



T.C.

CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

RADYASYON ONKOLOJİSİ ANABİLİM DALI

**MEME KANSERLİ HASTALAR VE BİRİNCİ DERECE
YAKINLARINDA EPİGENETİK RİSK FAKTÖRLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Eda ERDİŞ

UZMANLIK TEZİ

SİVAS

2010



T.C.

CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

RADYASYON ONKOLOJİSİ ANABİLİM DALI

**MEME KANSERLİ HASTALAR VE BİRİNCİ DERECE
YAKINLARINDA EPİGENETİK RİSK FAKTÖRLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Eda ERDİŞ

UZMANLIK TEZİ

Danışman Öğretim Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Birsen YÜCEL

SİVAS

2010

Bu alışma, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

CÜBAP Proje No: T-375

TEŞEKKÜR

Tıp eğitiminde bana emeği geçen tüm hocalarıma; Radyasyon Onkolojisi alanında beni yetiştiren, ilgilerini eksik etmeyen, tezimi hazırlamamda deneyim ve bilgileriyle bana destek olan Yrd. Doç. Dr. Birsen Yücel'e teşekkür ederim.

Ayrıca, araştırmanın genetik çalışma aşamasında, Tıbbi Genetik Anabilim Dalının imkânlarını kullanmamı sağlayan Prof. Dr. Öztürk Özdemir'e, tez çalışması sırasında değerli katkılarından dolayı Tıbbi Onkoloji Bilim dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Saadettin Kılıçkap'a, çalışmanın istatistik değerlendirmesindeki katkılarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Ziyet Çınar' a, yolumu onkoloji ile keşiştiren babama, sonsuz sevgisi ile bana güç veren anneme teşekkür ederim.

ÖZET

MEME KANSERLİ HASTALAR VE BİRİNCİ DERECE YAKINLARINDA EPIGENETİK RİSK FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Meme kanserinde gen ekspresyon profillemesi, klinik düzeyde tanı, prognoz tayini ve tedavide önemli bir araç olma potansiyeline sahiptir. Bu çalışmada, 30 meme kanserli hastanın, bu hastaların 30 birinci derece yakınının ve 30 sağlıklı bireyin periferal transkriptom profilleri verilmiştir.

Total genomik ribonükleik asit (RNA), her üç grupta da periferal kandan ayrılmıştır ve m-RNA ekspresyonları revers transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu ile değerlendirilmiştir. Çalışmamızda, östrojen reseptörü (ER), c-erb-B2, p53, GATA-3, GRB-7, EGFR, MYC, BCL-2, VEGF gibi etyolojik genlerin ekspresyon profilleri belirlenmiştir. ER, c-erb-B2, GATA, GRB-7, EGFR gen ekspresyon profilleri hasta grubunda daha anlamlı bulunmuştur. p53 gen ekspresyon profili ise hasta yakını ve kontrol grubunda daha yüksek değerlendirilmiştir. Bu durum, hasta grubunda tümör süpresyonunun azaldığına, onkogen aktivasyonunun arttığına işaret etmektedir. Ancak gruplardaki heterojenite nedeniyle istatistikî anlam elde edilememiştir.

Eldeki veriler, periferal kan dokusunda da, meme kanseri prognostik gen belirteçlerinin tespit edilebildiğini göstermektedir. Bu nedenle, kantitatif ölçümlerin daha kişiselleştirilmiş tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine olanak sağlayabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Transkriptom profili, İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 2 (HER-2), p53, ER (Östrojen Reseptörü) ve Meme Kanseri.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EPIGENETIC RISK FACTORS IN PATIENTS WITH BREAST CARCINOMA AND THEIR FIRST DEGREE RELATIVES

The gene expression profiling in breast cancer has a potential to become an important tool for clinical diagnosis, prognosis determination and treatment. In this study, 30 breast cancer patients, 30 first degree relatives of these patients and 30 healthy individuals were given the peripheral transcriptome profiles.

Total genomic RNA was isolated from peripheral blood tissue in all three groups. Multiplex tandem PCR technique was performed and mRNA expressions of all 8 genes were evaluated by reverse transcription-polymerase chain reaction.

Etiologic factors as ER, EGFR, GATA-3, GRB-7, VEGF, p53, BCL-2, MYC, c-erbB-2 expression profiles have been identified in our study. We found that ER, c-erbB-2, GATA-3, GRB-7, EGFR gene expression profiles were significantly higher in the patient group. However; p53 gene expression was evaluated in relative and control groups. This situation indicates the reduced tumor suppression and the increased oncogene activation in the patient group. But, the relationship is insignificantly due to heterogeneity of groups.

The results of this study show that the peripheral blood tissues contribute to the development of prognostic gene signatures in breast carcinomas. The quantitative measurements may facilitate the development of more personalized treatment strategies.

Key Words: Transcriptome profile, HER-2 Gene, ER (östrojen reseptörü), p53 and breast cancer.

İÇİNDEKİLER

	<u>SAYFA</u>
• TEŞEKKÜR.....	iv
• ÖZET	v
• İNGİLİZCE ÖZET.....	vi
• İÇİNDEKİLER	vii-viii
• SİMGELER ve KISALTMALAR	ix-x
• TABLOLAR	xi
• ŞEKİLLER.....	xii
• GİRİŞ	1
• GENEL BİLGİLER	2-34
2.1. Meme Anatomisi.....	2
2.2. Memenin Kan Dolaşımı	3
2.2.1. Memenin Arterleri.....	3
2.2.2. Memenin Venleri	3
2.3. Memenin Sinirleri	4
2.4. Memenin Lenfatik Sistemi.....	4-5
2.5.Meme Kanseri	5-33
2.5.1.Meme Kanseri Epidemiyolojisi	5
2.5.2.Meme Kanseri Tipleri	6
2.5.3.Meme Kanseri Etiyolojisi	7-9
2.5.4. Meme Kanserinde Çevresel Etkenler.....	9-10
2.5.5.Meme Kanserinin Doğal Seyri.....	10-13
2.5.6. Meme Kanserinin Evrelendirilmesi	13-15
2.5.7. Meme Kanserinde Prognostik Faktörler	16-34
2.5.7.1. Tümör çapı	16
2.5.7.2.Aksiller lenf nodu tutulumu	17
2.5.7.3.Histolojik tümör tipi ve prognoz.....	18
2.5.7.4. Meme Kanserinde hormonal reseptörler ve prognoz.....	19
2.5.7.5.Tümör proliferasyon hızı ve prognostik önemi.....	19

2.5.7.6.Moleküler prognostik faktörler-Meme Kanserinin	
Biyolojik Özellikleri.....	20–30
2.5.7.7.Gen ifadesi ve Transkriptomik.....	31–34
• GEREÇ ve YÖNTEM.....	35–38
3.1. mRNA Yalıtılması	35
3.2. Değerlendirme – İstatistikî analiz	37–38
• BULGULAR.....	39–51
4.1. Yaş-Cinsiyet.....	39
4.2. Histopatoloji.....	39
4.3. Lokalizasyon	40
4.4. Evre	40
4.5.Hormon Reseptör Durumu	40
4.6.Patolojik olarak c-erb-B2 durumu.....	41
4.7.Menopoz Durumu	41
4.8.Transkriptom profillerinin ölçülen değerlerinin dağılımları	42–51
• TARTIŞMA	52–57
• SONUÇ ve ÖNERİLER.....	58–59
• KAYNAKLAR	60–70
• EKLER	
EK 1. Bilgilendirilmiş olur formu	

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AJJC	: American Joint Comission on Cancer
BRCA-1	: Breast Cancer Antigen-1
BRCA-2	: Breast Cancer Antigen-2
Buffer EL	: Erythrocyte lysis buffer (Eritrosit lizis tamponu)
c-DNA	: Komplamenter DNA
c-erb-B2	: Neuro/glioblastoma derived oncogene homolog
DKIS	: Duktal Karsinoma İn situ
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EDTA	: Etilen Diamino Tetraasetikası
EGFR	: Epidermal Growth Factor Receptor
ER	: Estrogen Receptor
GATA-3	: GATA binding protein 3
GRB7-7	: Growth factor receptor bound protein 7
HER-2	: Human epidermal growth factor receptor-2
HER-3	: Human epidermal growth factor receptor -3
HER-4	: Human epidermal growth factor receptor -4
HRT	: Hormon Replasman Tedavisi
IL-1	: İnterlökin-1
IL-6	: İnterlökin-6
Ki-67	: Antigen identified by monoklonal antibody Ki-67
KW	: Kruskall-Wallis Testi
mRNA	: Messenger ribonucleic acid
p	: Olasılık Değeri
p53	: Tumor Protein p53
PCR	: Polimerase Chain Reaction
PR	: Progesteron Receptor
RLT Tamponu:	Reticulocyte lysis buffer (Retikülosit lizis tamponu)
RNA	: Ribonükleik Asit
RPE tamponu	: Wash buffer (Yıkama Tamponu)

RT-PCR	: Real Time Polimerase Chain Rection
SPSS	: Statistical Package for The Social Sciences
STEP 1 MASTER MİX	: Revers Transkriptaz -PCR için hedef gen ürünlerine ait m-RNA örneklerini cDNA' ya dönüştürmek için gen spesifik primerlerin tamamı.
Taq polimeraz	: Thermus Aquaticus Polimeraz
TSG	: Tümör Süpressör Gen
VEGF	: Vasküler Endotelyal Growth Faktör
VKS	: Vena Kava Süperiyor

TABLULAR DİZİNİ**SAYFA**

Tablo 2.1. AJCC (American Joint Comission on Cancer) Evreleme Sistemi.....	15
Tablo 4.1. Hastaların patolojik tiplere göre dağılımı	39
Tablo 4.2. Hastaların tümör lokalizasyonuna göre dağılımı	40
Tablo 4.3. Hastaların evrelere göre dağılımı.....	40
Tablo 4.4. Hastaların östrojen ve progesteron reseptör durumuna göre dağılımı .	40
Tablo 4.5. Hastaların patolojik olarak c-erb-B2 durumu	41
Tablo 4.6. Hastaların menopoz durumuna göre dağılımı.....	41
Tablo 4.7. İlgili genlerin transkriptom profillerinin gruplara göre istatistiksel dağılımı.....	42

ŞEKİLLER DİZİNİ**SAYFA**

Şekil 2.1. Meme glandı, anterior kesit.....	03
Şekil 2.2. Memenin lenfatikleri.....	05
Şekil 2.3. Meme kanseri oluşumuna ve ilerleyişine katılan faktörler ile açıklanabilecek olası çok aşamalı karsinogenez modeli.....	30
Şekil 4.1. Gruplara göre ER dağılımı.....	43
Şekil 4.2. Gruplara göre c-erb-B2 dağılımı	44
Şekil 4.3. Gruplara göre VEGF dağılımı	45
Şekil 4.4. Gruplara göre GATA-3 dağılımı.....	46
Şekil 4.5. Gruplara göre GRB-7 dağılımı	47
Şekil 4.6. Gruplara göre EGFR dağılımı	48
Şekil 4.7. Gruplara göre p53 dağılımı	49
Şekil 4.8. Gruplara göre MYC dağılımı	50
Şekil 4.9. Gruplara göre BCL-2 dağılımı	51

1. GİRİŞ

Meme kanseri araştırmalarının genel amacı, kanser hücresinin davranışı hakkında yol gösteren, kanser gelişiminin erken aşamasında ortaya çıkan ve uygun tedavi şeklinin seçilmesi için yardımcı olabilecek değişiklikleri belirlemek hatta bunlardan sağlıklı fakat riskli bireylerde tarama açısından yararlanmaktır.

Ancak meme kanseri gelişiminde sadece genetik değil, epigenetik olaylar da önem taşır. Epigenetik, doku ya da hücreye özgü gen ekspresyonuna dayanan kalıtsal bilgidir ve Deoksiribo nükleik asit (DNA) dizisinde meydana gelen değişimlerle açıklanamaz.

Genomdaki bu kalıtsal ve kalıtsal olmayan genetik değişimler belli hücre sel genlerin belli özel değişimleri ile ilişkili bulunmuştur. Bunlardan bir grubu onkogen, diğer önemli grubu ise tümör süpressör gen (TSG) olarak isimlendirilmiştir. Her iki gen ailesinin yapısal ve/veya ifade değişimleri meme kanseri onkogenezinde önemlidir. Eğer mutasyon sonucu protoonkogen (normal hücre işlevi için önemli protein kodlar) ve tümör süpressör genin yapısı değişirse, oluşan hasar, genin ve gen ürününün yapısını değiştirir. Sonuç olarak hücre bölünmesini ve gelişimini uyararak kansere neden olur.

Onkogenlerin ve tümör süpressör genlerin kanser oluşumuna katılması hakkında iki hipotez vardır.

- 1.Onkogen ve/veya TSG seviyesindeki kantitatif değişiklikler
- 2.Onkogen ve/veya TSG yapısındaki değişiklikler

Bu araştırmada, hedeflenen TSG ve onkogenlerin gen ekspresyon profillerinin, meme kanseri takip ve tanısındaki öneminin belirlenmesi hedeflendi. Meme kanserli hastalar ve birinci derece yakınlarında hedef gen ekspresyonlarının kantitatif değerleri saptandı. Ailesinde meme kanseri olan kadınlarda meme kanseri gelişme riski normal bireylere göre üç kat artmış olduğundan, bu kantitatif değerler ışığında transkriptom profil baz değeri elde edilebilmesi amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

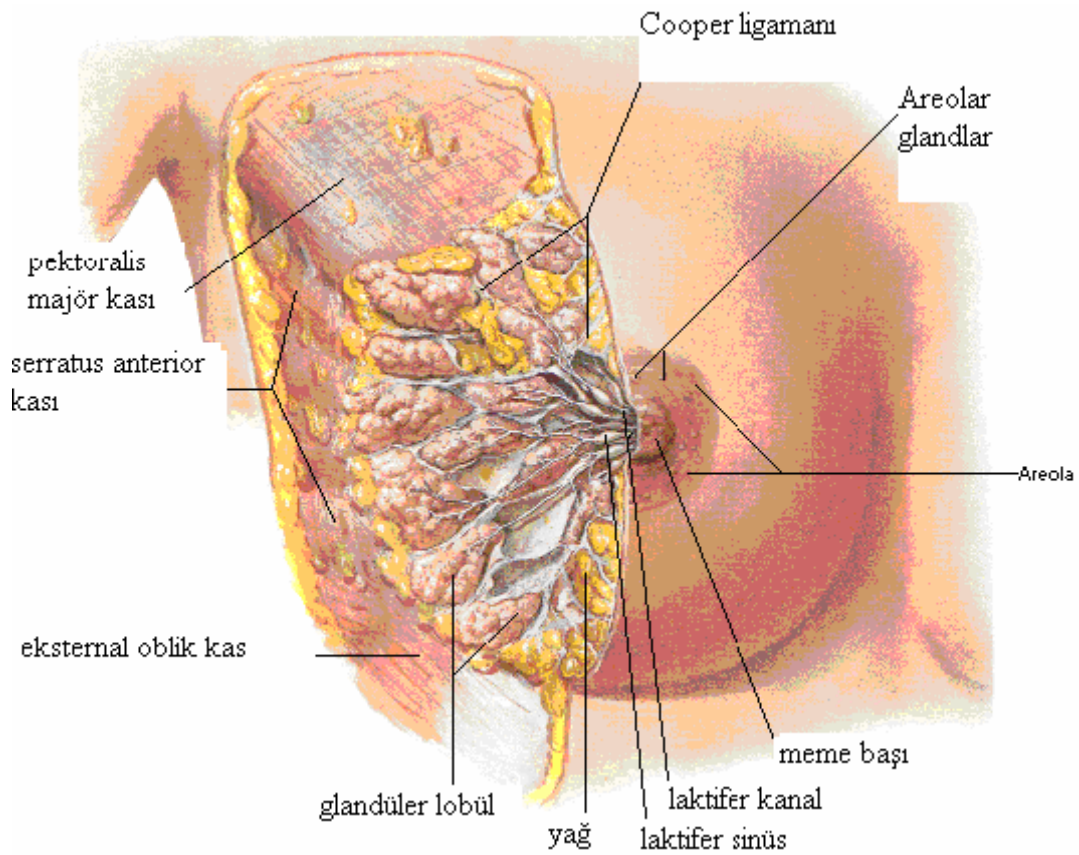
2.1. Meme Anatomisi

Meme bezleri modifiye ter bezleridir. Erişkin yaşta meme glandı, genellikle ön göğüs duvarının yüzeysel, fasya pektoralisin yüzeysel ve derin tabakaları arasında bulunur (1). Bezin en çok glandüler eleman içeren kadranı üst dış kadran olup, bu kadranda benign ve malign meme tümörleri daha sık görülmektedir (2).

