kanserinden ölüm oranı son on yılda yaklaşık yüzde 20 azalmıştır. Bunun nedeni kısmen artmış tarama ile erken tanı konması ve daha erken tedavisinden kaynaklanmaktadır. Tarama tedavi şansı yüksek olan hastalığı daha erken bir aşamada algılar. Meme kanseri erken teşhis ve tedavisi sağkalımı arttırır. Primer meme tümörü tedavi edilerek metastazın önüne geçilebilir. Buna ek olarak adjuvan sistemik terapiler (aşağıda açıklanmıştır) ve diğer tedaviler sistemik yayılımı önlemek için kullanılabilir.

Adjuvan sistemik tedavi cerrahi öncesi veya sonrasında verilir ve meme kanseri nedeniyle ölümde düşüşe katkıda bulunmaktadır.

Meme kanserinde üç tip adjuvan tedavi kullanılmaktadır:

- Endokrin tedavi (Anti-östrojen tedavisi)
- Kemoterapi
- Bir proteine karşı moleküler hedefli tedavi (HER2 olarak adlandırılır)

2.2.8.2 Erken Evre Meme Kanseri Tedavisi

Erken evre meme kanserinin tedavisinde cerrahi ile lokal hastalığın tedavisi, radyasyon tedavisi veya her ikisi; ve sistemik hastalıkların tedavisinde kemoterapi ile endokrin tedavi veya biyolojik tedavi kombinasyonunu içerir. Tedavi şekli; yaş, menopoz durumu ve komorbid koşulları gibi hasta değişkenleri; tümörün histolojisi, evresi ve tümör belirteçleri, tümör değişkenleri ve hastanın tercihine dayanır.

Erken evre meme kanseri Cerrahisi - Meme koruyucu cerrahi (MKC) ortaya çıkmasıyla birlikte, birçok kadın artık hayattan ödün vermeden, kozmetik olarak kabul edilebilir meme koruyucu cerrahi seçeneğine sahiptir. MKC tedavi hedefleri memede nüks oranı düşük mastektomi ve kozmetik olarak kabul edilebilir bir kanser ameliyatı sağlamaktır. Mastektomi ile karşılaştırıldığında eşdeğer sağkalım göstermektedir (60).

Radyasyon tedavisi: Radyoterapi MKC'nin bir bileşenidir ve amacı subklinik rezidüel hastalığın ortadan kaldırılması ve yerel nüks oranlarını en aza indirmektir.

Bölgesel lenf nodlarının Yönetimi: Aksiller lenf nodu evrelemesi ve diseksiyon geleneksel olarak erken evre meme kanseri tedavisinde rutin bir bileşen olmuştur. Klinik olarak lenf nodu negatif meme kanserli hastalarda sentinel lenf nodu biyopsisi bazı hastalarda daha geniş cerrahi operasyona gerek kalmadan, aksilla durumunu tanımlar. Sentinel lenf nodu biyopsisi negatif olan kadınlarda daha fazla aksiller cerrahi gerekmez.

Adjuvan sistemik tedavi: Adjuvan sistemik tedavi meme kanseri için kesin lokal tedaviden sonra endokrin tedavi, kemoterapi ve / veya biyolojik tedavi uygulanmasını içerir. Adjuvan sistemik tedavi meme kanseri tekrarını önlemek için ve genel sağkalım geliştirmek için erken evre meme kanserinde primer cerrahi sonrası uygulanır. Önemli toksisiteleri nedeniyle hasta seçimi önemlidir. Primer tümör boyutu, lenf nodu durumu ve histolojik farklılaşma derecesi bireysel bir hastada adjuvan sistemik tedavi ihtiyacı

olup olmadığını belirlemede yardımcı olan önemli prognostik faktörlerdir. Bir hastanın endokrin tedavi (hormon reseptörü pozitif) veya biyolojik tedavilerden (HER2 ekspresyonu-trastuzumab) faydalanabilecek olup olmadığını belirlemeye yardımcı olur.

2.2.8.3 Lokal Tekrarlayan Hastalık Yönetimi

Operabl meme kanseri için ilk tedavi ardından hastalığın lokal nüksü, bölgesel ve/veya uzak metastaz gelişebilir. Lokal nüks aynı taraf göğüs duvarı veya konserve edilmiş meme kanserinin yeniden ortaya çıkması olarak tanımlanır. Bölgesel lenf düğümlerinde lokal nüks genellikle ipsilateral aksiller veya supraklaviküler, daha az sıklıkla infraklavikular ve/veya internal meme lenf bezlerinde görülür.

Agresif multimodal tedavi mastektomi veya meme koruyucu cerrahi sonrası izole lokal nüks gelişen hastaların önemli bir kısmında uzun süreli hastalık kontrolü sağlama potansiyeline sahiptir.

2.2.8.4 Metastatik Meme Kanseri İçin Sistemik Tedavi

Metastatik meme kanseri olan hastaların çoğu kemoterapi, endokrin tedavi ve/veya biyolojik tedavilerin oluşan, sistemik ilaç tedavisi ve destekleyici önlemler alabilir. Tek ajan veya kombine kemoterapi, endokrin tedavi, biyolojik tedaviler, lokal yaklaşımlar, osteoklast inhibitörleri (bifosfonatlar ve nükleer faktör kappa-B ligand inhibitörlerinin reseptör aktivatörü) ve destekleyici tedavi seçenekleri uygulanabilir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. MATERYALLER

Bu araştırmada kullanılan kan örnekleri, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı servisinde meme kanseri tanısı alarak cerrahi ve medikal tedavi uygulanmış, bilgilendirilmiş gönüllü olur alınan, 101 meme kanserli kadın hastadan ve yaş olarak uyumlu 115 normal sağlıklı gönüllüden alındı. 101 meme kanserli ve 115 sağlıklı kontrol grubundan alınan periferik kan örneklerinden elde edilmiş olan DNA izolasyon numunelerinde retrospektif olarak NBS1 polimorfizmini araştırmak üzere çalışacağımız gen bölgesine özgü primer dizayn ederek PCR-RFLP yapılacak ve elde edilen veriler hasta-kontrol grubunda istatistiksel olarak karşılaştırılacaktır.

3.2. Kullanilan Araç ve Gereçler

3.2.1. Kimyasallar

Sodyum hidroksit (NaOH), asetik asit (CH_3COOH) Riedel-de Haen firmasından; sülfanilamid ($C_6H_8N_2O_2S$), N-Naftil etilendiamin ($C_{12}H_{14}N_2$), sodyum nitrit ($NaNO_2$), sodyum nitrat ($NaNO_3$), sodyum tetraborat ($Na_2B_4O_7$. 10 H_2O), çinko sülfat ($ZnSO_4$), glisin (CH_2NH_2COOH), sodyum dodesil sülfat ($C_{12}H_{25}NaO_4S$) Sigma firmasından; bakır sülfat ($CuSO_4$), sülfürik asit (H_2SO_4), kadmiyum, thiobarbuturik asit ($C_4H_4N_2O_2S$), n-butanol ($C_4H_{10}O$), piridin (C_5H_5N) Merck firmasından; 1,1,3,3-tetramethoksipropan ($(CH_3O)_2CHCH_2CH(OCH_3)$ Aldrich firmasından temin edildi ve hepsi analitik saflıkta maddelerdi.