Anatomik olarak total meme glandı vertikal kesitte 2. ve 3. kostalardan başlayıp 6. ve 8. kostalar arasında yer almaktadır. Transvers kesitte ise parasternal bölgeden anterior aksiller çizgiye kadar uzanabilmektedir (2).

Memedeki tubuloalveolar glandlar modifiye ter bezleri olup, dermisin elemanıdır. Her lob, 2–4 mm çaplı birer süt kanalları ile sonlanır. Meme başında duktuslar 0,4–0,7 mm çaplı birer orifise açılırlar. Süperfisyel fasyanın yüzeysel tabakasından meme parankimine uzanan fibröz bağ dokusu kalınlaşmalarına Cooper ligamanları adı verilir (3). Bu fibröz ligamanlar meme kanseri olgularında kısalabilmekte ve anormal çekilmeler ortaya çıkabilmektedir. Meme cildi retraksiyonu olarak adlandırılan bu durum meme kanseri için önemli bir belirteçtir (4).

Olgun meme; asinüsler, duktuslar ve stromal elemanlardan oluşmuştur. Asinüsler birleşerek lobülüsleri, lobülüsler birleşerek lobları oluşturur. Aynı ayrı salgı kanalları ile meme başına açılan 15- 20 lob parankimal epitelyumu oluşturur (1). Her lobda 20- 40 kadar lobül vardır. Bir başka deyişle her duktus bir meme lobunu ve 20- 40 kadar lobülü direne etmektedir (2). Her lobül toplayıcı duktus çevresinde gruplaşmış sayıları 10 ile 100 arasında değişen asinüslerden oluşur. Doğurgan çağda sayıları fazla ve büyük görünümdeyken, postmenopozal dönemde lobüllerin sayısı azalarak, birkaç asini içeren küçük ünitelere dönüşürler (5).



Şekil 2.1. Meme glandı, anterior kesit (6)

2.2. Memenin Kan Dolaşımı

2.2.1. Memenin arterleri

Meme iyi kanlanan, vasküler yapılardan zengin bir organdır. Memenin arteriyel beslenmesini sağlayan üç ana arter vardır:

- *İnternal torasik (internal mammarian) arterin ön perforan dalları*
- *Posterior interkostal arterlerin lateral dalları*
- *Aksiller arterin dalları*

2.2.2. Memenin venleri

Memenin venleri arterlerin dağılımına uygun seyrederekler. Bu dağılım tümör embolisi ve uzak metastaz noktasının da belirleyicisidir (4,7).

Bu doğrultuda memenin venöz dağılımı;

1. İnternal mamaryan ven → İnnominat ven → Vena Kava Süperiyor (V.K.S.) → Akciğer kapiller ağı
 2. Aksiller ven → İnnominat ven → V.K.S. → Akciğer kapiller ağı
 3. İnterkostal venler → Azigos venleri → V.K.S. → Akciğer kapiller ağı
 4. İnterkostal venler → Vertebral venöz pleksuslar → Vertebra metastazları
- (8)

2.3. Memenin Sinirleri

Sensoryal innervasyon 2–6. interkostal sinirler ile sağlanır (7,9). Serratus anterior kasını innerve eden nervus torasikus longus (Bell siniri), aksiller diseksiyon sırasında zarar görebilir. Sinir hasarlanırsa serratus anterior plejisine bağlı olarak “skapula alata” ortaya çıkar (4).

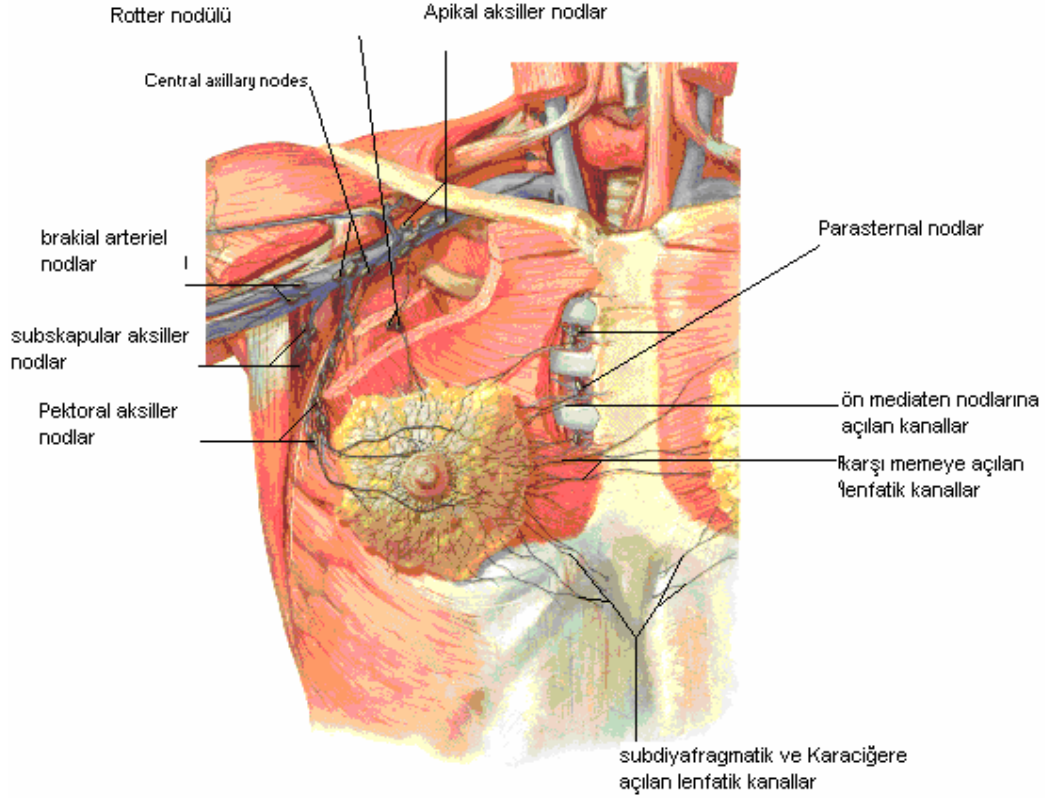
2.4. Memenin Lenfatik Sistemi

Memenin lenfatik sistemi iki grup altında incelenebilir (11):

1. Yüzeysel lenfatikler (Dermal lenfatikler)
2. Derin lenfatikler (Parankimal lenfatikler)

Memeden gelen lenf akımının en önemli toplayıcı kısmını aksiller lenf nodülleri oluşturmaktadır. Genellikle aksiller lenf nodüllerinin sayısı 20 ila 40 arasında değişir. Lenf nodülleri altı gruba ayrılarak incelenebilir:

1. Eksternal meme nodülleri
2. Skapular nodüller
3. Santral nodüller
4. İnterpektoral (Rotter) nodüller
5. Aksiller ven nodülleri
6. Subklavikuler nodüller



Şekil 2. 2. Memenin lenfatikleri (10)

Memenin lenf akımının diğer önemli toplayıcı kısmı internal mamarian lenf yoludur. İnternal mamarian lenf yolu ön preperikardiyal lenf nodüllerinden kaynağını alır. Preperikardiyal lenf nodlarına toplayıcı lenfatikler yoluyla aşağıdaki yerlerden lenf sıvısı gelir:

- a) Ligamentum falsiparum yoluyla karaciğerin ön-üst kısmından
- b) Diyafragmanın ön kısmından
- c) Rektus abdominis kasının üst kısmından
- d) Rektus kılıfından
- e) Meme glandının alt-iç kadrından (11).

2.5. Meme Kanseri

2.5.1. Meme kanserinin epidemiyolojisi

Meme kanseri dünyada kadınlar arasında en sık görülen malign tümör olup kadınlarda görülen tüm kanserlerin yaklaşık % 30'unu oluşturmaktadır (12). Tüm ülkelerde önemli bir sağlık sorunu olarak kabul edilmektedir. Örneğin Amerika

Birleşik Devletleri'nde (ABD) 2009 yılında yaklaşık 192,370 yeni meme kanseri tanısı konulacağı ve yaklaşık 40,170 kadının da meme kanserinden öleceği tahmin edilmektedir (13,14).

2005 yılı Türkiye kanser istatistiklerine göre kadınlarda görülen meme kanseri insidansı (100.000'de) 35,5 olarak belirlenmiştir (14). Kanser aynı zamanda Türkiye'de tüm ölüm nedenleri arasında en sık ikinci ölüme neden olan hastalık olup, bu oran her iki cinsiyet için sırasıyla erkeklerde %15,0 ve kadınlarda %10,7'dir (14). Ulusal Hastalık Yükü ve Maliyet-Etkililik Projesi 2004 raporlarına göre Türkiye'de 2000 yılı itibariyle kadınlarda kaydedilen ölümlerin 21,174'ü kansere bağlı ölümlerdir (15). Ülkemizde meme kanseri kadınlarda en sık ölüme neden olan 20 hastalık içinde % 2,1'lik oranla 8. sırada yer almaktadır (15). Bu oranla Türkiye'de meme kanserinden ölüm hızı ABD'ye göre daha yüksek görülmektedir.

Bu verilerden de anlaşıldığı üzere sağlık bilimlerindeki ilerlemelere, erken tanı yöntemlerinin gelişmesine, toplumun bu konuda duyarlılığının artmasına karşın, meme kanseri yaşamı tehdit etmeye devam etmektedir. Bu tehdidin azaltılmasında atılacak adımlardan en önemlisi, meme kanseri risk gruplarını belirlemek ve tarama programlarını yaygınlaştırmaktır.

2.5.2. Meme kanseri tipleri

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), 1981 yılında yaptığı bir çalışmada 17 değişik histolojik tip meme kanseri olduğu açıklanmıştır. Meme kanserlerinin yaklaşık %65 - 80'i duktal kanserlerdir.

DSÖ meme kanseri histolojik sınıflaması:

1. İnvaziv duktal kanser
2. İnvaziv duktal kanser +yaygın in situ kanser
3. İnvaziv lobüler kanser
4. Medüller kanser
5. Müsinöz kanser
6. İnvaziv papiller kanser
7. Tübüler kanser
8. Metaplastik kanser
9. Glikojenden zengin kanser

10. Lipitten zengin tümör
11. Salgısal (Jüvenil) kanser
12. Apokrin kanser
13. Adenoid kistik kanser
14. Kistik hipersekretuar kanser
15. Endokrin farklılaşma gösteren kanser
16. İnvaziv kribriiform kanser
17. Osteoblasta benzer dev hücreleri olan kanser

Meme kanserinin histolojik tipleri, iyi veya kötü prognozu gösterebilir. Tübüler, kribriiform, müsinöz, medüller, invaziv lobüler ve papiller kanser iyi prognozu, metaplastik (sarkomatoid) inflamatuvar ve lipitten zengin kanser ise kötü prognozu göstermektedir.

2.5.3. Meme kanserinin etiyolojisi

Meme kanserinin etiyolojisi net olarak bilinmemekle birlikte, epidemiyolojik çalışmalarda bazı faktörlerin etiyolojide etkin olabileceği ortaya konmuştur. Meme kanseri için ilk olarak kadın cinsiyet, ikinci olarak da yaş bu faktörlerin başında gelir (16).

- **Aile Öyküsü:**

Ailede bir veya birden fazla birinci veya ikinci derece akrabalarında meme kanseri saptanmış olması ailevi meme kanseri serisi, kalıtsal meme/over kanser sendromu olarak adlandırılmıştır. Anne veya kız kardeşte menopoz öncesi dönemde meme kanseri gelişen (iki taraflı) her iki kadından birinde, meme kanseri gelişebilme olasılığı yükselmektedir. Ancak genel olarak bakıldığında, kız kardeş, anne veya kızında meme kanseri bulunan kadınların meme kanserine yakalanma riski 2,5–3 kat artmaktadır (16).

- **Genetik ve Kalıtsal Nedenler:**

BRCA-1 ve BRCA-2 gen mutasyonu taşıyıcılarının meme kanseri gelişimi açısından risk altında oldukları çeşitli retrospektif ve prospektif çalışmalarda gösterilmiştir (17,18). Bu genin ailevi meme ve over kanserinde etiyolojik rol oynadığı kabul edilmektedir (19).

• **Kalıtsal Sendromlar:**

Herediter Meme-Over Kanseri Sendromu: Bu sendromlu tüm kişilerin mutant BRCA-1 genini taşıdığı kabul edilmekte ve 70 yıllık yaşam boyunca meme kanseri oluşma riski % 56- 85 olarak hesaplanmaktadır (20).

Bölgeye Özgü Kalıtsal Meme Kanseri: BRCA-2 geniyle yakın ilişkili plan bu sendromda premenopozal dönemde erken yaşta ortaya çıkmakta ve bilateral başlangıç göstermektedir. (21).

Li-Fraumeni Sendromu: Bu nadir sendrom, premenopozal meme kanseri, sarkom, beyin tümörleri, lösemi/lenfoma ve adrenokortikal birlikteliğiyle karakterizedir (22).

Cowden Sendromu: Otozomal dominant nadir bir sendrom olup, multipl mukokütanöz hamartom, tiroid tümörü ve memede fibrokistik değişiklikler bir arada görülür. Bu sendroma sahip kadınların yaklaşık yarısında meme kanseri gelişmesi nedeniyle sıkı takip, hatta profilaktik bilateral mastektomi önerilmektedir (23). Meme kanseri ayrıca Muir sendromu ve Ataksia-Telenjektazi gibi ailesel sendromların bir parçası olarak da görülebilir (24).

• **Endokrin nedenler:**

Menarş Yaşı ve Menopoz: Meme kanseri riskini artıran nedenlerin çoğu kadınların yaşamındaki jinekolojik ve endokrinolojik olaylarla bağlantılıdır. Menarş yaşı meme kanseri gelişme riskini etkileyen bir faktördür. Erken menarş ve geç menopoz yaklaşık olarak riski %30-50 oranında artırmaktadır. Buna karşın geç menarş ve erken menopoz ise bu riski aynı oranda azaltmaktadır (24).

Hamilelik – Laktasyon – Düşükler: Hiç doğum yapmamış kadınlarda, kanser riskinin doğum yapmış kadınlara göre 1,4 kat daha fazla olduğu saptanmıştır. Doğum sayısındaki artışın meme kanseri riskinde hafif bir azalmaya neden olduğu bildirilmiş, her iki doğumda bir riskin %15 azaldığı öne sürülmüştür (25). Klinikte gebelik, meme kanserine karşı protektif etki göstermektedir. Mademki gebelik süresince, östrojenlerin miktarları artmaktadır, o halde bu protektif etkinin açıklanması gerekir. Östriol ile ilgili bilgilerimiz, bu konuya açıklık getirecek niteliktedir. Gebelikte artan östrojenin çok büyük bir kısmını östriol teşkil etmektedir. Östriol ise, meme kanseri oluşumuna karşı antagonistik ve koruyucu bir etkiye sahiptir. Lemon, östriolün bu etkisini, öteki iki östrojen türüne karşı olan

antagonistik etkisine bağlamaktadır (26). Emzirmenin de meme kanseri riskini azalttığı bilinmektedir (26). Ayrıca emzirmeyen kadınlarda meme kanseri riskinin yüksek olduğu bilinmektedir (27). 4–12 ay arası emziren kadınlarda riskin %11, iki sene veya daha fazla emzirenlerde ise %25 oranında azaldığı gösterilmiştir (28).

Oral Kontraseptifler: Oral kontraseptif kullanımının kadınlarda meme kanseri riskini artırdığına dair kesin bir kanıt yoktur. Fakat düşünülenin aksine, oral kontraseptif kullanan veya daha önce kullanmış olan bireylerle karşılaştırıldığında, hiç kullanmamış olan bireylerin tanı anında daha ileri evrede oldukları gösterilmiştir (29).

Hormon Replasman Tedavisi: Hormonların, özellikle de östrojenlerin meme dokusunu uzun süre etkilemesinin meme kanseri riskini artırdığı bilinmektedir. Erken menarş, geç menopoz, doğum yapmama ya da ilk doğumu 30 yaşından sonra yapma östrojenlerin meme dokusunu etkileme sürecini uzatır. Bu nedenle geç menarş, 30 yaş öncesi doğum, emzirme ve erken menopozun meme kanseri riskini azalttığı düşünülmektedir. Mc Credie ve arkadaşları 30 yaşından önce doğum yapmanın meme kanseri rölatif riskini 1,8 oranında azalttığını belirlemişlerdir (30). Bu konu 50'den fazla vaka-kontrol ve kohort çalışmalarında tartışılmıştır. Başlangıçta sonuçlar karmaşık görünmekle birlikte, bu konudaki yapılmış olan meta analizlerin sonuçları uzun süreli hormon replasman tedavi (HRT) kullanılmasının meme kanseri riskini 1,3–1,4 kat artırdığını ortaya koymaktadır. Son zamanlarda yapılan 51 epidemiyolojik çalışmanın değerlendirildiği bir analizde uzun süreli HRT alanlarda görece risk 1,31 olarak bulunmuştur (31).