Akrilamid	Sigma	A 9099

Amonyum asetat	Merck	A174189
Amonyum persülfat	Sigma	A 9164
Asetik asit	Sigma	A6283
Bisakrilamid	Sigma	M 7279
Borik asit	Sigma	B 6768
Brom fenol mavisi	Sigma	B5525
Etanol	Sigma	E7023
Etidium bromid	Sigma	E8751
EDTA	Sigma	E 5134
Formaldehit	Sigma	F 8775
Formamid	Sigma	F 9037
Gümüş nitrat	Sigma	S8157
Ksilen siyanol	Sigma	X4126
Sodyum klorid	Merck	K26744400
Sodyum karbonat	Sigma	S 7277
TEMED	Sigma	T 7024
Tris baz	Sigma	T 8524

3.2.2. Kullanılan Tampon ve Çözeltiler

3.2.2.1. DNA İzolasyon Çözeltileri

RBCL (eritrosit parçalama solisyonu) pH 7,4

0.01 0.15 M NH_4Cl, 0.01 M $KHCO_3$, 0.01 M EDTA (pH 8,0)

WBL (beyaz hücre parçalama solüsyonu)

0.1 M NaCl, 0.025 M-EDTA (pH 8,0)

Amonyum asetat solüsyonu

9.5 M NH4Ac (sterilizasyon için 0.2 mikronluk filtreden geçirilir)

TE tamponu (pH 8.0)

10 mM Tris HCl, 1 mM EDTA pH 8.0 (+20^{o}C)

SDS stok solüsyonu

10% (w/v) SDS , 0.2-0.45 μm membran ile filtre edilmiş

3.2.2.2. Elektroforez Solüsyonları

Yükleme tamponları

6 X agaroz jel yükleme tampon**,** % 0.25 bromfenol mavisi**,** % 0.25 Xanal cyanol **,** % 30 gliserol

Etidyum bromür stok solüsyonu

10 mg/ml etidyum Bromür, 50X TAE, 2 M Tris-Asetat, 0.05 M EDTA (pH 8,0)

5X TBE

0.45 M Tris Borat, 0.01 M EDTA (pH 8,0)

% 10'luk non-denatüre poliakrilamid jel solüsyonu (29:1 akrilamid: bisakrilamid)

%10 Akrilamid-Bisakrilamid, 1X TBE

Polimerizasyon için;

0.001 M amonyumpersülfat (APS), % 0,1 TEMED ilave edildi.

3.2.2.3. Gümüş Boyama Solüsyonları

10 X A solüsyonu: %5 asetik asit % 95 absolüt etil alkol

10 X B solüsyonu: %1 gümüş nitrat

C solüsyonu: 3 g NaOH, 0.02 g Boraks, %0,2 formaldehit

10 X D solüsyonu: 22,5 g Sodyum bikarbonat/ 1lt (opsiyonel)

3.2.3. Araç ve gereçler

Numune hazırlanması ve enzim analizlerinde eppendorf marka (10 μl, 100 μl, 1000 μl'lik) otomatik mikropipetler, nüve NM 110 marka vortex, sartorius BL2105 marka 0.0001 g'a duyarlı hassas terazi, nüve NF 800R marka santrifüj cihazı, eppendorf marka 5810R model mikrosantrifüj cihazı, shimadzu 1240 model uv/visible spektrofotometre, heidolph MR 301 marka ısıtmalı manyetik karıştırıcı, crison GLP 22 marka dijital pH metre, nüve BM 402 marka sıcak su banyosu, nüve FN 800 marka etüv,

elx 800 marka mikroelisa cihazı, BD vacutainer marka katkısız steril deney tüpleri ve ısı ayarlı inkübatör kullanıldı. İstatistik analizleri ise SPSS programı ile yapıldı.

Thermocycler (Eppendorf Mastercycler),Dikey elektroforez(BIORAD),Yatay elektroforez(BIORAD),Güç kaynağı (BIORAD Power Pac 3000),UV transilimünatör (BIORAD),Spektrofotometre (SHIMADZU),CanoScan N670U (Canon),Bilgisayar

3.3. METODLAR

3.3.1. Numune alınması ve hazırlık işlemleri

Hasta ve kontrollerin medyan venlerinden 10 ml kan alınarak, katkısız steril tüpe konuldu. Kan, pıhtılaştıktan hemen sonra bekletilmeden + 4 ^{0}C'de 3500 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifügasyon sonrası, örneklerin süpernatant (üst) kısımları 8 ayrı eppendorfa konularak (gerekli tüm bilgiler eppendorf üzerine yazılarak) –80 ^{0}C'de, saklandı. Numune toplama işlemi bittikten sonra –80 ^{0}C'deki örneklerden çalışılacak parametreye göre numune eppendorfları çıkartılarak oda sıcaklığında çözülmeye bırakıldı ve daha sonra analizler yapıldı.

3.3.2. Periferik Kandan DNA İzolasyonu

1. 10 ml periferik kan 50 ml'lik falkon tüpüne aktarılarak üzerine 1:3 oranında eritrosit lizis tamponu eklendi. +4^{o}C'de 20 dakika bekletilip, 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.

2. Örnek santrifüjden alınarak üzerindeki süpernatan atıldı. Pellet süspanse edildi ve üzerine 20 ml eritrosit lizis tamponu eklendi. Tekrar 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatan atıldı.
3. Pelet tamamen süspanse edilip üzerine 500 µl SDS (%10'luk), 50µl proteinaz K (20mg/ml) ve 9,4 ml WBL (White Blood-Cell Lysis) tamponu eklenerek 56^{o}C'de gece boyu bekletildi.

4. İnkübasyon sonrası üzerine 4 ml Amonyum asetat (9.5M) eklenip iyice karıştırıldı. 20 dakika 4500 rpm'de santrifüj edildi.

5. Üstteki temiz kısım alınarak yeni bir falkon tüpe aktarıldı, pellet atıldı. Supernatanın üzerine 20 ml etanol eklendi ve DNA'nın toplanması beklendi. DNA alınarak bir eppendorf tüpe aktarıldı ve üzerine 1ml % 70 etanol koyuldu. Maksimum hızda (13.200 rpm) 10 dakika santrifüj edilerek DNA çöktürüldü ve süpernatan atıldı. Kurutma işlemi ile kalan alkol uçuruldu.
6. Elde edilen DNA'nın miktarına göre 100–300µl kadar TE (Tris-EDTA, pH=8.0) tamponu eklenerek 56^{o}C'de 1 saat bekletilerek +4^{o}C'de muhafaza edildi.

3.3.3 DNA Konsantrasyonu ve Saflığının Ölçümü

1. Stok DNA tüpünden 1µl örnek alındı ve 1,5 ml'lik eppendorf tüpüne aktarıldı.
2. Üzerine 99µl TE eklenerek 1/100 oranında sulandırıldı.
3. Örneğin spektrofotometrede 260 ve 280 nm ultraviole dalgaboyunda absorbsiyon değerleri okundu
4. DNA miktarı formüle göre hesaplandı:
   Konsantrasyon= 100 (sulandırma) x 50 (sabit) x OD 260= ng/µl DNA
5. OD 260/280 > 1,8 RNA, < 1,8 protein kontaminasyonu olarak değerlendirildi.

3.4 GENOTİPLEME

Genotipleme alınan kan örneklerinden izole edilen DNA'lardan Polimeraz Zincir Reaksiyonu- Restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi (Polymerase Chain Reaktion-Restriction Length Polymorphism (PCR-RFLP)) metodu ile yapıldı. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu):

Bu yöntemle her bir gen (eksonik ve intronik tüm bölgeleri içeren) için özel primerler dizayn edilerek, genomik DNA'nın çoğaltılması sağlanacaktır.