2.5.4. Meme kanserinde çevresel etkenler

Meme kanserinde çevresel etkenler beslenme, vitaminler, alkol tüketimi, radyasyon maruziyeti alt başlıkları ile özetlenebilir:

Beslenme: Dünya üzerinde meme kanseri görülme sıklığının ülkeden ülkeye değişmesi ve bu değişimin sadece genetik nedenlerle açıklanamaması, dikkatlerin çevresel etkenler ve özellikle beslenme üzerine toplanmasına neden olmuştur (32). Liften zengin gıdanın biliyer sistemden barsağa dökülen östrojenlerin reabsorbsiyonunu inhibe ederek meme kanseri oluşumuna karşı koruyucu bir

etkisinin olabileceği ileri sürülmüştür. Hayvan çalışmalarında da liften zengin besinlerin meme tümörü sıklığını azalttığı gösterilmiştir (33,34).

Vitaminler: A vitamininin içinde bulunduğu karotenoidler antioksidan özelliklere sahip olduklarında DNA hasarına yol açan reaktif oksijen radikallerine karşı hücrel savunmayı artırabilirler (35). A vitamininin meme kanseri oluşumu konusundaki koruyucu etkisinin değerlendirildiği bir meta analizde ise, A vitamininin anlamlı düzeyde koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (20). Yine antioksidan etkiye sahip olan E vitamini ile yapılan çalışmalarda ise meme kanseri konusunda koruyucu bir etki gözlenmemiştir (36). C vitamini ile yapılan çeşitli çalışmalarda, C vitamininin meme kanseri oluşumundaki koruyucu etkisi konusunda farklı sonuçlar bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada olumlu etki bildirilirken (37), ABD’de yapılan bir diğer çalışmada uzun süre C vitamini alanların 14 yıllık takibi sonucunda risk azalması gözlenmemiştir (36,37).

Alkol: Çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda alkol tüketiminin kadınlarda meme kanseri gelişme riskini artırdığı bildirilmiştir (38). Bu risk artışı, alkollü içeceklerin türüne bağlı olmayıp, tüketilen miktara bağlanmaktadır. Erken yaşta alkole başlamak önemli bir risk faktörü olabilir. Premenopozal kadınlarda alkol alımı total östrojen düzeylerinin ve östrojen biyoyararlanımının artışına yol açar. Alkol alımı ve postmenopozal obezite birlikteliği plazma östrojen düzeylerinde değişikliğe yol açarak meme kanseri gelişme riskine katkıda bulunabilir. Son zamanlarda yapılan epidemiyolojik çalışmalar, alkol alımına bağlı meme kanseri gelişme riski artışının folat alımı ile azaltılabileceğini göstermiştir (38).

Radyasyona Maruz Kalma: İyonize radyasyon maruziyeti meme kanseri için bilinen bir risk faktörüdür. Atom bombasına maruz kalanlarda ve radyoterapi alanlarda düşük veya orta derece radyasyon dozlarından sonra meme kanseri gelişme riskinde artış gözlenmiştir (39).

2.5.5. Meme kanserinin doğal seyri

Meme kanserinin klinik davranışı uzun bir doğal seyir ve heterojenite ile karakterizedir. Son birkaç yüzyıldır meme kanserinin tedavi edilebilir bir hastalık olarak değerlendirilmesi, tedavi edilmemiş olgularla ilgili detaylı serilere sahip olmamızı engellemiştir. Bloom ve ark. 1805–1933 yılları arasında çoğu terminal

dönemde bulunan 250 olguyu incelemişlerdir (40). Bu çalışmadaki hastaların %74'ü evre 4, %23'ü evre 3 ve yalnızca % 2'si evre 2 idi. Hiçbir hastaya cerrahi tedavi, radyoterapi veya hormon tedavisi uygulanmamış idi. Bu çalışmada ortalama sağkalım 2,7 yıl olarak bulunmuştur. Olgulardan %18'inin 5 yıl, %4'ünün ise 10 yıl yaşaması meme kanserinde herhangi bir tedavi uygulanmasa bile sağkalımın uzayabileceğine işaret etmektedir. Meme kanserli olguların sağkalım eğrisi normal popülasyonun sağkalım eğrisi ile hiçbir dönemde paralel seyir göstermemektedir. Tedaviden 25 yıl sonra dahi meme kanseri nedeniyle görülen mortalite normal popülasyonda beklenenin 15 kat üzerindedir.

Meme kanserinin palpe edilebilir bir büyüklüğe ulaşması (yaklaşık 10 mm) ya da mamografik olarak saptanabilmesi için (yaklaşık 3–5 mm) geçen sürede tümör 28–29 eksponansiyel bölünmeye uğramaktadır. Tümör 1mm³'lük hacme ulaştığında, tümör hücreleri hematogen yolla yayılmaya başlamaktadır (40,41). Tarama yöntemleriyle yakalanan tümörlerin yavaş büyüyen tümörler olduğu, prognozlarının ise tanısız gecikmelerden çok da fazla etkilenmediği düşünülmektedir. Buna karşın, agresif tümörler iki tarama zamanı arasındaki sürede oldukça ileri evrelere ulaşabilirler. Meme kanserinde tümör boyutunun iki kat artması için geçen süre (doubling time) 50 günden kısa veya 500 günden uzun olabilmektedir. Erken olarak saptandığı düşünülen tümörlerin bile ortalama 6–10 yıllık bir geçmişe sahip olduğu bilinmektedir (41).

Kanser hücrelerinin meme içinde yayılması,

- a) Meme parankimine doğrudan infiltrasyon yoluyla
- b) Meme duktusları boyunca
- c) Meme lenfatikleri aracılığıyla gerçekleşir.

Kanserin meme dokusundaki yerleşimi kadranslara göre tanımlanmaktadır. 696 olguluk bir seride tümörlerin %48'inin üst dış kadranda, %15'inin üst iç kadranda, %11'inin alt dış kadranda, %6'sının alt iç kadranda ve %17'sinin de santral bölgede (areola ve çevresindeki 1 cm'lik alan) yerleştiği bildirilmiştir (41,42). Geriye kalan %3'lük grup ise multisentrik olmaları veya tümörün tüm memeyi kaplaması nedeniyle diffüz olarak tanımlanmıştır. Tümörün sıklıkla üst dış kadranda bulunmasının nedeni bu kadrandaki meme dokusu hacminin büyüklüğüne

bağlanmaktadır. Primer tümörün lokalizasyonu ve prognoz arasındaki ilişki çok daha büyük serilerde de araştırılmıştır (National Surgical Adjuvant Breast Project) (42,43).

Aksilla metastazı bulunmayan olgularda dış kadranlardaki tümörlerde prognoz, iç kadrandaki aynı büyüklükteki tümörlere göre daha iyidir. Bu durum iç kadranlardaki tümörlerin mamariya interna lenf bezi grubuna metastaz eğiliminde oldukları ile açıklanmaya çalışılmıştır. Aksilla metastazı bulunan olgularda ise prognozda farklılık görülmemiştir. Meme kanserinin bölgesel olarak en sık yayıldığı alanlar aksiller lenf bezleri, mamariya interna lenf bezleri ve supraklaviküler lenf bezi gruplarıdır. Bu bölgelerdeki tutulumların iyi bilinmesi ve belirlenmesi hem evreleme hem de tedavi yöntemlerinin planlanması açısından büyük önem taşımaktadır (42,43).

Aksiller lenf bezleri; memenin lenfatik drenajının büyük bölümü aksiller lenf bezleri aracılığıyla gerçekleşmektedir. Fizik muayenede palpe edilebilecek boyutlara ulaşmış meme tümörü bulunan olguların yaklaşık %50'sinde aksiller lenf bezi tutulumunun da bulunduğu histolojik olarak belirlenmiştir. Aksilla metastazı olasılığı primer tümörün boyutu ile direkt olarak ilişkilidir. Primer tümör ne kadar büyükse, aksilla metastazı riski de o derece fazladır. Fisher ve ark. (43) dış kadranlardaki tümörlerde aksilla metastazı oranını %52, iç kadran yerleşimli tümörlerde ise %39 olarak bildirmişlerdir. Bu durum iç taraftaki tümörlerin bir kısmının mamariya interna lenf bezlerine metastaz yaptığı şeklinde yorumlanmaktadır.

Mamariya interna lenf bezleri, meme kanserinin metastaz yaptığı ikinci lenf bezi grubudur. Bu lenfatik zincir interkostal aralıkların ön uçlarında ve internal torasik arterin yanlarında yer almaktadır. Toraks içinde bulunmaları ve klinik belirti vermemeleri nedeniyle bu gruba olan metastazlar aksilladaki kadar kolay saptanamamaktadır.

Supraklaviküler lenf bezleri, supraklaviküler lenf bezi metastazları, yaygın aksilla tutulumu ile birlikte seyretmektedir. Rutin supraklaviküler diseksiyon uygulanan bir hasta grubunda aksillası pozitif 125 olgunun 23'ünde (%18) supraklaviküler metastaz saptanmış, aksillası negatif 149 olgunun hiçbirinde supraklaviküler metastaz görülmemiştir (22). Supraklaviküler metastazlar yaygın aksilla tutulumunu takiben ortaya çıkmakta ve prognozun kötü olduğunu

göstermektedir. Bu nedenle yeni evreleme sistemlerine göre supraklaviküler metastazlar (N3) olarak değerlendirilmektedir (44).

Uzak metastazlar meme kanserinde en önemli problemlerden biridir. Meme kanseri pek çok organa metastaz yapabilmektedir. Çeşitli otopsi serilerinde en sık tutulan organlar kemik, akciğer ve karaciğerdir (45–48). Klinik belirti veren metastazlar çok uzun bir zaman sonra dahi ortaya çıkabilmektedir. İlk tanıdan 10–15 yıl sonra görülmeleri nadir değildir. Tüm metastazlı olgular incelendiğinde tedaviden metastaza kadar geçen süre ortalama olarak 42 ay civarındadır. Bu süreç, tümörü 8,5 cm ve daha büyük olan hastalarda 4 ay kadar bulunmuştur.

2.5.6 Meme kanserinin evrelemesi

Meme kanserinde evreleme yalnızca hastaya hangi tedavinin seçileceği ve prognozunu nasıl olacağı konusunda bilgi vermekle kalmaz, aynı zamanda farklı tedavi tiplerini kıyaslanmasına da imkân sağlar.

1960'lerden itibaren hem çeşitli merkezlerin farklı tedavi yöntemlerinin kıyaslanması, hem de standart bir yaklaşımın belirlenebilmesi için TNM sistemi kullanılmaya başlanmıştır. Bugün dünyada oldukça yaygın kullanılan TNM sisteminde T, primer tümör boyutunu; N, bölgesel lenf nodu tutulumunu; M ise uzak metastazı temsil etmektedir (49–52).

Meme kanseri AJCC 2003 yılı evrelemesine göre standartlar aşağıda belirtilmiştir (53):

1. Primer Tümör Boyutu (T):

Tx: Primer tümör değerlendirilemiyor

T0: Primer tümör kanıtı yok

Tis: İn situ karsinom, intraduktal karsinom, lobuler karsinoma in situ; ya da tümörsüz meme başının Paget hastalığı

T1: Tümör çapı 0 ila 2 cm arasında

T1mic: Mikroinvazyon, tümör 0,1 cm'den küçük

T1a: Tümör çapı 0,1–0,5 cm arasında

T1b: Tümör çapı 0,5–1 cm arasında

T1c: Tümör çapı 1–2 cm arasında

T2: Tümör çapı 2–5 cm arasında

T3: Tümör çapı 5 cm'den fazla

T4: Herhangi bir boyuttaki tümör

T4a: Göğüs duvarına yayılım

T4b: Ödem (peau d'orange dâhil), cilt ülserasyonu, ya da ipsilateral memede sınırlı satellit cilt nodülleri

T4c: 4a + 4b

T4d: İnflamatuvar meme kanseri

2. Bölgesel Lenf Düğümleri:

2.1. Lenf Nodlarının Klinik Sınıflaması (N):

Nx: Bölgesel nodlar değerlendirilemiyor (Daha önce çıkartılmış olanlar da dâhil)

N0: Bölgesel nod metastazı yok

N1: Mobil ipsilateral aksiller lenf nodlarına metastaz

N2: Sabit veya dolaşık ipsilateral aksiller lenf nodlarına metastaz veya klinik olarak açık aksiller lenf nodu metastazı yokluğunda klinik olarak belirgin ipsilateral mammariya interna lenf nodu metastazı

N3: Aksiller lenf nodu tutulumu olsun olmasın, ipsilateral infraklaviküler lenf nodlarına veya açık aksiller lenf nodu metastazı varlığında klinik olarak belirgin internal lenf nodlarına metastaz veya aksiller veya mammariya interna lenf düğümü tutulumu olsun ya da olmasın, ipsilateral supraklaviküler lenf nodlarına metastaz

2.2. Lenf Nodlarının Patolojik Sınıflaması (pN):

pNx: Bölgesel nodlar değerlendirilemiyor (Daha önce çıkartılmış olanlar da dahil)

pN0(i-): Bölgesel nod metastazı yok, immunohistokimyasal olarak negatif

pN0(i+) Bölgesel nod metastazı yok, immunohistokimyasal olarak pozitif, 0,2 mm'den büyük immunohistokimyasal küme yok

pN0(mol-): Bölgesel nod metastazı yok, negatif moleküler bulgular (Real Time PCR)

pN0(mol+): Bölgesel nod metastazı yok, pozitif moleküler bulgular (Real Time PCR)

pN1mi: Mikrometastaz (0,2 mm'den büyük, 2 mm'den küçük)

pN1a: 1-3 aksiller noda yayılım

pN1b: Sentinel lenf nodu diseksiyonu ile internal mammariyan nodlarda saptanan mikroskopik metastaz, fakat klinik olarak belirgin değil.

pN1c: 1–3 adet aksiller lenf nodunda ve internal mammariyan nodlarda sentinal lenf nodu diseksiyonu ile mikroskopik olarak saptanan metastaz, klinik olarak belirgin değil

pN2a: 4–9 aksiller lenf nodunda metastaz

pN2b: Aksiller lenf nodu metastazı yokken, internal mammariyan lenf nodlarında klinik olarak belirgin metastaz

pN3a: 0 veya daha fazla lenf nodunda metastaz

pN3b: 1 veya daha fazla pozitif aksillar lenf nodu varlığında klinik olarak belirgin ipsilateral internal mammariyan lenf nodlarına metastazı veya sentinel lenf nodu diseksiyonuyla saptanan klinik olarak belirgin olmayan mikroskopik hastalıkla birlikte 3 veya daha fazla aksiller lenf nodunda veya internal mammariyan lenf nodunda metastaz

pN3c: İpsilateral supraklaviküler lenf nodlarında metastaz

3. Uzak Metastaz:

M0: Uzak metastaz yok

M1: Uzak metastaz var

Tablo 2.1. AJCC (American Joint Commission on Cancer) Evreleme Sistemi (53)

EVRELER	TÜMÖR BOYUTU	NOD DURUMU	METASTAZ
EVRE 0	Tis	No	Mo
EVRE 1	T1	No	Mo
EVRE 2A	To	N1	Mo
	T1	N1	Mo
EVRE 2B	T2	No	Mo
	T2	N1	Mo
	T3	No	Mo
EVRE 3A	To	N2	Mo
	T1	N2	Mo
	T2	N2	Mo
	T3	N1	Mo
EVRE 3B	T3	N2	Mo
	T4	No	Mo
	T4	N1	Mo
EVRE 3C	T4	N2	Mo
	Herhangi T	N3	Mo
EVRE 4	Herhangi T	Herhangi N	M1

2.5.7. Meme kanserinde prognostik faktörler

Meme kanserinde tanıdan sonraki doğal seyir hastalar arasında farklılıklar gösterebilmektedir. Aynı tümör çapına sahip olan ve takip edilen hastalardan bazılarında tümör nüksü çok kısa sürede ortaya çıkmakta iken, diğerleri sağlıklı olarak yaşamaya devam etmektedir. Bundan dolayı meme kanseri olan hastalardaki bu klinik ve biyolojik davranış farklılıklarını ve hastalığın hızla gelişebileceği yüksek risk grubunu belirlemek için prognostik faktörler kullanılır:

- Tümör çapı
- Aksiller lenf nodu tutulumu
- Histolojik tümör tipi, histolojik grade
- Hormon reseptörleri (östrojen ve progesteron reseptörleri)
- Tümör proliferasyon hızı (Mitoz sayısı, timidin işaretleme indeksi, S-faz reaksiyonu, immünohistokimyasal işaretleyiciler)
- Moleküler prognostik faktörler (enzimler, onkogen, onkosüpresör genler)

2.5.7.1. Tümör çapı

Tümör çapı, meme kanserinde nüks riski ve özellikle nod negatif hastalarda adjuvan tedavi seçimi için önemli ve güvenilir bir prognostik faktördür (54). Tümör çapının klinik ve patolojik ölçümleri arasında büyük çelişkiler saptanabilmektedir. Bu nedenle patolojik ölçümlerin gerçek tümör çapını daha iyi yansıttığı ve esas alınması gerektiği vurgulanmıştır (55). Tümör çapı aksiller nod tutulumunu da etkiler. Çap büyüdükçe aksiller tutulumun yanında tutulan nod sayısında da artış söz konusudur. Aksiller tutulum gösteren küçük çaplı tümörlerin prognozu, büyük çaplı olanlara göre daha iyidir. Tüm nodal tutulum kategorilerinde tümör çapı büyüdükçe yaşam süresi kısalmaktadır (56). Özellikle aksiller tutulum göstermeyen primer meme tümörlü hastalarda tümörün meme içindeki lokalizasyonu da prognostik önem taşımaktadır. Medial tümörlere göre lateral lokalizasyonlu tümörlerin aksiller metastaz yapma olasılığı daha fazladır. Tümör çapı, tümör dinamiği yanında tanıda gecikmeyi de ifade eder.