3.4.1 PCR

NBS1 924T>C polimorfizmi Sfar S ve ark. (2006) yayınladığı metod ile incelendi ve analiz yapıldı. PCR reaksiyonu için 100 ng genomic DNA, 10 pmol forward (F: 5′-CCAATGTTAACCCACCCTTTT-3′ ve reverse R:5′-

AGGCTGGTTTACCAATCTCTG-3′ primerler kullanarak amplifiye edildi. PCR şartları: 95^{o}C de 5 dk. denaturasyonu takiben 95^{o}C 30sn, 61 ^{o}C'de 45sn. ve 72 ^{o}C'de 50sn. 35 döngü ve son olarak 72 ^{o}C'de 10 dk. şeklinde yapıldı. Total miktarı 25µl olan PCR mix'i 10mM Tris-Cl (pH 8,8), 50 mM KCl, %0.08 Nonidet P40 ve 1,5mM $MgCl_2$, 200 µM dNTP ve 1,0 U Taq DNA polimeraz (MBI Fermentas) içerecek şekilde hazırlandı.

NBS1 8360G>C polimorfizmi Sfar S ve ark. (2006) yayınladığı metod ile incelendi ve analiz yapıldı. PCR reaksiyonu için 100 ng genomic DNA, 10 pmol forward (F: 5′-CGTCCAATTGTAAAGCCAGAA-3′) ve (R: 5′-TCCTGAAACAAGCATTAAAGAGG-3′primerler kullanarak amplifiye edildi. PCR şartları: 94^{o}C de 5 dk. denaturasyonu takiben 95^{o}C 45 sn, 54 ^{o}C'de 45 sn. ve 72 ^{o}C'de 1dk. 35 döngü ve son olarak 72 ^{o}C'de 60 sn. şeklinde yapıldı. Total miktarı 25µl olan PCR mix'i 10mM Tris-Cl (pH 8,8), 50 mM KCl, %0.08 Nonidet P40 ve 1,5mM $MgCl_2$, 200 µM dNTP ve 1,0 U Taq DNA polimeraz (MBI Fermentas) içerecek şekilde hazırlandı.

NBS1 30537G>C polimorfizmi Sfar S ve ark. (2006) yayınladığı metod ile incelendi ve analiz yapıldı. PCR reaksiyonu için 100 ng genomic DNA, 10 pmol forward (F: 5′-TTGCTTGAATGACAGCCTGA-3′ ve (R: 5′-TCAGCCAGATGGCAGACTC-3′primerler kullanarak amplifiye edildi. PCR şartları: 95^{o}C de 5 dk. denaturasyonu takiben 95^{o}C 30 sn, 61 ^{o}C'de 45 sn. ve 72 ^{o}C'de 50 sn. 35 döngü ve son olarak 72 ^{o}C'de 10 dk. şeklinde yapıldı. Total miktarı 25µl olan PCR mix'i 10mM Tris-Cl (pH 8,8), 50 mM KCl, %0.08 Nonidet P40 ve 1,5mM $MgCl_2$, 200 µM dNTP ve 1,0 U Taq DNA polimeraz (MBI Fermentas) içerecek şekilde hazırlandı.

3.4.1.1. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi

Toplam 25µl hacimde gerçekleştirilen reaksiyondan kontrol amacı ile 5µl alınarak 6X agaroz yükleme tamponu ile karıştırıldı. %2'lik agaroz jele pUC-Mix (MBI) size markır ile birlikte yüklenen PCR ürünleri, 50 V akımda yaklaşık 1 saat yürütüldü. UV transilüminatörde görüntülenerek fotoğrafları çekildi.

3.4.1.2. RFLP

BclI restriksiyon enzim kesimi total olarak 15 µl olup 1X BclF1 tamponu (NE Buffer), 1U BclFI enzimi, 5 µl PCR ürünü ve 6 µl steril distile su içerecek şekilde hazırlandı ve gece boyunca 55^{o} C'de bekletilerek yapıldı. HinfI restriksiyon enzim kesimi de total olarak 15 µl olup 1X HinfI tamponu (NE Buffer), 1U HinfI enzimi, 5 µl PCR ürünü ve 6 µl steril distile su içerecek şekilde hazırlandı ve gece boyunca 37^{o} C'de bekletilerek yapıldı. EarI restriksiyon enzim kesimi total olarak 15 µl olup 1X EarI tamponu 1U EarI enzimi, 5 µl PCR ürünü ve 6 µl steril distile su içerecek şekilde hazırlandı ve gece boyunca 37^{o} C'de bekletilerek yapıldı. Kesim ürünleri %10'luk poliakrilamid jelde (29:1) yürütülüp, gümüş nitrat metodu ile boyanarak görüntülendi. Tarayıcı yardımı ile tüm görüntüler bilgisayara kaydedildi. NBS1 924T>C polimorfizmi için bantlar TT formu için 121 ve 20 bp, CC formu için 141bp, ve heterozigot formu için 141bp , 121bp ve 20 bp olarak gözlendi. NBS1 8360G>C polimorfizmi için de bantlar GG formu için 125bp, 49bp, CC formu için 174bp ve heterozigot formu için 174bp,125bp ve 49bp olarak gözlendi.

NBS1 30537G>C polimorfizmi için bantlar GG formu için 197 bp, GC formu için 172bp ve 25 bp, ve heterozigot formu için 197bp , 172bp ve 25 bp olarak gözlendi.

3.4.1.2.1. Kesim Ürünlerinin Poliakrilamid Jel Elektroforezi

35 cm x 10 cm ebatlarında hazırlanan jelin elektroforezi için dikey elektroforez cihazı kullanıldı. Jelin kalınlığı 0,5 mm olarak ayarlandı. Yüzde onluk PAGE stok solüsyonuna sırası ile % 10'luk APS stoğundan % 1 hacim ve TEMED'den % 0,1 hacim ilave edilip 0,5 mm'lik cam aralığına döküldü. Polimerizasyonun tamamlanması için en az 1/2 saat beklendi.

Polimerizasyon sonrası camlar elektroforez cihazına yerleştirildi, 1X TBE içeren yürütme tamponu ilave edildi. Örnekler jel kuyucuklarına yüklendi. Yükleme tamponu içinde bulunan ve elektrik alanda hareket eden brom fenol mavisi ve ksilen siyanol boyalarının yürüdükleri mesafe takip edilerek akım aşağıdaki çizelgelerde

verildiği gibi ayarlandı. Çizelgelerde verilen süreler sonunda jel çıkartılarak gümüş boyama işlemine geçildi.

3.4.1.2.2. Gümüş Boyama

Solüsyonlarda ve yıkamada kullanılan suyun kalitesi önemli olduğundan test edilmiş distile su kullanıldı. Elde hafif çalkalama ile aşağıdaki solüsyonlarda sıra ile bekletildi. C solüsyonu kullanımdan hemen önce hazırlandı. Sonraki solüsyonlara geçerken aralarda distile su ile bir kaç saniyelik kısa süreler ile yıkandı.

A solüsyonu (Asetik asit-etanol): 200 ml distile suya stok solüsyondan 10 ml ilave edilerek hazırlandı ve jel bu solisyonla 5 dakika muamele edildi.

B solüsyonu (Gümüş nitrat): 200 ml distile suya stok solüsyondan 10 ml ilave edilerek hazırlandı ve jel bu solisyonla 10 dakika muamele edildi.

C solüsyonu (NaOH-Boraks-Formaldehit): 200 ml distile suya 2.5 gr NaOH ve 0.02 gr boraks ilave edildi ve jel bu solisyona alındıktan sonra solüsyonun içerisine 1ml formaldehit ilave edilerek bantlar görülünceye kadar jel solüsyon içerisinde tutuldu.

D solüsyonunu ($NaHCO_3$): 200 ml distile suya stok solüsyondan 20 ml ilave edilerek hazırlandı ve jel bu solüsyonla 5 dakika muamele edildi.

Distile suda yıkanan jel nemli olarak asetat arasına alındı ve naylon dosya poşeti içine alınarak hava alması engellenecek şekilde saklandı.

3.5 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel verilerin analizinde SSPS (Statistical Package for the Social Sciences) 13.0 paket programı kullanıldı. Verilerin normal dağılımına bakılarak Tek yönlü varyans analizi ve posthoc test ile ve bir grup test ise Kikare testi kullanılarak değerlendirildi. Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verildi.

4.BULGULAR

Çalışmaya 101 meme kanserli kadın ve 115 sağlıklı kadın kontrol grubu olmak üzere toplam 216 kişi dahil edilmiştir. Ortalama yaş 52'dir. Vaka ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı yaş farkı yoktu. Histopatolojik olarak hastaların 9'u invaziv lobüler karsinom, 2'si paget hastalığı/karsinom, 1'i miks invaziv karsinom ve 89'u invaziv duktal karsinom tanısı almıştır. Ameliyat tekniği olarak hastalara modifiye radikal mastektomi (72 hasta) ve meme koruyucu cerrahi (29 hasta) uygulanmıştır. Hastaların tamamı erken evre ve lokal ileri evrede olup metastatik meme karsinomlu hasta çalışmada yer almamıştır. On altı hastada ailede meme kanseri öyküsü vardı. Hastaların 5'inde bir tane birinci derece akrabada; 9'unda ikinci derece bir akrabada ve 2'sinde hem birinci hem ikinci derece akrabada meme kanseri öyküsü mevcuttu.

Tablo 2. Hasta ve kontrol grubunun demografik verileri

	Hasta sayısı (n)	**Kontrol (n)**
Yaş, yıl (ortalama)	52,71 (± 10,4)	52,03 (± 9,8)
Cinsiyet (Kadın/Erkek)	101/0	115/0

Tablo 3. Hasta grubunun klinik özellikleri

	Hasta (n)
Meme kanseri tipleri	
İnvaziv Duktal	89
Invaziv Lobuler	9
Mix tip	1
Paget/ Karsinoma insitu	2
Ameliyat tekniği	
MRM	72
MKC	29
Aile öyküsü	
Var	16
Yok	85
Evre	
Erken evre	59
Lokal ileri	42
Mestastatik	0

MRM: Modifiye Radikal Mastektomi, **MKC**: Meme Koruyucu Cerrahi

4.1 NBS1 Genotip Dağılımları ve Meme Kanseri Riski

NBS1 924 T>C , 8360 G>C ve 30537 G>C polimorfizmi genotip ve allelleri vaka ve kontrol grubu arasında karşılaştırıldı. Bu üç bölgenin genotip frekansları Hardy-Weinberg dengesine göre kontrol grubuyla uyumlu bulundu. (sırasıyla p=0.894 , 0.150 , 0.067)

NBS1 924 T>C polimorfizmi; 924 TT genotipi, homozigot 924 CC taşıyıcıları ve heterozigot 924 TC taşıycıları ile karşılaştırıldı. NBS1 924 T>C polimorfizmi meme kanseri ile ilişkili bulundu. (Chi2:4.654 , df :1, p=0.031)

924 TT genotipi vakaların 93 ünde (% 92.1) kontrol grubun 113 ünde (%98.3) vardı. 924 TC genotipi vakaların 8 inde (%7.9) kontrol grubun 2 sinde (%1.7) vardı. 924 CC genotipi vaka ve kontrol grubu hiçbir olguda izlenmedi. (% 0)

C alleli vaka grubunda 0.039 ve kontrol grubunda 0.01 olarak bulundu ve *p* değeri :0.031 olarak belirlendi.

NBS1 8360 G>C polimorfizmi genotip frekansları vaka grubunda; GG 43 vaka (%42.6), GC 39 vaka (%38.6) ve CC 19 vaka (%18.81) idi. Kontrol grubunda ise GG 55 (% 47.8), GC 44 (%38.3) ve CC 16 (% 13.9) bulundu. Ve vaka-kontrol arasındaki istatistiksel fark anlamlı değildi.(Chi2 :1,125 , df:2 p : 0.570)

C alleli vaka grubunda 0.38 ve kontrol grubunda 0.33 olarak bulundu ve *p* değeri : 0.439 olarak belirlendi.

NBS1 30537 G>C polimorfizmi genotip frekansları vaka grubunda ; GG 60 vaka (%59.4), GC 33 vaka (%32.7) ve CC 8 vaka (%7.9) bulundu. Kontrol grubunda GG 60 (%52.2), GC 51 (%44.3) ve CC 4 (%3.5) bulundu. C alleli vaka grubunda 0.24 ve kontrol grubunda 0.25 bulundu ve *p* değeri: 0.286 belirlendi. NBS1 30537 G>C polimorfizmi meme kanseri ile ilişkili bulunmadı (Chi2=4.30 , df =2, *p*=0.116).

Tablo 4. Meme kanseri riski için NBS1 genotip ve allel frekansları

Genotip	**Vaka**	**Kontrol**	**p***
Toplam kişi	101 n (%)	115 n (%)	
Alleller	202	230	
NBS1 924 T>C			0.031
TT	93(%92.1)	113(%98.3)	
TC	8(%7.9)	2(%1.7)	
CC	0(%0)	0(%0)	
C allel	0.039	0.01	0.031
NBS1 8360 G>C			0.570
GG	43(%42.6)	55(%47.8)	
GC	39(%38.6)	44(%38.3)	
CC	19(%18.8)	16(%13.9)	
C allel	0.38	0.33	0.439
NBS1 30537 G>C			0.116
GG	60 (%59.4)	60(%52.2)	
GC	33 (%32.7)	51(%44.3)	
CC	8(%7.9)	4(%3.5)	
C allel	0.24	0.25	0.286

*Ki-kare testi

5.TARTIŞMA

Meme kanseri için risk faktörlerini anlamak, hem bireysel hem de toplumsal olarak, yüksek risk altındaki kadınları tespit etmek ve risk değiştirmek için müdahale etmeye izin verir. BRCA1 ve BRCA2 genlerinin ailesel meme kanseri olguları ile ilişkisi gösterilmiştir. Ancak BRCA1 ve BRCA2 mutasyonları meme kanseri gelişimi için %100 risk olduğunu gösteren belirteçler değildir. Bu mutasyonların penetrans oranları %45-90 arasında değişmektedir. Bu ve daha başka genlerin tanımlanmasıyla beraber genetik taşıyıcıların kan testleri yoluyla belirlenmesi ve meme kanseri açısından riskli olan bu bireylere danışmanlık verilerek, kanser surveyansı ile ilgili olarak kendi geleceklerini belirleme hakkını kullanmaları gündeme gelmiştir. Ayrıca henüz meme kanserinden sorumlu tüm genetik bilgi ortaya çıkarılamamıştır. Özellikle yatkınlık yaratan genler, onlarla etkileşime giren çevresel ve kişisel faktörler ölçülebilecek kadar detaylı tanımlanmamıştır. Bu konularda ortaya çıkarılacak bilginin artışı da önce riskli bireyler sonra da tüm kadınlara yaygınlaştırılacak şekilde bir bilgi ve danışmanlık hizmetinin oluşturulmasını gerektirecektir.

Literatürde meme kanseri etyolojisinde orta derece risk oluşturan NBS1 geni çalışılmış ve bazı popülasyonlarda anlamlı bulunmuştur. DNA çift zincir kırıkları onarılamazsa genomik kararsızlığa ve kansere yol açabilir. Nijmegen kırılması sendromu 1 (NBS1) proteini insanlarda DNA çift zincir kırık tamirine katılan anahtar proteinlerden biridir (61).