2.5.7.2. Aksiller lenf nodu tutulumu

Günümüzde meme kanserinin prognozunu belirleyen en önemli faktör aksiller lenf nodlarının metastaz içerip içermediği, eğer içeriyorsa tutulmuş lenf nodu sayısıdır (55,57). Aksiller lenf gangliyonlarında metastaz yoksa 10 yıllık hastalısız yaşam süresi %70–80 arasındadır. Bu oran aksillası pozitif olan hastalarda %30'lara kadar düşer (58,59).

Birçok klinik çalışmada aksiller tutulumu göre hastalar:

- a) Negatif nod
- b) 1–3 pozitif nod
- c) 4 veya daha fazla pozitif nod gibi gruplara ayrılmıştır.

Araştırmaların hemen tamamında hastalığın seyri ve tutulan nod sayısı arasında direkt bir ilişki saptanmıştır (60). İnvaziv tümörlerin aksine, in situ (non-invaziv tümörlerde) aksiller tutulum oranı çok düşüktür (%2–3 oranında).

Hastaların yaşam süreleri ile tutulan nod sayısı arasında sıkı bir ilişki vardır. Tutulan nod sayısına paralel olarak prognoz da kötüleşmektedir. Hastalısız yaşam süresinin de tutulan nod sayısı ile ilişkisi vardır. Aksilla negatif olan hastalarda 10 yılda nüks oranı %20 iken, 4 veya daha fazla nod pozitif olanlarda nüks %71'dir. 13 veya daha fazla sayıda nod pozitifliği nüksü %87'e çıkarmaktadır (61). Ayrıca lenf nodu tutulumu tümörün büyüklüğü ile de ilgilidir. Nodal tutulumun, tümör reseptör durumu ve proliferasyon ölçümü gibi biyolojik işaretleyicilerden bağımsız olduğu, dolayısıyla tümörün kronolojik yaşı ile ilişkili olduğu düşünülmüştür (62). Aksillada yaygın tutulum olan olgularda hastalık nüks olasılığı yüksek olmakla kalmayıp, tutulum göstermeyenlere göre çok daha erken görülmektedir (63). Aksiller disseksiyonda pektoralis minör kasının dış yanındaki (level 1) ve arkasındaki (level 2) lenf ganglionlarının çıkarılması yeterlidir. Bu işlemle 10–15 tane lenf nodunun çıkarılması ve değerlendirilmesi aksilla tutulumu konusunda bize yeterli bilgileri sağlamaktadır. Aksillada level 1 düzeyindeki lenf nodlarında metastaz yok ise; level 2 ve level 3 metastaz olması riski (skip metastaz) çok düşüktür (%1,3–5) (57).

2.5.7.3. Histolojik tümör tipi ve prognoz

Günümüzde meme karsinomlarının histopatolojik tipleri için dünyada tek bir sınıflama sistemi bulunmamakla birlikte genelde DSÖ sınıflaması farklı merkezlerde değiştirilerek kullanılmaktadır (64).

- *İnvaziv Duktal Karsinom*: Memenin duktus epitelinden gelişen tümörlerdir. Tüm invaziv meme karsinomlarının %47-75'ini oluştururlar.
- *İnvaziv Lobuler Karsinom*: İnvaziv lobuler karsinomların sıklığı %2–15 arasında değişmektedir (65,66). Oldukça yüksek oranda bilateral olma eğiliminde olup, senkron (%3) ya da metakron (%20) gelişebilirler (67). Klasik tipte lobuler karsinomalar ile invaziv duktal karsinomaların prognozu arasında anlamlı bir fark bulunmadığı bildirilmektedir (67,68).
- *Prognozu İyi Olan Özel Tipte Meme Karsinomları*:
 - a) *Tubuler Karsinom*: Tüm meme karsinomlarının %2'sini mamografi ile tespit edilenlerin %8–20'sini oluşturur (69,70).
 - b) *İnvaziv Kribriiform Karsinom*
 - c) *Müsinöz Karsinom*: Tüm meme karsinomlarının %1-6'sını oluşturmakta olup genelde ileri yaşta görülürler (70).
 - d) *Sekretuar Karsinom*: İlk olarak çocuklarda tanımlanmış olmakla birlikte erişkinde de tüm yaşlarda bildirilmektedir (71). Çocuklarda iyi gidişli iyi diferansiye malignitelerdir.
- *Prognozu Kötü Olan Özel Tipte Meme Karsinomları*:
 - a) *Metaplastik Karsinom*
 - b) *Taşlı Yüzük Hücreli Karsinom*
 - c) *İnflamatuar Meme Karsinomu*: En agresif meme karsinomu olduğu düşünülmektedir.
 - d) *Lipitten Zengin Karsinom*: Agresif gidişli nadir bir tümördür (72).
 - e) *Medüller Karsinom*

2.5.7.4. Meme kanserinde hormonal reseptörler ve prognoz

Meme kanserlerinde, östrojen ve progesteron hormonları mutajenik ve promotor etki yapmaktadır. Östrojen hormonunun mutajenik etkisi reseptörler tarafından düzenlenmektedir. Kültür çalışmalarında da fonksiyonel östrojen reseptörü taşıyan meme kanser hücresinde mutajenik etkisi kanıtlanmıştır (73).

Östrojen ve progesteron reseptörlerinin (ER, PR) dokularda varlığını belirlemek için immunohistokimyasal, histokimyasal, biyokimyasal, otoradyografi gibi yöntemler bulunmaktadır. İmmünohistokimyasal ve biyokimyasal yöntemlerin reseptör durumunu saptamada benzer sonuçlar verdiğini (74) ancak immunohistokimyasal yöntemin seçici ve topografik üstünlüğü bulunduğu, prognoz yönünden daha yol gösterici olduğu belirtilmiştir (74,75). İmmunohistokimyasal yöntemlerde, rutin olarak antiöstradiol antikoru kullanılır (75). Başta meme ve endometrium karsinomu olmak üzere, bir grup neoplastik hastalıkta östrojen ve progesteron reseptörlerinin prognostik önemi belirlenmiştir. ER ve PR pozitif tümörler hormonal sağaltıma yanıt verir ve daha iyi prognoz gösterirler (76). Primer meme kanserlerinin ortalama %55-65'i; meme kanseri metastazlarının yaklaşık %45-55'i ER pozitifdir (75). Primer ve metastatik meme kanserlerinin yaklaşık %45-60'ı PR pozitifdir (75). ER ve PR pozitifliği postmenopozal dönemde, premenopozal dönemden daha fazladır. ER pozitif tümörlerde, hormon sağaltımına %55-60, ER negatif tümörlerde ise %8 yanıt alınmaktadır. Hem ER hem de PR pozitif tümörlerde hormonal sağaltıma yanıt %75-80'e ulaşmaktadır (75). ER, evre 1 ve 2 meme kanserlerinde, sağkalım ve hastaliksız sağkalım ile ilgili bulunmuş. PR'nün ise sağkalım için ER'den daha belirleyici olduğu belirtilmiştir (76). İn situ duktal karsinomalarda da nükleer derece arttıkça ER ve PR pozitifliğinin azaldığı saptanmıştır (77). ER ve PR meme kanserlerinde bağımsız prognostik faktördür. ER ve PR pozitifliği hormonal sağaltıma yanıtı ve daha iyi prognozu gösterir.

2.5.7.5. Tümör profilerasyon hızı ve prognostik önemi

Meme kanserinde benzer patolojik özelliklere sahip hastalarda farklı klinik davranışların anlaşılabilmesi için değişik biyolojik işaretleyicilerin prognostik önemi araştırılmıştır.

Tümör proliferasyon hızının prognostik değerlerini içeren bazı alt başlıkları bulunur. Bunlar mitotik indeks, immünohistokimyasal proliferasyon işaretleyicileri (Cyclin A ve Ki-67), S-faz reaksiyonu, Timidin labeling indeks, Bromodeoksüridin (BrDu) labeling indeks gibi prognostik faktörlerdir. Bu faktörlerin çoğu hakkında günümüzde halen kapsamlı çalışmalar yürütülmektedir (78).

2.5.7.6. Moleküler prognostik faktörler-Meme kanserinin biyolojik özellikleri

Meme kanseri biyolojik ve klinik açıdan çok heterojen bir hastalıktır. Meme kanserine bağlı denetimsiz hücre çoğalması genellikle genomik instabilite ve belirli epitelyal özelliklerin ortadan kalkmasına neden olabilir. Bu yüzden kanser gelişimine neden olan mekanizmaların ve her hasta için tümörün özelliklerinin bilinmesi ve buna en uygun tedavi yönteminin seçilmesi önemlidir.

Diğer malign hastalıklarda olduğu gibi meme kanserinde de hücre büyümesi ve gelişimine yol açan önemli hücresel yolları etkileyen genetik değişimler çok basamaklı bir süreçtir (Şekil 2.3). Çoğu genetik değişimler sadece kanserli dokudaki kanser hücrelerinde gözlenirken, daha az sıklıkla da olsa germ hücrelerindeki genetik değişimler ile ortaya çıkan maligniteler kalıtsal özellik taşırlar. Genomdaki bu kalıtsal veya kalıtsal olmayan genetik değişimler, belli hücresel genlerin belli özel değişimleri ile ilişkili bulunmuştur. Bunlar onkogen olarak isimlendirilirler ve normal işlevlere sahip bir diğer gen grubundan (protoonkogen) türevlenirler. Protoonkogenler normal hücre büyümesi ve farklılaşması için önemli olan bazı proteinlere ait kodlar içerirler. Eğer bir mutasyon sonucu protoonkogenin yapısı değişirse, oluşan hasar genin dolayısı ile gen ürününün yapısının değişmesine neden olur. Bunun sonucu olarak çeşitli yollarla hücre bölünmesinin kontrolü ortadan kalkar ve malignite ortaya çıkar. Kanser oluşumunda, onkogenlerden başka önemli ikinci bir gen grubu da tümör-baskılayıcı genlerdir. Bu iki gen grubu kanserogeneizde birbirleriyle zıt etkilidir. Onkogenler malign transformasyona neden olurken, tümör baskılayıcı genler hücre büyümesinde işlev gören genleri kontrol ederek tümör oluşumunu engellerler. Eğer tümör baskılayıcı genlerde bir hasar olursa büyüme kontrolü ortadan kalkacağından kanser ortaya çıkar (29,77). Onkogenlerin kanser oluşumuna katılması hakkında iki hipotez vardır. Birincisi; onkogenin ekspresyon

seviyelerindeki kantitatif değişiklikler, ikincisi ise onkogen yapısında meydana gelen değişikliklerdir. Onkogenlerdeki değişiklikler nokta mutasyonu, gen delesyonu, kromozomlarda yeni düzenlemeler, gen amplifikasyonu (gen çoğaltımı) ve insersiyonal mutagenез (yeni DNA katılımı) olarak sıralanabilir. Protoonkogenler, DNA dizilerindeki sadece bir bazın değişmesi (nokta mutasyon) ile onkogenlere dönüşebilirler. Somatik hücrelerde bu olay anormal gen ürününün (onkoprotein) sentezine yol açar ve bu ürün, hücre bölünmesini ve gelişimini uyararak kansere neden olur. Kromozomlardaki yapısal mutasyonlar protoonkogenlerin aktivasyonunu etkileyen mekanizmalardan biridir. Çeşitli kanser türlerinde, bir kromozomun her zaman aynı yerinde bir kırık veya translokasyonun meydana gelmesi o kanser türü için ayırıcı bir özellik olarak gözlenir. Gen amplifikasyonunda ise onkogene ait DNA parçası çok fazla sayıda replike olur. Bu işlem normal hücrelerde ya hiç gözlenmez, ya da çok nadir gözlenir. Fakat bu durum normal hücrelerin aksine kanser hücrelerinde sık rastlanan bir olaydır. Protoonkogenin amplifikasyonu aynı zamanda çok fazla miktarda gen ürünlerinin de (m-RNA ve onkoproteinler) ortaya çıkmasına (aşırı ekspresyon) yol açar. Amplifiye olan DNA'nın kodladığı proteinler normal işlevlerini kaybederler veya anormal tarzda işlev görürler. Amplifikasyonun tümör gelişimi ve ilerlemesi ile yakın ilişkisi saptanmıştır. Bu konuda tipik örneklerden biri meme kanserinde c-erbB-2 (Her2-Neu) onkogeninin amplifikasyonudur. Bazı durumlarda retroviral genomların küçük bir parçasının, hücrel onkogenlerin hemen bitişğine kaynaştığı gözlenir ve bu yol ile hücrel onkogenlere promotor etki yaparlar. Bu olayın c-myc protoonkogeni için söz konusu olabileceği bildirilmiştir (31).

Tüm bu mekanizmalar sonucu ortaya çıkan onkogenlerin ürünleri hücrede yerleştikleri yerlerde özel fonksiyonlar görerek hücrenin fizyolojik aktivitesinde değişiklikler ortaya çıkarırlar. Onkoproteinler, hücre proliferasyonu ve farklılaşması sırasında hücrenin nukleusundan plasma zarına kadar uzanan bir seri işlemde rol alırlar. Örneğin hücrel onkogenler büyüme faktörü ve çeşitli hormon reseptörlerine ait kodlar içerebilirler. Böylece bu proteinler plazma membranından nukleusa doğru çeşitli sinyallerin iletilmesinde rol alırlar. Bazı onkogenler ise gen ekspresyonunu düzenlemek için transkripsiyon düzenleyici faktörler gibi DNA'ya bağlanan proteinlerin işlevini görecek olan onkoproteinleri kodlarlar. Onkogenler hücre

seviyesinde dominant bir etkiye sahiptir. Bu genler aktifleştiklerinde tek bir mutant allel bile, normal bir hücrenin malign hücre haline dönüşmesine sebep olabilir (79,80).

a. Meme kanserinde etkili onkogenler

Meme kanserinin gelişimi açısından yüksek riskli olan bireylerde onkogenlerin ailesel meme kanseri olgularında primer lezyon oluşumundan sorumlu olmadığı, fakat tümör baskılayıcı genlerdeki resesif değişimlerin primer lezyon oluşumuna katkıda bulunduğunu gösteren çalışmalar vardır. Bu modele göre onkogenlerdeki değişimler sıklıkla tümör invazyonu veya metastaz ile ilişkili olabilirler. Çok adımlı tümörögenез hipotezinin benzer bir modeli de meme kanserleri için düşünülebilir. Meme kanserinin ortaya çıkışına, ilerlemesine ve metastazına katılan birçok faktörün varlığı bilinmektedir. Meme kanserlerinin bir bölümü, yukarıda açıklanan mekanizmalar ile bazı onkogenlerde ve tümör baskılayıcı genlerde meydana gelen çeşitli değişimler sonucu ortaya çıkmaktadır. Meme kanserinde heterozigosite kaybı ve gen kopyalarının sayısındaki artış ile hiperplaziden duktal karsinoma in situ'ya (DKİS) geçiş oranı artmaktadır (80).

Bu genetik değişimler tarafından etkilenen hücresel işlem yolları diğer birçok hücresel yol ile oldukça sıkı ilişkili olduğundan bu karmaşa nedeniyle teşhis ve tedavi uygulamaları da oldukça yavaş ilerlemektedir. Meme için ayırıcı özellikler taşıyan onkogenler vardır. Normal ve kanserli meme dokusunda çoğunlukla saptanan özel onkogenler ras, myc ve c-erbB-2 (veya HER2/neu) olarak sıralanabilir (21).

b. Büyüme faktörü reseptörleri

Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü (EGFR): Hücre membran reseptörü olan EGFR ailesi; EGFR (HER1), HER2, HER3 ve HER4'den oluşur. EGFR, tirozin kinaz aktivitesine sahiptir. Bu aileye ait üyeler transfosforilasyon sonucu bir seri etkileşimler ile heterodimerler oluşturabilirler ve farklı protein ailelerinin aktivasyonunu düzenlerler. Epidermal büyüme faktörünün (EGF) reseptöre bağlanması ile reseptör uyarılır ve EGF hücre içine alınır. Bu durumda EGFR'nin otofosforilasyonu ve diğer hücre içi substratların fosforilasyonu sağlanmış olur. Bu yol ile nukleusta transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu artar, hücre bölünmesi uyarılır. Hücre membranından nukleusa doğru sinyal iletiminin aktarılmasında protoonkogen ailesinden bazı üyeler (ras, src ailesi gibi) buna aracılık

etmektedir. Bu sinyal iletim yollarında yer alan birçok protoonkogen çeşitli kanserlerde etkili bulunmuştur. Sinyal ileti yollarının farklı bölgelerinde ortaya çıkan onkogenik mutasyonlar devamlı olarak mitozu aktifleyen sinyallerin taşınmasında rol alırlar (23, 41, 43). EGFR gen amplifikasyonun kötü prognoz ile ilişkili olduğu birçok karsinomda gösterilmiştir (21). Kanser hücrelerinde EGFR gen amplifikasyonunun gözlenmesi onun onkogen olduğunun göstergesidir. Hormon reseptör varlığına göre bir değerlendirme yapıldığında ER yokluğunda, yüksek EGFR düzeyleri gözlenmektedir. Meme tümörlerinde yüksek EGFR düzeyleri ER'den bağımsız olarak kötü prognozla ilişkilidir. Meme kanserlerinde EGFR'de herhangi bir mutasyon bildirilmemiştir. Tüm meme kanserlerinin yaklaşık olarak yarısında EGFR'nün aşırı üretimi saptanır, ancak amplifikasyon oranı %0 ile 14 arasında değişmektedir (40). Birçok çalışmada EGFR ile ER ekspresyonu ve relapsız sağkalım arasında negatif bir ilişki olduğu bulunmuştur. Dörtüzellidokuz hasta ile yapılan prospektif bir çalışmada, EGFR ekspresyon seviyesi düşük olan vakalarda hastalısız ve genel sağkalımın uzadığı tespit edilmiştir. EGFR ekspresyonunun özellikle invaziv lobuler karsinomlu hastalarda daha önemli olduğu, EGFR ekspresyon seviyesi yüksek olan bu hastalarda diğer meme kanser alt tiplerine göre sağkalımın çok kısa olduğu bildirilmiştir ve bu tip için önemli bir prognostik belirteç olabileceği vurgulanmıştır (48,80).

c-erbB-2 (HER2/Neu): HER2/Neu, diğer adı ile c-erbB-2 veya p185 olarak isimlendirilen bu onkogen 17. kromozomda q12'ye yerleşmiştir ve protein ürünü hücre bölünmesi ve farklılaşmasına neden olmaktadır. Ancak gen amplifikasyonu ve aşırı ekspresyon nedeniyle kanser patogeneze katılan bu onkogen, meme kanserleri için önemli bir prognostik belirteç olarak kabul edilmektedir. c-erbB-2 onkoproteini plazma membranına yerleşmiş EGFR'üne benzer bir membran reseptördür (81,82). c-erbB-2, meme kanseri araştırmalarında ve tedavisinde en yoğun çalışılan onkogenlerden biridir. HER2 ve diğer üyeler (HER1, HER3 veya HER4) arasındaki liganda bağlı bir heterodimerizasyon c-erbB-2 sinyal yolunu aktifler. c-erbB-2 geninin amplifikasyonu veya proteinin aşırı ekspresyonu meme kanserlerindeki neoplastik hücrelerin %10-40'ında gösterilmiştir. Bu onkogenin kopya sayılarının yüksek bulunuşu, tümörü şiddeti ile doğru orantılı olarak saptanmıştır (78, 81-84).

Erken dönem meme kanserinde c-erbB-2 gen amplifikasyonu kötü prognoz ile yakın ilişkili bulunmuştur. Çok sayıdaki çalışma ile c-erbB-2 amplifikasyonunun diğer kötü prognostik faktörlerin varlığı, düşük tedavi yanıt oranları ve lenf nodu pozitif meme kanserlerinde hastaların yaşam süreleriyle ilişkili olduğu ortaya konmuştur. Bu açıdan c-erbB-2'nin meme kanseri için tek başına bir prognostik faktör olabileceğini akla getirmektedir. c-erbB-2 ekspresyonu ile ilgili verilerin çoğu lenf nodu pozitif hastalardan elde edilmesine rağmen uzun süreli takip sonrasında lenf nodu negatif hastalarda da c-erbB-2 amplifikasyonu olanların daha kötü prognoza sahip oldukları gözlenir (85). İnvaziv meme kanserlerinin alt tipleri arasında sadece invaziv duktal karsinomlarda c-erbB-2 amplifikasyonu gösterilmiştir. Genellikle invaziv lobular karsinomlarda c-erbB-2 aktivasyonu görülmemektedir. İn situ lobuler karsinomlarda da aşırı üretime rastlanmamıştır. Buna karşılık DKİS alt tipi olan komedo tipte c-erbB-2 aşırı üretiminin prevalansı %90'ın üzerindedir. Bu tipteki karsinomlarda bu proteinin çok miktardaki üretimi ile gen amplifikasyonu arasında bağlantı olduğu ve gen amplifikasyonunun komedo tipi meme kanseri için erken bir genetik bulgu olduğu gösterilmiştir (65).

c. Sinyal iletimi ile ilişkili Nuklear Onkogenler

Farklı dokularda büyümeyi indükleyici steroidlerin ve büyüme faktörlerinin etkileri nuklear protoonkogenler aracılığı ile gerçekleştirilmektedir. Hücrelerin mitojenle etkileşimlerinden kısa bir süre sonra c-fos, c-myc, c-myb ve c-jun protoonkogenleri indüklenir. Bu onkogenlerin indüksiyonu ile hücre proliferasyonu arasında bir bağlantı vardır. Meme kanserinde östrojen ve progesteron ile c-myc, c-fos ve c-jun protoonkogenlerinin aktifleştikleri gösterilmiştir (66).

c-Myc: c-Myc geni kromozom 8q24'e yerleşmiştir. c-Myc proteini hücre proliferasyonu, hücre farklılaşması ve apoptoz ile ilişkili genlerin transkripsiyonlarını düzenleyen bir fosfoproteindir. c-Myc'in gen amplifikasyonu ise hücre döngüsünün bozulmasına neden olur ve p53'e bağlı yoldan hücrenin apoptoza yönlendirilmesinde rol oynar. c-Myc geninin aşırı üretimi veya gen yapısındaki değişiklikler meme kanserine neden olmaktadır. Karsinomların %32'sinde Myc protoonkogeninin 2-15 kat daha fazla amplifiye olduğu, invaziv duktal karsinomlarda ise Myc geninin yapısal değişiklikler taşıdığı gösterilmiştir. Bazen kötü prognoz ve agresif klinik gidişle ilişkili olan tümörlerde Myc amplifikasyonu

izlenebilmektedir. Ancak Myc'in tümörün histolojik tipi ve derecesi ile ayrıca ER pozitifliği ile ilişkisi gösterilememiştir. Myc ekspresyonu tek başına meme karsinogenezi için yeterli olabilir. Hatta Myc'in hormona yanıtsızlıktan veya kemoterapiye dirençten sorumlu olduğu ileri sürülmektedir. Yaşlı kadınlarda meme kanseri ile c-Myc protoonkogeni arasında yakın bir ilişki bulunmuştur. c-Myc gen amplifikasyonu meme kanserindeki en sık rastlanan genetik değişikliklerden biridir. Meme kanserlerinin 1/3'i bu genetik değişikliği tarifler (31, 86, 87).

d. Steroid Reseptörleri

Östrojen reseptörü (ER), Progesteron reseptörü (PR): ER ve PR gen regülasyonunda iş gören reseptörlerdir. ER geni, ER'nin bir alt ünitesini kodlar. Bu alt ünite farklı proteinler ile örneğin ısı şoku proteini ile kompleks oluşturur ve ER aktif formu ortaya çıkar. Meme kanserlerinde ER genine ait alternatif kopma olayları ile farklı protein sentezleri ve mutasyonları gözlenmiştir. PR geni ise meme dokusunda 3 farklı izoformu kodlar. Homodimer veya heterodimerler oluşturarak iş görürler. Meme kanserlerinde ER ve PR izoformlarının çeşitliliği dimerizasyonda önemli farklılıklara, ayrıca ligandın bağlanma özgüllüğünde değişikliklere neden olarak hedef genin farklı bir şekilde düzenlenmesine neden olabilirler (88). Meme kanserinin gelişmesinde seks hormonlarının rolü vardır ve her zaman geçerli olmasa da, antihormonal terapiye cevap verdikleri için tümörlerde ER veya PR pozitifliği prognostik ve prediktif bir faktör olarak kabul edilir. Meme kanserlerinin %60'ından daha fazlası ER pozitif olmasına rağmen, bunların yaklaşık üçte biri endokrin tedaviye cevap vermemektedir. Tümörün prognozu açısından ER tayininin daha güvenilir olması için hem ER hem de PR düzeyine bakılması gerekir. ER ve PR'nün aktivasyonu normale göre daha fazladır. Hormona cevapsız olan olgular, ya reseptörde bir mutasyon, reseptörün kontrolündeki bir proteinin olumsuz etkisi ya da reseptör izoformlarının farklı olması sonucu olabilir. PR pozitif tümörlerin %70'i ve PR negatif tümörlerin %25'i hormon tedavisine cevap vermektedir. Bunun nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte hasarlı gen veya gen ürününün bir rolü olduğu düşünülmektedir (80). ER ve PR, onkogen veya tümör baskılayıcı gen sınıflarına dâhil edilemezler, ancak meme kanserinin hem başlangıcında hem de ilerlemesinde aracı rol oynadıklarından kanser belirteçleri gibi düşünülebilirler.

e. Meme kanserinde etkili tümör baskılayıcı genler

Protoonkogenlerin ürünleri, büyüme ve gelişmeyi ilerletici işlevlere sahiptirler. Ancak hücrede, protoonkogenlerin çalışmalarını kontrol eden, anormal büyümeyi ve malign değişimleri engelleyen tümör baskılayıcı genler bulunur.

p53: p53 geni 17. kromozomun p13-1 bandına yerleşmiştir ve moleküler ağırlığı 53 kD'luk çekirdek proteini kodlar. Ultraviyole ışınları, karsinojenler ve sitostatiklerin DNA'da oluşturdukları hasarı ortadan kaldırmak üzere aktifleşir. Hasar düzeltilemez ise hücre apoptoza yönlendirilir. p53 geninin her iki alleldeki kaybı (heterozigotluk kaybı) veya nokta mutasyonları çeşitli tümörlerde ve meme kanserlerinde gösterilmiştir. Meme kanserlerinde p53'ün yaklaşık %60'ının nokta mutasyonu şeklinde bulunduğu, bunun birçok kanser tipinde kimyasal kanserojenler sonucu olduğu ileri sürülmüştür. Meme kanserlerinde 17p'nin kaybı ile malign histopatolojik özellikler arasında yakın bir ilişki vardır (89-92).

Meme kanserlerinde aşırı p53 protein üretimi kötü prognozun bir göstergesidir. Dokuda mutant p53 pozitifliğinin tespiti %80-90 oranında meme kanserini doğrulamaktadır. Meme kanseri çalışmaları, p53 ekspresyonu ile yüksek tümör derecesi, yüksek proliferasyon indeksi, anöploidi ve ER ve PR yokluğu arasında yakın ilişki olduğunu desteklemektedir. Bu parametreler kısa sağkalım ile ilişkili olduğundan p53 pozitifliğinin kötü prognoz ile ilişkili olduğundan bahsetmek mümkündür. Genelde tüm hastalarda kısa yaşam süresi ve hastalısız dönem ile p53 ekspresyonu arasında prognostik bir anlamlılık bulunmuştur (90). Meme kanserlerinin %20-30'unda p53 inaktivasyonu gözlenmektedir. p53 mutasyonlarının tespiti in situ karsinomadan invaziv karsinomaya geçiş için bir belirteç olarak kullanılabilir. DKİS'da p53 mutasyonu gözlenmediği bildirilmiştir. Aynı zamanda meme karsinogenezinin erken devrelerinde p53'ün mutasyona uğradığı gösterilmiştir. Primer meme kanserli vakalarda p53, %15 oranında pozitif saptanmış, EGFR pozitif ve ER-negatif vakalarda ise anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (92).

Li-Fraumeni sendromuna sahip ailelerin germ hücrelerinde p53 predipozisyonu tespit edilmiştir. Li-Fraumeni sendromlu olgularda normal meme dokusunda p53 mutasyonu saptanması erken meme karsinogenezinin bir bulgusu olarak kabul edilir (93). p53 mutasyonlarının invaziv meme kanserlerinin gelişiminden önce ortaya çıktığı, özellikle yüksek histolojik dereceli DKİS'da

hastalığın önlenmesi ve tedavisi için önemli bir belirteç olduğu ileri sürülmektedir (93). p53'ün tümör çapı ve aksiller lenf tutulumu ile ilişkili olmadığını gösteren çalışmalar yanında, ER negatif meme karsinomlarında özellikle medüller ve adenoid kistik karsinomlarda p53 pozitifliği dikkat çekicidir (94).

f. Meme kanserinde etkili diğer genler

Bcl-2 geni, ilk kez B hücreli lenfomalarda bir resiprokal kromozom translokasyonu ile tespit edilmiştir. Bcl-2 mitokondri, endoplazmik retikulum ve nükleus membranına yerleşik bir proteindir ve apoptotik hücre ölümü ile ilişkilidir. Meme tümör dokularında Bcl-2'nin aşırı ekspresyonunu gösteren çalışmalar vardır (95). Genelde Bcl-2 ekspresyonu ER varlığı ile yakın bir ilişki olduğu bilinmesine rağmen, bu ilişki EGFR ve p53 ekspresyonu ile gösterilememiştir. Bcl-2 ekspresyonunun bağımsız bir prognostik faktör olduğu konusunda yeterli destek henüz yoktur. Duktal meme karsinomlarında apoptoz kaybı ile ilişkili Bcl-2 aşırı ekspresyonunun, p53 negatif tümörler arasında, hastalığın ilerlemesi ile yakın ilişkisinin yanında ilave genetik lezyonlarında katkısı olduğu bildirilmiştir (95,96).

VEGF ekspresyonu, meme kanserinde ve tüm neovasküler dokularda yükselmektedir. VEGF ekspresyon düzeyi, aynı zamanda mikrodamar dansitesi ve metastatik yayılım ile de korelasyon göstermektedir. VEGF kanda dolaştığı ve endotel hücreleri üzerinde direkt etkili olması nedeniyle tümör anjiogenezinin VEGF yoluyla inhibe edilmesi için bu molekülün tümör dokularına penetre olması gerekmemektedir. VEGF endotel hücreleri için potent bir mitojen olmasına rağmen diğer hücre türleri üzerinde çok az bir etkiye sahiptir ve bu yüzden diğer fizyolojik oluşumları pek etkilememektedir.

VEGF ayrıca, erişkinlerde nispeten stabil ve sessiz bir durumda bulunan ve uzun bir yaşam süresine sahip olan endotel hücreleri üzerinde de etkili olmaktadır. Bu stabilite, söz konusu endotel hücrelerinin tedaviye dirençli bir fenotipe mutasyon gösterme olasılığının anstabil tümör hücrelerinden çok daha az olacağı anlamına gelmektedir ki, bu özellik endotel hücrelerini özellikle neovaskülarizasyonda çekici bir hedef haline getirmektedir.

Fizyolojik anjiogenezde VEGF, yeni kan damarlarının formasyonunu stimüle eder ve immatür damarların diğer faktörlerle koordinasyonunu sürdürerek normal bir yapı ve fonksiyona sahip olmalarını sağlar. VEGF ile stimüle edilen

neovasküler kan damarlarında bu koordinasyon kaybolmuştur ve bu durum, bozuk damarların kör uçlarla proliferatif bir şekilde çoğalmasına yol açmaktadır. VEGF ayrıca kan damarlarının permeabilitesini arttırarak kötü şekilde perfüze olan dokularda VEGF üretimini daha da arttıran hipoksi oluşumuna yol açar. Sızıntı yapan kan damarları dokularda yüksek bir interstisyel basınca da neden olur. Bu durum bazı tedavi ajanlarının dokuya ulaşmasını zorlaştırır. VEGF inhibisyonu permeabilitenin normale dönmesi ve azalmış interstisyel basınç ile sonuçlanır ve bu da neovasküler dokuların tedaviye daha duyarlı dokular haline gelmesi demektir.