NBN mutasyonlarının meme kanseri riski üzerinde etkili varyantları belirsizdir. Bununla birlikte, çalışmalar NBN heterozigot taşıyıcılarının hücrelerinde artmış spontan kromozomal instabilite göstermiştir (62).

Literatürde NBS1'in özellikle genç kadınlarda (≤ 55 yıl), sporadik meme kanseri riski ile ilişkili olduğu hipotezi vaka-kontrol çalışmalarında doğrulanmıştır (63,64). NBS1 polimorfizmleri ve haplotiplerinin genç Latin kökenli olmayan beyaz kadınlarda sporadik meme kanseri etiyolojisinde bulunabileceğini düşündüren çalışmalar vardır (65).

Biz de bunlardan yola çıkarak NBS1 polimorfizmleri meme kanseri riski ile ilişkilidir hipoteziyle 924T> C, 8360G> C ve 30537G> C NBS1 haplotip-etiketleme polimorfizmlerini Türk toplumunda ilk defa sporadik meme kanserli vakalar ve sağlıklı kontrol grubu arasında karşılaştırdık.

Bizim vaka-kontrol çalışmamızda NBS1 924 T>C polimorfizmi meme kanseri ile ilişkili bulundu. (Chi2:4.654 , df :1, p=0.031) Bu bölge transkripsiyon faktörü GATA-1 bağlanma bölgesinde yer almaktadır ve promotor bölgede yer alması nedeniyle kanser gelişiminde önemli olabilir. Promotor bölge varyant çalışmalarında meme kanseri duyarlılığını destekler bulgular elde edilmiştir. Örneğin başka bir çalışma analizi nibrin varyasyonlarının meme kanseri riskinde potansiyeli olduğunu göstermiştir. Nibrin varyasyonları yüksek riskli meme kanseri vakalarında, düşük frekans da olsa mevcuttur. Ayrıca analizleri tümüyle bulunan varyantlar için özellikle nibrin promotor bölge, meme kanseri duyarlılığında bu varyantların tam etkisini tespit etmek için gerekli olacaktır sonucuna varılmıştır (66). Çalışmamızda NBS1 924 T>C polimorfizmi bakımından heterozigot olan 8 hastanın 6' sı lokal ileri evre ve 2' si erken evre meme kanseriydi. TC genotipini taşıyan hastaların ileri evre olması bu polimorfizmin meme kanserinde daha ileri evre ve kötü prognozla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Fakat hasta popülasyonumuzun az olması kesin bir yargıya gidelebilmesini mümkün kılmamaktadır. Kesin ve net sonuçlar için daha sonra yapılacak çalışmalarda geniş hasta populasyonuna ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalıştığımız diğer bir bölge olan NBS1 8360 G>C polimorfizmi NBS1 geninin en çok çalışılan polimorfizmlerinden biridir ve sonuçlar çelişkilidir (67). Çalışmamızda meme kanseri ile ilişkili bulunmadı. (Chi2=1.125, df =2, p=0.570) Ancak literatürde bu bölge polimorfizmi üzerine yapılan 10 vaka-kontrol çalışmasının analizinde bu bölgenin genel toplumda meme kanseri riski ile ilişkili olduğu bulunmuştur (67). Yine başka bir meta-analiz NBS1 8360 G>C varyant genotipinin(8360 GC / CC) özellikle beyaz ırkta meme kanser riskinde artışa neden olabileceğini düşündürmektedir (68). Çalışmamızda NBS1 8360 CC mutant genotipi hasta grubun %18.8'inde ve kontrol grubun %13.9'unda mevcuttu. Hasta grupta istatistiksel olarak anlamlı çıkmasa da bu mutant genin yüzdesi kontrol grubuna göre fazladır. Bu da daha büyük bir hasta grubunda meme kanseri riski

açısından anlamlı olabileceğinin göstergesidir. NBS1 8360 CC mutantların 9' u lokal ileri evrede olup 10' u erken evre meme kanseriydi. İleri evre ve erken evre bakımından CC genotipini taşıyan hasta sayısının hemen hemen eşit olması bu polimorfizmin evreleme ile ilişkili olmadığını düşündürmektedir.

Çalışılan üçüncü bölge olan NBS1 30537 G>C polimorfizminin meme kanseri ile ilişkili olmadığı bulundu (Chi2=4.301 , df =2, p=0.116). Yine NBS1 30537 CC mutant hastaların %7.9' unda , kontrol grubun ise %3.5' inde mevcuttu. Bu mutantların 2'si lokal ileri ve 6'sı erken evre meme kanseriydi. CC genotipinin erken evre hastalarda daha fazla görülmesi bu genotipin erken evre ile ilişkili olabileceğini göstermektedir. Fakat çalıştığımız diğer bölgelerde olduğu gibi sayının az olması kesin yargılara gidilmesini zorlaştırmaktadır.

NBS hastalarının yaklaşık % 40 ında 21 yaşından önce kanser gelişir (69). NBS polimorfizmlerinin de 55 yaş ve altı gruplarda görülmesi bu genin daha genç hasta gruplarında meme kanseri riski açısından daha önemli olabileceğini göstermektedir. Bizim hasta grubunda yaş ortalamamız 52 dir. Dikkat çekici olarak çalışmamızda yer alan 2 paget hastalığı/karsinoma in situ tanılı hastada NBS1 924 TC mutasyonu bulunmuştur ve bu hastaların her ikisinin de yaşları 36 olup daha genç gruba girmektedir. Bunlardan yola çıkarak bu gen polimorfizmlerinin erken yaş gruplarında çalışılması önerilebilir.

Çalışmamızın eksik kaldığı nokta örneklem büyüklüğümüzün yeterli olmamasıdır. İstatistiksel anlamlı çıkmayan varyantlar olan NBS1 8360 CC mutant genotipi ve NBS1 30537 CC mutant genotiplerinde eğilim mevcuttur. Vaka sayısı arttırılılarak ve subgruplar oluşturularak bu lokalizasyonlar daha geniş serilerde çalışılabilir. Literatürde beyaz ırk veya non hispanik beyaz kadınlar veya afroamerikanlar gibi daha homojen gruplar çalışılmıştır. Bizim vakalarımız hastane tabanlı olup heterojendir ve genel nüfusu temsil etmiyor olabilir. Bu nedenle sonuçlar anlamlı çıkmamış olabilir. Ya da Türk popülasyonunda bu polimorfizmlerin sıklığı farklı olabilir.

Çalışmamızın kısıtlılıkları haplotip analizinin olmayışı, düzeltilmiş tahminleri esas alarak yaş, menopozal durum, çevre faktörleri, sigara, iyonize radyasyon maruziyeti

gibi faktörleri göz önünde bulundurmaması ve vaka sayısının azlığıdır. Çalışma retrospektiftir. Örneklem büyüklüğü fazla olan prospektif ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu çalışmaya vaka sayısı arttırılarak daha büyük bir popülasyonda subgruplar belirlenerek devam edilecektir.

Çalışmamızın kuvvetli tarafı bu polimorfizmlerin Türk popülasyonunda ilk kez çalışılıyor olmasıdır ve NBS1 924T> C veya 30537G> C polimorfizmi ile kanser riski literatürde bu çalışmadan başka sadece bir çalışmada incelenmiştir. Böylece literatüre katkıda bulunduğumuzu düşünüyoruz.

924TC ve 30537CC genotipi taşıyan hastalarda hiç aile öyküsü yokken 8360CC mutasyonu olan 19 hastanın 2 sinde aile öyküsü vardı. Bu veriler bu polimorfizmlerin ailesel meme kanserinden çok sporadik vakalarda mı etkili olup olmadığının araştırılmasını da önemli kılmaktadır.