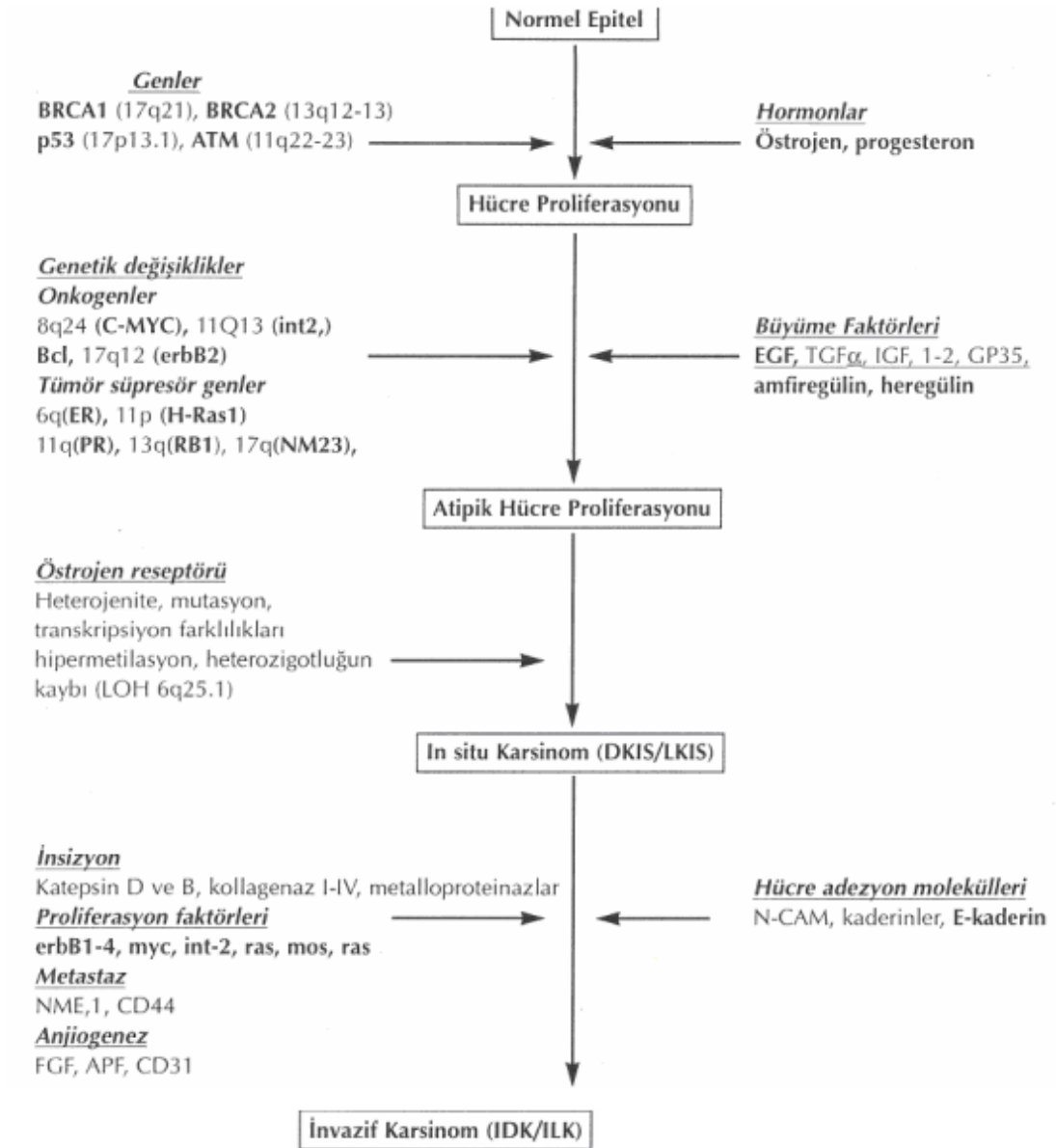
VEGF üretimi, tümörler tarafından sıklıkla eksprese edilen EGF, transforme edici büyüme faktörü alfa ve beta (TGF- α ve β), fibroblast büyüme faktörü (FGF) ve platelet kökenli büyüme faktörü (PDGF) gibi önemli büyüme faktörleri tarafından stimüle edilmektedir. Östrojen ve tiroid salgılatıcı hormon (TSH) gibi hormonlar ve IL-1 ve IL-6 gibi inflamatuvar sitokinler de pek çok hücre türünde VEGF üretimini indüklemektedir. p53 gibi tümör supresör genlerinde ve ras gibi onkogenlerde meydana gelen mutasyonların da VEGF'ü stimüle ettikleri gösterilmiştir. VEGF üretiminin indüklenmesi pek çok tümör ve neovasküler dokuda karakteristik gibi görünmektedir. VEGF inhibisyonunun bu tümörlerde ve neovasküler dokularda anjiogenik aktiviteyi inhibe etmesi de mümkün gibi gözükmektedir.

İnsan tümörlerinde artmış neovasküler formasyon ve artmış intratümöral mikrodamar dansitesi daha kötü bir prognozla ilişkilidir (97). Bu bulgular, VEGF ekspresyonu derecesi ile korelasyon gösteriyor gibi görünmektedir. Çünkü VEGF ekspresyonunun çeşitli solid tümörlerde güçlü bir prognostik indikatör olduğu gösterilmiştir (97,98). Fakat neovasküler doku dansitesi ile veya bu dokunun yayılımı ile korelasyonu belirsizdir. Yani az miktardaki VEGF agresif bir neovasküler doku oluşturabilirken, fazla miktardaki VEGF daha az neovasküler doku oluşturabilir. Muhtemelen VEGF etkilerine aracılık eden moleküllerinde doku davranışı üzerine etkileri vardır. VEGF ideal bir terapötik hedefdir.

GRB-7 (Growth faktör-reseptör bağlayıcı protein-7), bir adaptör moleküldür ve sinyal iletim molekülleri ile etkileşebilir. GRB-7, GRB-7/-10/-14 ailesinin bir üyesidir. Bu gen Her2/Neu geninin hemen yanında 17q11-21 kromozomunda lokalizedir. Bu nedenle transkript analizleri 17q11-21 kromozomu

amplifiye olan meme kanser hücrelerinde Her2/Neu ile eş zamanlı GRB-7 RNA ekspresyonunun varlığı gösterilmiştir. Bu nedenle GRB-7, Her2/Neu ile eş zamanlı amplifiye olur. GRB-7 amplifikasyonu da RNA'nın overekspresyonu ile ilişkilidir. GRB-7 sinyal iletimi, hücre ölümü ve tümör progresyonu gibi önemli hücresel ve fizyolojik fonksiyonları vardır (99).

GATA-3, hemopoietik hücreler, deri, böbrek, meme ve santral sinir sistemini içeren dokuların embriyogenezisi boyunca gen anlatımını en iyi şekilde düzenleyen transkripsiyon faktörüdür. Pek çok önemli rolü olmasına yanında *GATA-3* memenin luminal hücre diferansiyasyonunda da anahtar rol oynar. Meme kanseri genellikle luminal epitel hücrelerinden kaynaklanır. Bundan dolayı *GATA-3* meme kanseri proliferasyonu ve diferansiyasyonunu içeren gen dizilerini kontrol eder. Meme kanserinde, *GATA-3* gen anlatımı ile ER gen anlatımı arasında güçlü bir ilişki vardır ve meme kanserli hastaların prognozunu düzeltmek ve hormon tedavisine yanıtını belirlemek için *GATA-3* klinik belirteç olarak kullanılabilir. İlk olarak, Hoch ve arkadaşları ER ve *GATA* gen anlatımı arasındaki güçlü bir korelasyon olduğunu göstermiştir (100). cDNA mikroarray analizleri, ER (+) ve ER (-) hücrelerde yapılmıştır ve ER (+) olanlarda *GATA-3*'ün güçlü bir biçimde ekspresse olduğu gösterilmiştir (100). ER (+) hastalar, ER (-) hastalardan daha uzun hastaliksız sağkalıma sahiptir. ER (+) ve ER (-) meme tümörlerinin gen anlatımı 11 bağımsız mikroarray profil çalışmalarında analizlenmiştir (99). Bu çalışmalar meme kanserli hastaların prognozunda *GATA-3*'ün güçlü ve bağımsız bir prognostik marker olduğunu göstermiştir. *GATA-3* un prognostik değeri hormonal tedaviden bağımsızdır. Düşük *GATA-3* gen anlatımı ER (+) invaziv karsinomlarda yüksek metastaz ve/veya yüksek rekürrens oranı ile ilişkilidir. Yüksek *GATA* gen anlatımı, iyi yaşam süresi ve relapssız sağkalım ile ilişkilendirilmiştir (100-102).



Şekil 2.3. Meme kanseri oluşumuna ve ilerleyişine katılan faktörler ile açıklanabilecek olası çok aşamalı karsinogenez modeli (103)

2.5.7.7. Gen ifadesi ve transkriptomik

Gen, kalıtımın işlevsel birimidir. Moleküler anlamda gen fonksiyonel bir ürün, ribozomal ribonükleik asit (rRNA), taşıyıcı ribonükleik asit (tRNA) ve polipeptid sentezini kodlayan DNA dizisi olarak tanımlanabilir. DNA molekülünde şifrelenen genetik bilginin ifade edilmesi veya bu bilginin kullanılmasına gen ekspresyonu denir. Bir polipeptid zincirini sentezleyen gene protein geni denir. Normal hücrelerde genetik bilginin akışı şu şekilde olur:



DNA bir organizmanın tüm proteinlerinin yapı planını içerir. Fakat bu bilginin protein biyosentezinde kullanılabilmesi için, hücrenin protein biyosentezini yapan organeli olan ribozomlara taşınabilecek bir formda ve DNA'nın uygun bir bölümü üzerinde kopyalanmış olması zorunludur. Transkripsiyon olarak tanımlanan bu olayda DNA bir organizmanın tüm proteinlerinin yapı planını içerir (104).

Genomik, yapı proteini olan DNA'nın analiz edilmesi ile ilgili tüm çalışmalardır. Yapısal ve işlevsel olmak üzere iki tiptir. Yapısal genomikte DNA sarmal dizilimi ve bilgisi ele alınırken, işlevsel genomikte DNA'dan eksprese olan yapıların analizi ön plandadır. Bir diğer deyişle genomik, genomdaki bütün genlerin işlev ve etkileşimlerini incelerken, transkriptomik olarak da anılan işlevsel genomik, hücre genomundan transkripsiyonla oluşan mRNA transkriptlerinin eş zamanlı incelenmesidir. Genom ifadesi organizmanın total genetik ifadesini temsil eder. Transkriptom ise transkripsiyona uğrayan birimlerin kümülatif bir söylevidir (105–107).

Transkripsiyon ve translasyon işlemlerinin tamamı gen ifadesi (gen ekspresyonu) olarak tanımlanır. Genomik DNA'dan transkripsiyona uğrayan genlerin tamamına transkriptom veya gen ekspresyon profili adı verilmektedir. Bir hücrenin fenotipi ve fonksiyonu transkriptomu tarafından belirlenir. Genom hücreden hücreye sabit olmasına karşın gen ekspresyon profili hücrenin içinde bulunduğu koşullara göre hızla değişebilen bir yapıdadır.

Çeşitli koşullarda genlerin ekspresyon düzeylerindeki değişimler takip edilerek bu genlerin kodladığı proteinlerin işlevleri hakkında önemli ipuçları elde edilebilir (108).

Transkriptomikte mikrodizin veya DNA çipleri ile hücredeki tüm mRNA transkriptleri incelenebilmektedir. Mikrodizin; DNA'ların çipler, lam veya naylon membran üzerinde hibridizasyonla genlerin ifade düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan yöntemdir. Mikrodizinler naylon membran veya cam üzerinde sentezlenen cDNA mikrodizinleri ve cam üzerinde sentezlenen oligonükleotid dizinleri (DNA çipleri) olmak üzere sınıflandırılmıştır. Ayrıca mikrodizin, farklı koşullarda ve uyarımlarda gen ifadelerinin karşılaştırılmasında kullanılabilir. Transkripsiyonu beraber düzenlenen, birbirleriyle fonksiyonel olarak ilişkili ve sinyal yollarında işlev gören genler mikrodizin aracılığıyla tanımlanabilir, tümörler sınıflandırılabilir. Proteomik proteinlerin yapılarını, yerleşimlerini, miktarlarını, translasyon sonrası modifikasyonlarını, doku ve hücrelerdeki işlevlerini, diğer proteinlerle ve makromoleküllerle olan etkileşimini aydınlatır (105,109).

a. RNA:

Tek zincirli bir polinükleotid olan RNA, DNA'dan farklı olarak riboz şeker içerir ve DNA'daki timin bazı yerine urasil içerir. Transkripsiyonla bilgiler DNA'dan RNA'ya aktarılır. Genlerin büyük kısmı proteinleri kodlarken az bir kısım gen ise transle olmayan işlevsel RNA'ları kodlar. Genin nükleotid dizilimi bir proteindeki aminoasitlerin sırasını belirler. Bu dizilim proteinin şeklini, boyutunu ve işlevini belirler (110–112).

RNA çeşitleri ve işlevleri;

- mRNA: Protein kodlanması olgunlaşmış mRNA moleküllerinin 5' ve 3' uçları işlevsel önem taşır.
- tRNA: Aminoasitleri ribozoma taşır.
- rRNA: Ribozomların yapısal ve katalitik bileşenleridir.
- snRNA: “*Spliceosome*”un yapısal ve katalitik bileşenleridir.
- snoRNA: Küçük nükleolar RNA rRNA olgunlaşmasına katılır.
- scRNA: Sitoplazmadaki protein trafiğini yönlendirir.
- siRNA: *Small interfering* RNA gen ifadesinin kontrolünde rol alır (104,110,111,112).

b. DNA ve RNA analiz yöntemleri:

DNA'nın sabit ortama aktarımı Southern Blot ile DNA örneği agar jelde elektroforetik olarak ayrılır ve nitrosellüloz bir kâğıt üzerine kapiller etki ile aktarılır. DNA, ısı veya ultraviyole ışınları uygulanarak nitro-sellüloza bağlanır. Sonra bilinen radyoaktif DNA problemleri ile hibridize edilir. Daha sonra da otoradyografi uygulanarak cDNA'nın pozisyonu saptanır. Standart nükleik asitler paralelde hareket eder ki böylece DNA bantlarının büyüklüğü ve uzunluğu saptanabilir (113).

c. mRNA Analiz Yöntemleri:

mRNA analiz yönteminin başlıcaları; Northern Blot (Tek gen analizi), RT-PCR (Tek gen analizi) ve Mikroarray (Genom boyunca analiz) yöntemleridir.

d. Kanserde mRNA (transkriptom) analizi:

Klasik moleküler belirteçler kanser türlerinin doğru sınıflandırılmasında yetersiz kalmaktadır. Kanser biyolojisini tam olarak açıklamak ve progresyon şeklinin tahmini net olarak ortaya konulması her zaman mümkün değildir. Çeşitli koşullarda genlerin ekspresyon düzeylerindeki değişimler takip edilerek bu genlerin kodladığı proteinlerin işlevleri hakkında önemli ipuçları elde edilebilir. Ayrıca hastalığa yatkınlığın belirlenmesi ve gerekli önlemlerin alınabilmesine olanak sağlayabileceği de unutulmamalıdır (105).

Bu hem tanı metodlarında hem de tedavi modalitelerinde kolaylık sağlayabileceği gibi, yeni tedavi aşamalarının gelişmesine de olanak sağlayabilir.

e. Meme Kanserinde Transkriptom Analizi:

Gelişen teknolojiyle birlikte meme kanserinde de etiyolojiyi aydınlatmak ve etkin tedavi metodlarını ortaya koyabilmek için mRNA analizleri araştırmalarda yerini almaya başlamıştır. Meme kanserinde östrojen reseptörü ve Plexin B1 arasındaki ilişkiyi saptamak amacıyla yaptıkları çalışmada mikroarray yöntemini kullanmışlardır (114,115). Fournier ve Martin ise transkriptom profillerinin meme kanserinde tanı ve tedavi için yeni bir güç olabileceğini ve yeni aday tedavi metodlarının belirlenmesinde hedef olacağını bildirmişlerdir (116). Gelecekte ümit vaat ettiği belirtilen bu teknoloji şimdiden sonuç vermeye başlamıştır. Mesela tamoksifen tedavisinde ER varlığının pozitif etki oluşturduğu bilinse de, ER (+) vakalarda tamoksifen tedavisinin etkisiz olduğu veya tedaviye direnç geliştiği gösterilmiştir. Direnç gelişimini saptamak için, transkriptom analizi ile elde edilen

spektrofotometrik ölçümlerin karşılaştırılmasının fayda sağlayabileceği düşünülmektedir. (114–117).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Ocak 2009 ve Eylül 2009 tarihleri arasında Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı ve Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Genetik Anabilim Dalı'nın işbirliği ile yapılmıştır. Çalışma, ayrıca Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından da onaylanmıştır (Onay No: 2008–10/1).