6.SONUÇ

Sonuç olarak, bu hastane temelli retrospektif vaka-kontrol çalışmasında Türk popülasyonunda ilk kez çalışılan NBS1 polimorfizmleri ile sporadik meme kanseri riski arasında NBS1 geninin promotor bölgesindeki 924 T>C varyant arasında anlamlı bir ilişki bulundu. NBS1 geni özellikle genç kadınlarda, sporadik meme kanseri riskine katkıda bulunabilir. Bu önerileri aydınlatmak ve netleştirmek için daha ileri, geniş kapsamlı araştırmalara ihtiyaç vardır.

7. ÖZET

Amaç: Meme kanseri kadınlarda en sık görülen kanserdir. Meme kanseri etyolojisinde genetik ve çevresel faktörlerin bir kombinasyon halinde etkileştiği bilinmektedir. NBS1 (nibrin) gen mutasyonu meme kanserinde orta derecede risk oluşturmaktadır. Bu retrospektif araştırmada amacımız; Türk popülasyonunda sporadik meme kanserli kadınlarda NBS1 polimorfizminin meme kanseri ile ilişkisini araştırmak ve literatüre katkıda bulunmaktır.

Materyal metod: Bu araştırmada kullanılan kan örnekleri, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı servisinde meme kanseri tanısı alarak cerrahi ve medikal tedavi uygulanmış, bilgilendirilmiş gönüllü olur alınan, 101 meme kanserli kadın hastadan ve yaş olarak uyumlu 115 normal sağlıklı gönüllüden alındı. 101 meme kanserli ve 115 sağlıklı kontrol grubundan alınan periferik kan örneklerinden elde edilmiş olan DNA izolasyon numunelerinde retrospektif olarak NBS1 924 T>C , 8360 G>C ve 30537 G>C polimorfizmini araştırmak üzere çalışacağımız gen bölgesine özgü primer dizayn ederek PCR-RFLP yapıldı ve elde edilen veriler hasta-kontrol grubunda istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Bulgular: NBS1 924 T>C, 8360 G>C ve 30537 G>C polimorfizmi genotip ve allelleri, vaka ve kontrol grubu arasında karşılaştırıldı. NBS1 924 T>C polimorfizmi meme kanseri ile ilişkili bulundu (Chi2:4.654, df:1, p=0.031). NBS1 8360 G>C polimorfizmi vaka-kontrol arasındaki istatistiksel fark anlamlı bulunmadı (Chi2 :1,125, df:2 p: 0.570). NBS1 30537 G>C polimorfizmi meme kanseri ile ilişkili bulunmadı (Chi2=4.301, df =2, p=0.116). Ancak bu son iki polimorfizmde istatistiksel anlamlı çıkmasa da eğilim saptandı.

Tartışma: Türk popülasyonunda ilk kez çalışılan NBS1 polimorfizmleri ile sporadik meme kanseri riski arasında promotor bölgedeki 924 T>C varyant arasında anlamlı bir ilişki bulundu. Her ne kadar istatistiksel anlamlı çıkmasa da NBS1 8360 CC mutant

genotipi ve NBS1 30537 CC mutant genotiplerinde eğilim mevcuttur. NBS1 geni özellikle genç kadınlarda, sporadik meme kanseri riskine katkıda bulunabilir. Bu önerileri aydınlatmak ve netleştirmek için daha ileri ve geniş kapsamlı araştırmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri, NBS1, genetik

8.ABSTRACT

Objective: Breast cancer is the most common cancer in women. In breast cancer etiology its known that genetic and enviromental factors effect each other in a combination. NBS1 (nibrin) gene mutation has a moderate risk in breast cancer. Aim of this retrospective study to investigate the relationship between NBS1 polymorphism and breast cancer in women with sporadic breast cancer and contribute this study to the literature.

Material Method: The blood samples used in this research was taken from 101 women with breast cancer and 116 healthy, suitable volunteering patients who had been diagnosed with breast cancer and had received surgical and medical treatment in Kocaeli Faculty of Medical Science`s Department of General Surgery.

The DNA isolation samples that was acquired from the peripheral blood samples taken from the control group consisting 101 breast cancered and 116 healthy women has been primarly designed PCR-RFLP`ed particular to the gene area that we will study NBS1 924 T>C , 8360 G>C and 30537 G>C polymorphism as a retrospective.

Results: NBS1 924 T>C, 8360 G>C and 30537 G>C polymorphism`s genotypes and alleles has been compared between case and control groups. NBS1 924 T>C polymorphism has been found related with breast cancer( Chi2:4.654, df:1, p=0.031) . NBS1 8360 G>C polymorphism`s statistics difference between case-control was not found meaningfull (Chi2 :1,125, df:2 p: 0.570). NBS1 30537 G>C polymorhphism hadnt been found related to breast cancer (Chi2=4.301, df =2, p=0.116).
However even though these last two polymorphism`s havent been meaningfull a tendency has been found.

Argument: A meaningfull relationship between 924 T>C variance in the promoter zone of NBS1 polymorhphisms that has been studied for the first time in turkish population and sporadic breast cancer risk has been found. Even though statistically not meaningfull there is a tendency in both NBS1 8360 CC and NBS1 30537 CC mutant genotypes. NBS1 gene might add to the chances of sporadic breast cancer especially in young women. To enlighten and clearize these suggestions more advanced and bigger scoped researches are needed.

Key Words: Breast cancer, NBS1, Genetics

9.KAYNAKLAR

1) Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. CA Cancer J Clin. 2011;61(4):212
2) Siegel R, Naishadham D, Jemal A Cancer statistics, 2012. CA Cancer J Clin. 2012;62(1):10
3) Warner E, Plewes DB, Hill KA, et al. Surveillance of BRCA1 and BRCA2 mutation carriers with magnetic resonance imaging, ultrasound, mammography and clinical breast examination. J Am Med Assoc 2004;292:1317–25.
4) Canning LA, Baird P. Genetic testing for hereditary cancers: The impact of gender on interest, uptake and ethical considerations. Critical Reviews in Oncology/Hematology 2006;58:114–23.
5) Clarke A, Parsons E, Williams A. Outcomes and process in genetic counselling. Clin Genet 1996;50:462–9.
6) Bowles BB, Marteau TM. The future of genetic counselling: an international perspective. Nat Genet 1999;22:133–7.
7) How effective are breast cancer screening programmes by mammography? Review of the current evidence. Schopper D, de Wolf C Eur J Cancer. 2009;45(11):1916
8) Fisher B, Costantino JP, Wickerham DL, Cecchini RS, Cronin WM, Robidoux A, Bevers TB, Kavanah MT, Atkins JN, Margolese RG, Runowicz CD, James JM, Ford LG, Wolmark N. Tamoxifen for the prevention of breast cancer: current status

of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 study. J Natl Cancer Inst. 2005;97(22):1652

9) Domchek SM, Friebel TM, Singer CF, Evans DG, Lynch HT, Isaacs C, Garber JE, Neuhausen SL, Matloff E, Eeles R, Pichert G, Van t'veer L, Tung N, Weitzel JN, Couch FJ, Rubinstein WS, Ganz PA, Daly MB, Olopade OI, Tomlinson G, Schildkraut J, Blum JL, Rebbeck TR. Association of risk-reducing surgery in BRCA1 or BRCA2 mutation carriers with cancer risk and mortality. JAMA. 2010;304(9):967

10) Desjardins S, Beauparlant JC, Labrie Y, Ouellette G, Durocher F; Variations in the NBN/NBS1 gene and the risk of breast cancer in non-BRCA1/2 French Canadian families with high risk of breast cancer. INHERIT BRCAs. BMC Cancer. 2009 Jun 12;9:181

11) di Masi A, Antoccia A. NBS1 Heterozygosity and Cancer Risk. Curr Genomics. 2008 Jun;9(4):275-81

12) Nowak J, Mosor M, Ziółkowska I, Wierzbicka M, Pernak-Schwarz M, Przyborska M, Roznowski K, Pławski A, Słomski R, Januszkiewicz D Heterozygous carriers of the I171V mutation of the NBS1 gene have a significantly increased risk of solid malignant tumours. . Eur J Cancer. 2008 Mar;44(4):627-30. Epub 2008 Feb 15)

13) Seemanová E, Jarolim P, Seeman P, Varon R, Digweed M, Swift M, Sperling K Cancer risk of heterozygotes with the NBN founder mutation. J Natl Cancer Inst. 2007 Dec 19;99(24):1875-80. Epub 2007 Dec 11 Carcinogenesis. 2006 Nov;27(11):2209-16. Epub 2006 May 19.

14) Lu J, Wei Q, Bondy ML, Li D, Brewster A, Shete S, Yu TK, Sahin A, Meric-Bernstam F, Hunt KK, Singletary SE, Ross MI, Wang LE.Polymorphisms and haplotypes of the NBS1 gene are associated with risk of sporadic breast cancer in non-Hispanic white women <or=55 years. Carcinogenesis.2006 Nov;27(11):2209-16. Epub 2006 May 19.

15) Dere F. Anatomi Ders Kitabi. Adana: Okullar Pazari Kirtasiye Ve Tic. Pazarlama Ltd. Sti, 1994: 60-64

16) Skandalakis JE, Skandalakis PN, Skandalakis LJ. Cerrahi Anatomi ve Teknik. Qeviri: Seven R, Yatli T, Erbil Y, Degerli Ü. Cerrahi Anatomi Ve Teknik El Kitabi. Istanbul: Nobel Tip Kitabevleri Ltd Sti, 2000: 99-121.

17) Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D Global cancer statistics. CA Cancer J Clin. 2011;61(2):69

18) Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. CA Cancer J Clin. 2005;55(2):74

19) Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. CA Cancer J Clin. 2010;60(5):277

20) Pike MC, Spicer DV, Dahmoush L, Press MF. Estrogens, progestogens, normal breast cell proliferation, and breast cancer risk. Epidemiol Rev. 1993;15(1):17

21) Worsham MJ, Raju U, Lu M, Kapke A, Cheng J, Wolman SR. Multiplicity of benign breast lesions is a risk factor for progression to breast cancer. Clin Cancer Res. 2007;13(18 Pt 1):5474.

22) Degnim AC, Visscher DW, Berman HK, Frost MH, Sellers TA, Vierkant RA, Maloney SD, Pankratz VS, de Groen PC, Lingle WL, Ghosh K, Penheiter L, Tlsty T, Melton LJ 3rd, Reynolds CA, Hartmann LC. Stratification of breast cancer risk in women with atypia: a Mayo cohort study.
J Clin Oncol. 2007;25(19):2671

23) Fisher B, Dignam J, Wolmark N, Wickerham DL, Fisher ER, Mamounas E, Smith R, Begovic M, Dimitrov NV, Margolese RG, Kardinal CG, Kavanah MT, Fehrenbacher L, Oishi RH Tamoxifen in treatment of intraductal breast cancer: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-24 randomised controlled trial. Lancet. 1999;353(9169):1993

24) Kelsey JL, Fischer DB, Holford TR, LiVoisi VA, Mostow ED, Goldenberg IS, White C. Exogenous estrogens and other factors in the epidemiology of breast cancer. J Natl Cancer Inst. 1981;67(2):327

25) van den Brandt PA, Spiegelman D, Yaun SS, Adami HO, Beeson L, Folsom AR, Fraser G, Goldbohm RA, Graham S, Kushi L, Marshall JR, Miller AB, Rohan T, Smith-Warner SA, Speizer FE, Willett WC, Wolk A, Hunter DJ. Pooled analysis of

prospective cohort studies on height, weight, and breast cancer risk. Am J Epidemiol. 2000;152(6):514

26) Gunter MJ, Hoover DR, Yu H, Wassertheil-Smoller S, Rohan TE, Manson JE, Li J, Ho GY, Xue X, Anderson GL, Kaplan RC, Harris TG, Howard BV, Wylie-Rosett J, Burk RD, Strickler HD. Insulin, insulin-like growth factor-I, and risk of breast cancer in postmenopausal women. J Natl Cancer Inst. 2009;101(1):48

27) Maruti SS, Willett WC, Feskanich D, Rosner B, Colditz GA. A prospective study of age-specific physical activity and premenopausal breast cancer. J Natl Cancer Inst. 2008;100(10):728

28) Band PR, Le ND, Fang R, Deschamps M. Carcinogenic and endocrine disrupting effects of cigarette smoke and risk of breast cancer. Lancet. 2002;360(9339):1044

29) .Willett WC. Diet and cancer: one view at the start of the millennium. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2001;10(1):3

30) Clemons M, Goss P. Estrogen and the risk of breast cancer. N Engl J Med. 2001;344(4):276

31) Colditz GA, Rosner B. Cumulative risk of breast cancer to age 70 years according to risk factor status: data from the Nurses' Health Study. Am J Epidemiol. 2000;152(10):950

32) Colditz GA, Frazier AL. Models of breast cancer show that risk is set by events of early life: prevention efforts must shift focus. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 1995;4(5):567

33) Melbye M, Wohlfahrt J, Olsen JH, Frisch M, Westergaard T, Helweg-Larsen K, Andersen PK. Induced abortion and the risk of breast cancer. N Engl J Med. 1997;336(2):81

34) Stuebe AM, Willett WC, Xue F, Michels KB. Lactation and incidence of premenopausal breast cancer: a longitudinal study. Arch Intern Med. 2009;169(15):1364

35) Key T, Appleby P, Barnes I, Reeves G, Endogenous sex hormones and breast cancer in postmenopausal women: reanalysis of nine prospective studies. Endogenous

Hormones and Breast Cancer Collaborative Group. J Natl Cancer Inst. 2002;94(8):606

36) Zmuda JM, Cauley JA, Ljung BM, Bauer DC, Cummings SR, Kuller LH, Bone mass and breast cancer risk in older women: differences by stage at diagnosis. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. J Natl Cancer Inst. 2001;93(12):930

37) Boyd NF, Guo H, Martin LJ, Sun L, Stone J, Fishell E, Jong RA, Hislop G, Chiarelli A, Minkin S, Yaffe MJ. Mammographic density and the risk and detection of breast cancer.N Engl J Med. 2007;356(3):227

38) Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52,705 women with breast cancer and 108,411 women without breast cancer. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer..Lancet. 1997;350(9084):1047

39) 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. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Lancet. 2001;358(9291):1389

40) Warner E, Plewes DB, Hill KA, et al. Surveillance of BRCA1 and BRCA2 mutation carriers with magnetic resonance imaging, ultrasound, mammography and clinical breast examination. J Am Med Assoc 2004;292:1317–25.

41) Canning LA, Baird P. Genetic testing for hereditary cancers: The impact of gender on interest, uptake and ethical considerations. Critical Reviews in Oncology/Hematology 2006;58:114–23.

42) Clarke A, Parsons E, Williams A. Outcomes and process in genetic counselling. Clin Genet 1996;50:462–9.

43) Bowles BB, Marteau TM. The future of genetic counselling: an international perspective. Nat Genet 1999;22:133–7.

44) Lorraine d'Agincourt-Canning. Experiential knowledge, moral agency and genetik testing for hereditary breast/ovarian cancer. Doktora tezi. The University of British Colombia 2003.