Çalışma popülasyonu cerrahi ve sonrasında kemoterapi ile tedavi edilmiş olup, radyoterapi için kliniğimize başvuran 30 meme kanserli hasta (aile öyküsü olmayan sporadik vakalar), bu hastaların 30 kişilik birinci derece yakınları (kız kardeş veya kız çocukları) ve 30 kişilik sağlıklı, aile öyküsü negatif olan bireylerden oluşmaktadır. Bilgilendirilmiş olur formu dolduran ve çalışmaya katılmayı kabul eden hastalardan 1 ml etilen diamino tetra asetik asit (EDTA) içeren tüplere kan alınarak bu kanlar, soğutucuda -20°C'de muhafaza edildi. Hasta grubun evrelendirilmesi; patoloji raporu, ameliyat raporundaki veriler ve AJCC 2003 TNM evreleme sistemine göre değerlendirilerek yapıldı.

Çalışma grubu meme kanserli hastalar, bu hastaların yakınları ve sağlıklı bireyler olarak 3 ayrı grupta değerlendirildi. Bu gruplara ait kanlar genomik total mRNA izolasyonu için kullanıldı. Kanlar uygun primerlerin bulunduğu vortekslenmiş eppendorf tüplere konularak, PCR yöntemiyle amplifiye edildi. Daha sonra, revers transkriptaz ile elde edilen cDNA sayılarına bakıldı.

3.1. mRNA Yalıtılması

Multipleks tandem PCR tekniği; biyolojik materyalden ardıl birden fazla PCR tekniğinin birlikte kullanılarak analizine olanak veren amplifikasyon yöntemidir. Araştırmada her bir hasta ve kontrol bireylere ait periferik doku transkriptom panelinin analizi yapıldı. Bunun için ardıl olarak; Revers transkriptaz-PCR ve Real-

Time PCR teknikleri kullanıldı. Total mRNA analizi için periferik kan dokusu kullanıldı.

Hasta ve kontrol bireylerden 5 mililitre (ml) periferik kan dokusu EDTA'lı ortama alınarak total mRNA izolasyonlarında kullanıldı. İzolasyonda kullanılan filtrelere uygun miktarda lökosit kullanılmak üzere her bir hastanın hemogram profilleri elde edildi ve bu bilgiler doğrultusunda uygun miktarda kan örnekleri (50 µl–1.5 ml) izolasyonda kullanıldı.

15 ml'lik falkon tüplerine 200 mikrolitre (µl) kan alındı. Alınan kanın hacminin 5 katı kadar Buffer EL (Eritrosit lizis tamponu) eklendi. 200 µl'lik örnek için 1000 µl Buffer EL eklendi. Manüel olarak homojenize olması sağlandı. 15 dakika (dk) buzda bekletilme süresince birkaç kez çalkalanarak homojenize edildi. 1200 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant kısım tamamen atıldı. Başlangıçta alınan kan miktarının 2 katı kadar yani 400 µl Buffer EL katıldı ve hafifçe çalkalanarak homojenize edildi (pembe renk varsa 5–10 dk buzda bekletilir). 1200 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Süpernatant kısım pipetle alınarak tamamen atıldı. Ortama 350 µl retikülosit lizis tamponu (RLT) eklendi. Tüp içindeki bütün solüsyon pipetle alınarak 2 ml'lik ependorf tüpe aktarıldı. Çok yavaş bir şekilde pipetaj yapılarak tam homojenizasyon sağlandı. Bu lizat tamamen sıvılaşıncaya kadar pipetaja devam edildi. Tamamen homojenizasyon sağlandıktan sonra lila renkli kolona (Qiagen) yükleme yapıldı. 13000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi ve lila kolonlar atıldı. Koyulan Buffer RLT kadar aynı miktarda %70'lik etanol koyuldu ve pipetaj yapıldı. Homojenat daha sonra beyaz kolona yüklendi, 12000 rpm'de 15 saniye santrifüj edildi ve kolonlar alınarak yeni 2 ml'lik ependorf tüp üzerine yerleştirildi.

12000 rpm'de 15 saniye santrifüj edildi ve kolonlar alınarak 2 ml'lik ependorf tüp üzerine kondu. Kolon üzerine 500 µl yıkama tamponu (RPE) eklendi. 12000 rpm'de 15 saniye santrifüj edildi ve yeni 2 ml'lik ependorf tüpün üzerine yerleştirildi. Tekrar 500 µl RPE eklendi. 14000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi. 14000 rpm'de bir dakika santrifüj edildi. Kolon saklama tüpüne alındı. Üzerine 30 µl RNA ve free-H₂O eklendi (30–50 µl arası olmalıdır). 10000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi, kolonlar atıldı. Elde edilen total RNA'lar ivedilikle –20 °C' ye alınarak saklandı.

Hasta sayısı kadar küçük ependorf tüpü alındı, üzerine hasta numaraları yazıldı. Çalışma +4°C’de saklanan soğuk blok üzerinde yapıldı. Başka bir tüpe taq enzimi ve 8 µl distile su eklendi ve pipetaj yapıldı. Her hasta tüpüne 3 µl bidistile su, 8 µl hasta RNA’sı ve 8 µl STEP 1 MASTER MIX eklendi. Hazırladığımız enzim karışımının içine de 1 µl revers transkriptaz enzimi kondu. Hazırlanan bu enzim karışımından her tüpe 1 µl kondu. Tüpler Real-time PCR’a yerleştirildi (Corbett, RG-6000) ve 95 °C’de 37 dakika ve toplam 20 siklus amplifikasyon yapıldı.

Her bir hasta için toplam 36 olmak üzere aynı diske 2 hasta bireye ait toplam 72 gen ürünleri analiz edilmek üzere Real-time PCR yapıldı. Her hasta için 1 tane ependorf tüpü alındı, tüpler etiketlendikten sonra toplam hacim 20 µl olacak şekilde tüplere 275 µl Step Master Miks 2,18 µl Taq polimeraz (Thermus Aquaticus polimeraz), 10 µl cDNA ve 347 µl bidistile su eklendi. Tüpler vortekslenildi, real – time amplifikasyonları için uygun primerlerin bulunduğu 36 adet 0,5 ml ependorf tüplere 20 µl olacak şekilde dağıtıldı. Toplam 35 siklustan ibaret amplifikasyon koşulları aşağıdaki gibi yapıldı:

95 C° de 1 dakika bekletildikten sonra,

Birinci basamak, 95 C° de 1 saniye

72-90 C° 5 saniye

İkinci basamak, 60 C° de 10 saniye

72-90 C° 5 saniye

Üçüncü basamak, 72 C° de 10 saniye

72-90 C° 5 saniye

Hedef genlere ait mRNA miktarları öncelikle RT-PCR ile cDNA dönüştürüldü ve daha sonra ardıl real – time PCR ile amplifiye edilen cDNA ürünleri (Corbett, RG-6000) spektrofotometrik analiz ile sayıldı.

3.2. Değerlendirme – İstatistikî analiz

Çalışmamızın verileri SPSS (Statistical Package for The Social Sciences) versiyon 14.0 programına yüklendi. Normal dağılım parametlerine bakıldıktan sonra analiz için uygun olan Varyans Analizi, Tukey Testi, Kruskal-Wallis Testi, Man-Whitney U testi, Ki-kare testi gibi testler kullanılarak gruplar arasında fark olup olmadığı değerlendirildi. Veriler tablolarda aritmetik ortalama ± standart sapma

şeklinde belirtilip, yanılma düzeyi 0.05 olarak alındı. İstatistiksel olarak $P < 0.05$ sonucu anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmanın bulgular kısmı örnekleme oluşturan 30 kişilik hasta grubunun özellikleri ve incelenen genlerin transkriptom profillerinin analiz sonuçlarından oluşmuştur. Bu çalışma ile hasta ve kontrol grubu için ilgili genlerin ekspresyon düzeyi tespit edilmiştir. Ölçüm sonuçları için yapılan değerlendirmeler, tablolar, grafikler ve yorumlarla bu bölümde işlenmiştir.

4.1. Yaş-cinsiyet

Çalışmada yer alan hasta grubundaki kadınların yaş ortalamaları 52.8 ± 10.6 'dir. Hasta yakını grubundaki kadınların yaş ortalamaları 32.9 ± 10.9 , kontrol grubundaki kadınların yaş ortalamaları ise 34.7 ± 11.0 'dir. Yaş yönünden gruplar arası farklılık önemlidir ($p=0.001$ $p<0.05$). Kontrol ve birinci derece akraba grubundaki kadınlar arası yaş farkı yoktur. Çalışmanın öncelikli amacı birinci derece hasta yakınlarını araştırmak olduğu için hasta ve hasta yakını grupları arasındaki yaş farkı anlamlı olmakla birlikte, farklılık önemsiz kabul edildi.

4.2. Histopatoloji

Tablo 4.1. Hastaların patolojik tiplere göre dağılımı

Patolojik tip	Hasta sayısı	%
İnvaziv duktal	25	83.3
Mikst	4	13
Meduller	1	3.7
Toplam	30	100

Tablo 4.1’de hasta grubundaki kadınların 25’inin (%83,3) patolojisi invaziv duktal karsinom, 4’ünün (%13,0) patolojisi mikst ve sadece 1’nin (%3,3) medüller karsinom olduğu görülmektedir.

4.3. Lokalizasyon

Tablo 4.2. Hastaların tümör lokalizasyonuna göre dağılımı

Lokalizasyon	Hasta sayısı	%
Sağ meme	16	53.3
Sol meme	14	46.7
Toplam	30	100

Tablo 4.2’de hasta grubunun lokalizasyon durumu incelenirse, tümör 16 kadında (%53,3) sağ meme ve 14 kadında (%46,7) sol meme yerleşimlidir.

4.4. Evre

Tablo 4.3. Hastaların evrelere göre dağılımı

Evre	Hasta Sayısı	%
Evre II	15	50
Evre III	15	50
Toplam	30	100

Tablo 4.3 ile hasta grubunun evrelere dağılımına bakıldığında 15 hastanın Evre II ve 15 hastanın da Evre III olduğu görülmektedir.

4.5. Hormon reseptör durumu

Tablo 4.4. Hastaların östrojen ve progesteron reseptör durumuna göre dağılımı

Hormon reseptör	Hasta sayısı	%
Pozitif	19	63.3
Negatif	11	36.7
Toplam	30	100

Tablo 4.4.'de hormon reseptör durumları hasta grubundaki kadınların 19'unda (%63,3) pozitif iken, 11 kadında (%36,7) reseptör negatiftir.

4.6. Patolojik olarak c-erbB-2 durumu

Tablo 4.5. Hastaların patolojik olarak c-erbB-2 durumu

c-erbB-2	Hasta sayısı	%
Pozitif	13	43.3
Negatif	17	56.7
Toplam	30	100

Tablo 4.5.'de c-erbB-2 durumunun hasta grubundaki kadınların 13'ünde (%43,3) pozitif iken, 17'sinde (%56,7) negatif olduğu görülmektedir.

4.7. Menopoz durumu

Grupların değerlendirilebilen tek ortak parametresi menopoz durumudur.

Tablo 4.6. Hasta sayılarının menopoz durumuna göre dağılımı

Gruplar ve Menopoz		Menopoz		Toplam
		Premenopozal	Postmenopozal	
Hasta	n	12	18	30
	%	40,0	60,0	100,0
Hasta yakını	n	28	2	30
	%	93,3	6,7	100,0
Kontrol	n	27	3	30
	%	90,0	10,0	100,0
Toplam	n	67	23	90
	%	74,4	25,6	100,0

Tablo 4.6. incelendiğinde hasta grubundaki bireylerin büyük bölümünün (%60) postmenopozal iken, kontrol grubundaki kadınların ancak %10'unun postmenopozal olduğu görülmektedir.

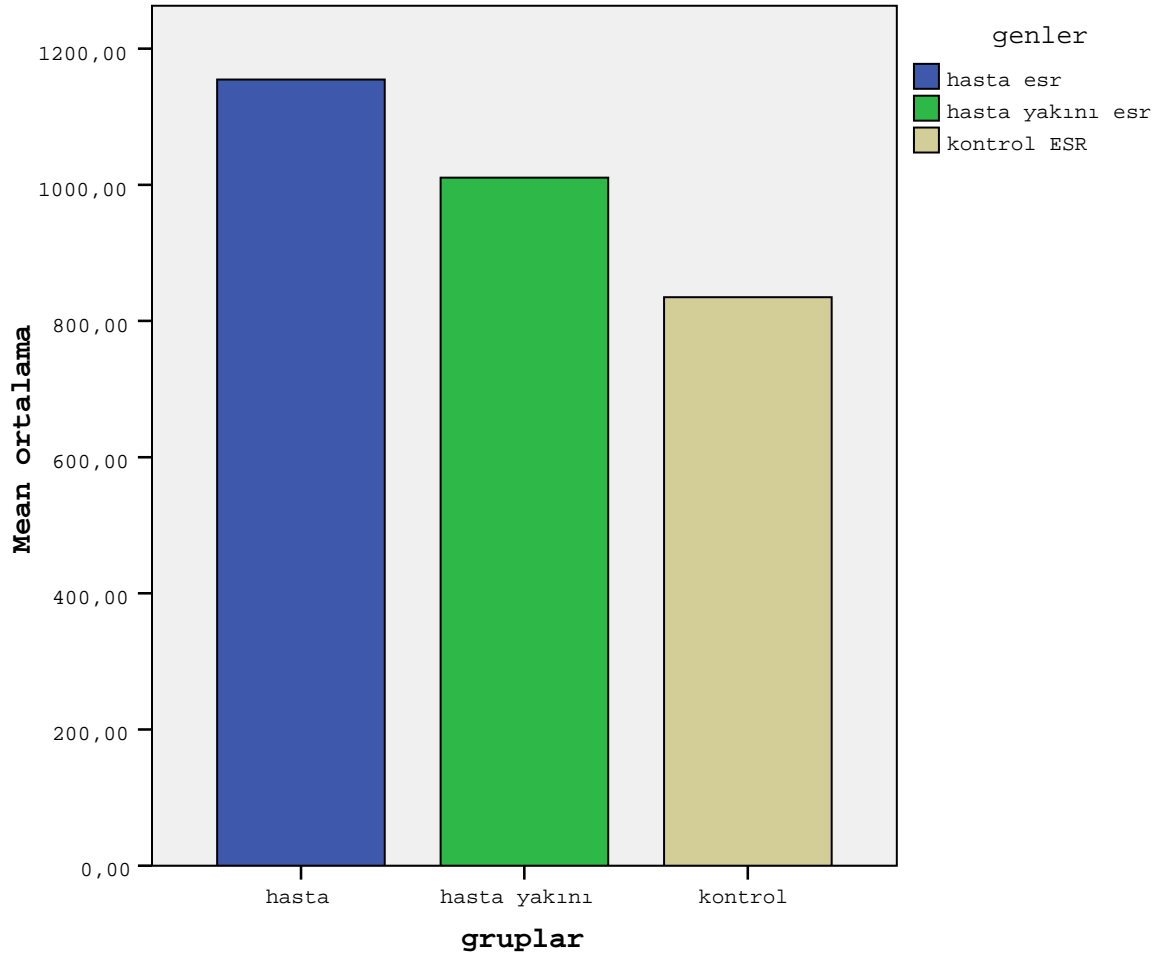
4.8. Transkriptom profillerinin ölçülen değerlerinin dağılımları

Her 3 gruptaki bireylerin ölçülen transkriptom profillerinin dağılımları incelendiğinde ölçümler arası değişimler büyük olduğundan yaygınlık ölçüleri de büyük çıkmıştır. Her grupta ölçülen değerler heterojenlik göstermiştir.