45) de Jong MM, Nolte IM, te Meerman GJ, van der Graff WT, Oosterwijk JC, Kleıbeuker JH AET AL. Genes other than BRCA1 and BRCA2 involved in breast cancer susceptibility. J Med Genet 2002;39:225-42.

46) Lichtenstein P, Holm NV, Verkasalo PK, Iliadou A, Kaprio J, Koskenvuo M, Pukkala E, Skytthe A, Hemminki K. Environmental and heritable factors in the causation of cancer--analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. N Engl J Med. 2000;343(2):78

47) Peto J, Mack TM. High constant incidence in twins and other relatives of women with breast cancer. Nat Genet. 2000;26(4):411

48) John EM, Kelsey JL. Radiation and other environmental exposures and breast cancer. Epidemiol Rev. 1993;15(1):157

49) Howell A, Cuzick J, Baum M, Buzdar A, Dowsett M, Forbes JF, Hoctin-Boes G, Houghton J, Locker GY, Tobias JS. Results of the ATAC (Arimidex, Tamoxifen, Alone or in Combination) trial after completion of 5 years' adjuvant treatment for breast cancer. ATAC Trialists' Group. Lancet. 2005;365(9453):60

50) Parmigiani G, Chen S, Iversen ES Jr, Friebel TM, Finkelstein DM, Anton-Culver H, Ziogas A, Weber BL, Eisen A, Malone KE, Daling JR, Hsu L, Ostrander EA, Peterson LE, Schildkraut JM, Isaacs C, Corio C, Leondaridis L, Tomlinson G, Amos CI, Strong LC, Berry DA, Weitzel JN, Sand S, Dutson D, Kerber R, Peshkin BN, Euhus DM. Validity of models for predicting BRCA1 and BRCA2 mutations. Ann Intern Med. 2007;147(7):441

51) Gail MH, Brinton LA, Byar DP, Corle DK, Green SB, Schairer C, Mulvihill JJ. Projecting individualized probabilities of developing breast cancer for white females who are being examined annually. J Natl Cancer Inst. 1989;81(24):1879

52) Rockhill B, Spiegelman D, Byrne C, Hunter DJ, Colditz GA. Validation of the Gail et al. model of breast cancer risk prediction and implications for chemoprevention. J Natl Cancer Inst. 2001; 93(5):358

53) Parmigiani G, Chen S, Iversen ES Jr, Friebel TM, Finkelstein DM, Anton-Culver H, Ziogas A, Weber BL, Eisen A, Malone KE, Daling JR, Hsu L, Ostrander EA, Peterson LE, Schildkraut JM, Isaacs C, Corio C, Leondaridis L, Tomlinson G,

Amos CI, Strong LC, Berry DA, Weitzel JN, Sand S, Dutson D, Kerber R, Peshkin BN, Euhus DM. Validity of models for predicting BRCA1 and BRCA2 mutations. Ann Intern Med. 2007; 147(7):441

54) Tyrer J, Duffy SW, Cuzick J. A breast cancer prediction model incorporating familial and personal risk factors. Stat Med. 2004; 23(7):1111

55) Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, Thor AD, Allred DC, Clark GM, Ruby SG, O'Malley F, Simpson JF, Connolly JL, Hayes DF, Edge SB, Lichter A, Schnitt SJ. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. Arch Pathol Lab Med. 2000;124(7):966

56) Harris L, Fritsche H, Mennel R, Norton L, Ravdin P, Taube S, Somerfield MR, Hayes DF, Bast RC Jr, American Society of Clinical Oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer. American Society of Clinical Oncology. J Clin Oncol. 2007;25(33):5287

57) Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, Dowsett M, Fitzgibbons PL, Hanna WM, Langer A, McShane LM, Paik S, Pegram MD, Perez EA, Press MF, Rhodes A, Sturgeon C, Taube SE, Tubbs R, Vance GH, van de Vijver M, Wheeler TM, Hayes DF, American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. American Society of Clinical Oncology, College of American Pathologists. J Clin Oncol. 2007;25(1):118

58) Barlow WE, Lehman CD, Zheng Y, Ballard-Barbash R, Yankaskas BC, Cutter GR, Carney PA, Geller BM, Rosenberg R, Kerlikowske K, Weaver DL, Taplin SH. Performance of diagnostic mammography for women with signs or symptoms of breast cancer. J Natl Cancer Inst. 2002;94(15):1151

59) Chang JH, Vines E, Bertsch H, Fraker DL, Czerniecki BJ, Rosato EF, Lawton T, Conant EF, Orel SG, Schuchter L, Fox KR, Zieber N, Glick JH, Solin LJ The impact of a multidisciplinary breast cancer center on recommendations for patient management: the University of Pennsylvania experience. Cancer. 2001;91(7):1231

60) Clarke M, Collins R, Darby S, Davies C, Elphinstone P, Evans E, Godwin J, Gray R, Hicks C, James S, MacKinnon E, McGale P, McHugh T, Peto R, Taylor C, Wang

Y. Effects of radiotherapy and of differences in the extent of surgery for early breast cancer on local recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Lancet. 2005;366(9503):2087

61) Bogdanova N, Feshchenko S, Schurmann P, Waltes R, Wieland B, Hillemanns P, Rogov YI, Dammann O, Bremer M, Karstens JH, et al.: Nijmegen Breakage Syndrome mutations and risk of breast cancer. Int J Cancer 2008, 122(4):802-806

62) Heikkinen K, Rapakko K, Karppinen SM, Erkko H, Knuutila S, Lundan T, Mannermaa A, Borresen-Dale AL, Borg A, Barkardottir RB, et al.: RAD50 and NBS1 are breast cancer susceptibility genes associated with genomic instability. Carcinogenesis 2006, 27(8):1593-1599

63) Shi Q., Wang L.E., Bondy M.L., Brewster A., Singletary S.E., Wei Q.Reduced DNA repairof benzo[a]pyrene diol epoxide-induced adducts and common XPD polymorphisms in breast cancer patients. Carcinogenesis 2004;9:1695-1700

64) Xiong P., Bondy M.L., Li D., Shen H., Wang L.E., Singletary S.E., Spitz M.R., Wei Q.Sensitivity to benzo(a)pyrene diol epoxide associated with risk of breast cancer in young women and modulation by glutathione S-transferase polymorphisms: a case–control analysis. Cancer Res. 2001;61:8465-8469.

65) Lu J, Wei Q, Bondy ML, Li D, Brewster A, Shete S, Yu TK, Sahin A, Meric-Bernstam F, Hunt KK, Singletary SE, Ross MI, Wang LE. Carcinogenesis. 2006 Nov;27(11):2209-16. Epub 2006 May 19

66) Desjardins S, Beauparlant JC, Labrie Y, Ouellette G, Durocher F (2009) Variations in the NBN/NBS1 gene and the risk of breast cancer in non-BRCA1/2 French Canadian families with high risk of breast cancer. BMC Cancer 9:181

67) NBS1 8360G > C polymorphism is associated with breast cancer risk: a meta-analysis. Wang Z, Cui D, Lu W. Department of Epidemiology and Biostatistics, Nanjing Medical University, 210029, Nanjing, China. Breast Cancer Res Treat. 2010 Sep;123(2):557-61. Epub 2010 Feb 9.

68) Lu M, Lu J, Yang X, Yang M, Tan H, Yun B, Shi L. Association between the NBS1 E185Q polymorphism and cancer risk: a meta-analysis. Department of

Epidemiology and Statistics, School of Public Health, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, PR China. BMC Cancer. 2009 Apr 24;9:124.

69) Nijmegen breakage syndrome. The International Nijmegen Breakage Syndrome Study Group. Arch Dis Child. 2000;82:400–406. doi: 10.1136/adc.82.5.400.