Tablo 4.7. İlgili genlerin transkriptom profillerinin gruplara göre istatistiksel dağılımı

Genler	Hasta X±ss	Hasta yakını X±ss	Kontrol X±ss	Sonuç
ER	1154,6±1000,6	1010,5±813,9	835,0±880,4	KW=10,27 P=0,006
c-erbB-2	149,5±184,7	1,0± -	4,0± -	P=0,186
VEGF	319,1±754,3	135,0±246,4	519,2±901,3	KW=4,16 P=0,099
GATA-3	165,3±632,4	16,1±31,5	12,2±37,9	KW=1,89 P=0,388
GRB-7	689,4±889,1	6,0± -	48,2±33,7	P=0,086
EGFR	673,8±986,2	7,0± -	31,0±21,7	P=0,100
P53	39,0±49,7	49,0±58,3	55,2±74,7	KW=0,39 P=0,819
MYC	129,5±159,4	96,3±96,3	229,1±360,8	KW=5,43 P=0,064
BCL-2	1460,0±903,7	1157,4±869,3	1520,7±1295,9	KW=1,93 P=0,381

ER: Östrojen reseptörü; VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü; GRB-7: Büyüme faktörü reseptörüne bağlı protein-7; EGFR: Epitelial Büyüme Faktörü Reseptörü.

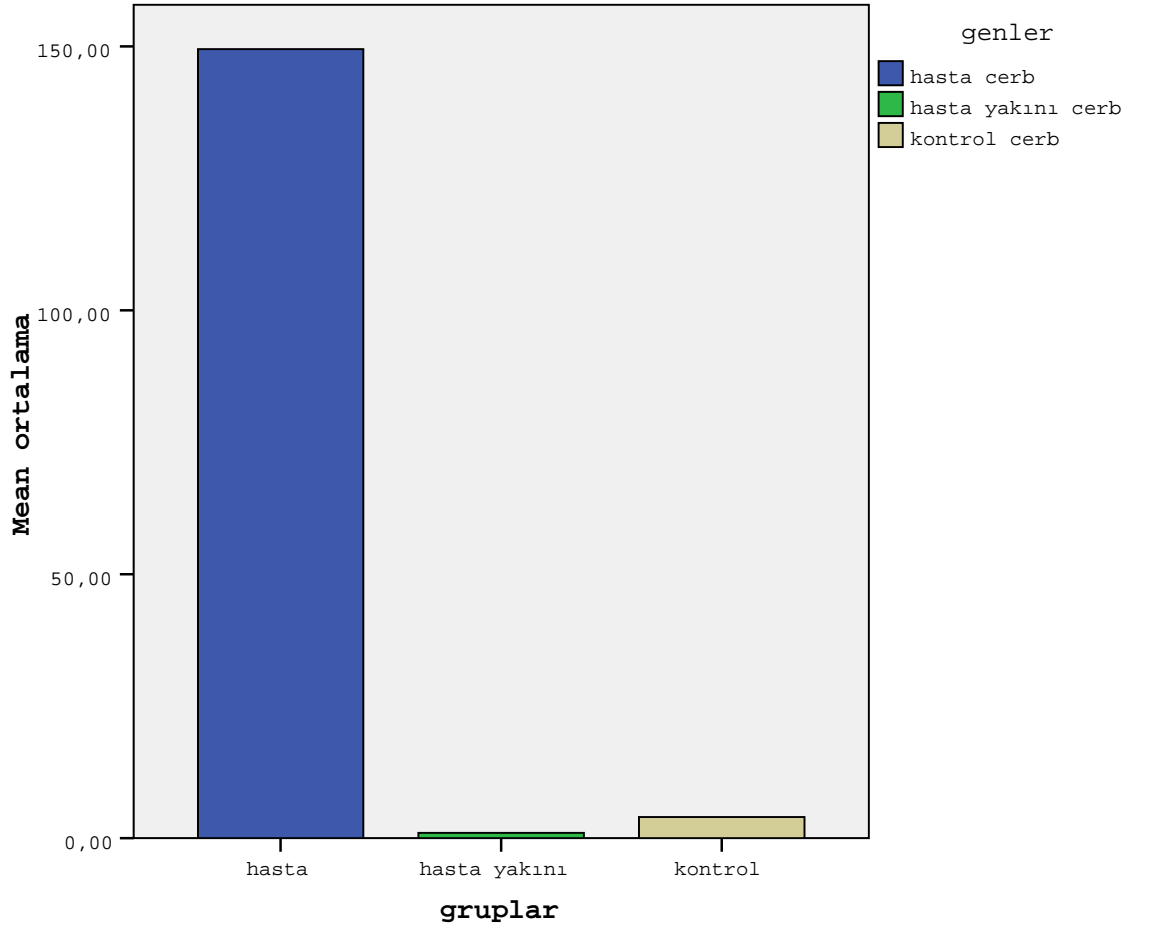


Şekil 4.1. Gruplara göre ER (Östrojen Reseptör) dağılımı

Tablo 4.7. ve Şekil 4.1'de her 3 gruptaki ölçümler karşılaştırıldığında ER yönünden gruplar arası farklılığın önemli olduğu anlaşılmaktadır ($p=0.006$, $p<0.05$).

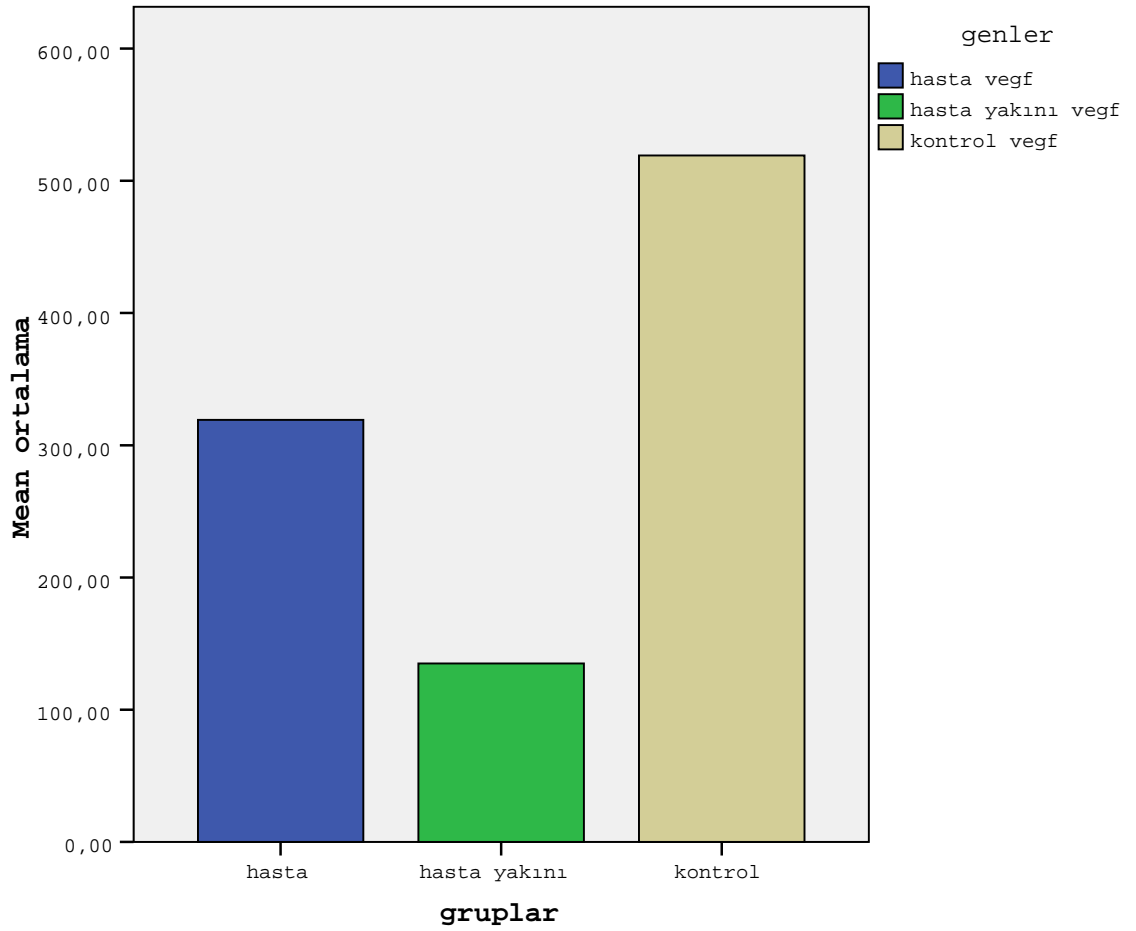
Hasta grubundaki ölçülen en yüksek ER değeri 5680 iken, en düşük değer 0 olarak izlendi. Bu değer hasta yakını grubunda en yüksek 4667, en düşük 0 olarak bulunurken, kontrol grubunda ise en yüksek 4976, en düşük 0 olarak saptandı.

Gruplara ait değerler ikişerli karşılaştırıldığında ise hasta ile kontrol, kontrol ile hasta yakını arasında fark bulunurken ($p<0.05$), hasta ile hasta yakını arasında fark olmadığı görülmektedir ($p>0.05$).



Şekil 4.2. Gruplara göre c-erbB-2 dağılımı

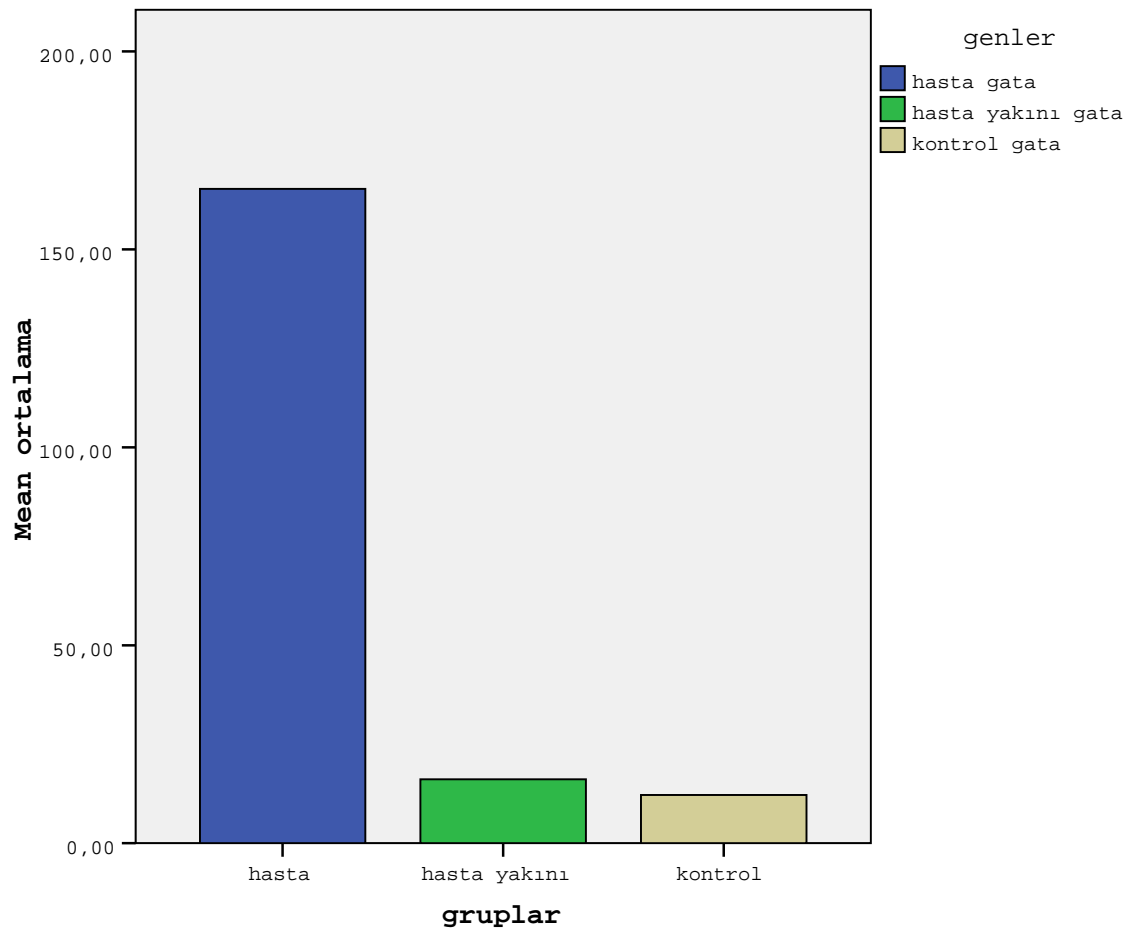
Tablo 4.7. ve Şekil 4.2’de ise gruplara göre c-erbB-2 (Her2/Neu) gen ekspresyon değerlerine bakıldığında; hasta grubunun transkriptom profilinin oldukça yüksek; hasta yakını ve kontrol grubunda ise bu genin eksprese olan kişi sayısının azlığı ve gruplardaki heterojenite sebebiyle gruplar arası farklılıklarının düşük ya da önemsiz seviyede olduğu görülmektedir ($p=0.186$, $p>0.05$). Hasta grubundaki ölçülen en yüksek c-erbB-2 değeri 382 iken, en düşük değer 0 olarak izlendi. Bu değer hasta yakını grubunda en yüksek 1, en düşük 0 olarak bulunurken, kontrol grubunda ise en yüksek 4, en düşük 0 olarak saptandı.



Şekil 4.3. Gruplara göre VEGF dağılımı

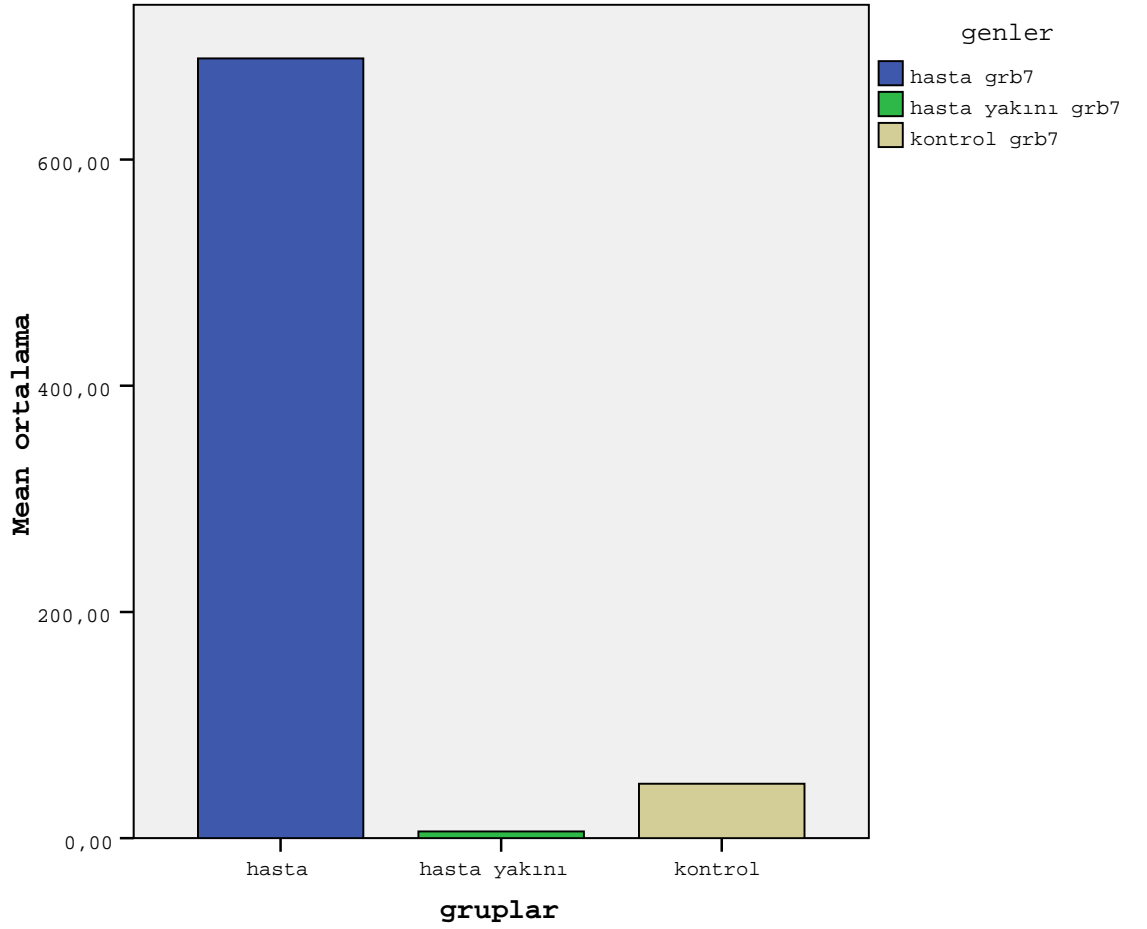
Tablo 4.7. ve Şekil 4.3.'de her üç gruptaki VEGF ölçümleri gruplar arasında farklılık göstermemektedir ($p=0.099$, $p>0.05$).

Hasta grubundaki ölçülen en yüksek VEGF değeri 1567 iken, en düşük değer 0 olarak izlendi. Bu değer hasta yakını grubunda en yüksek 1293, en düşük 0 olarak bulunurken, kontrol grubunda ise en yüksek 2793, en düşük 0 olarak saptandı.



Şekil 4.4. Gruplara göre GATA-3 dağılımı

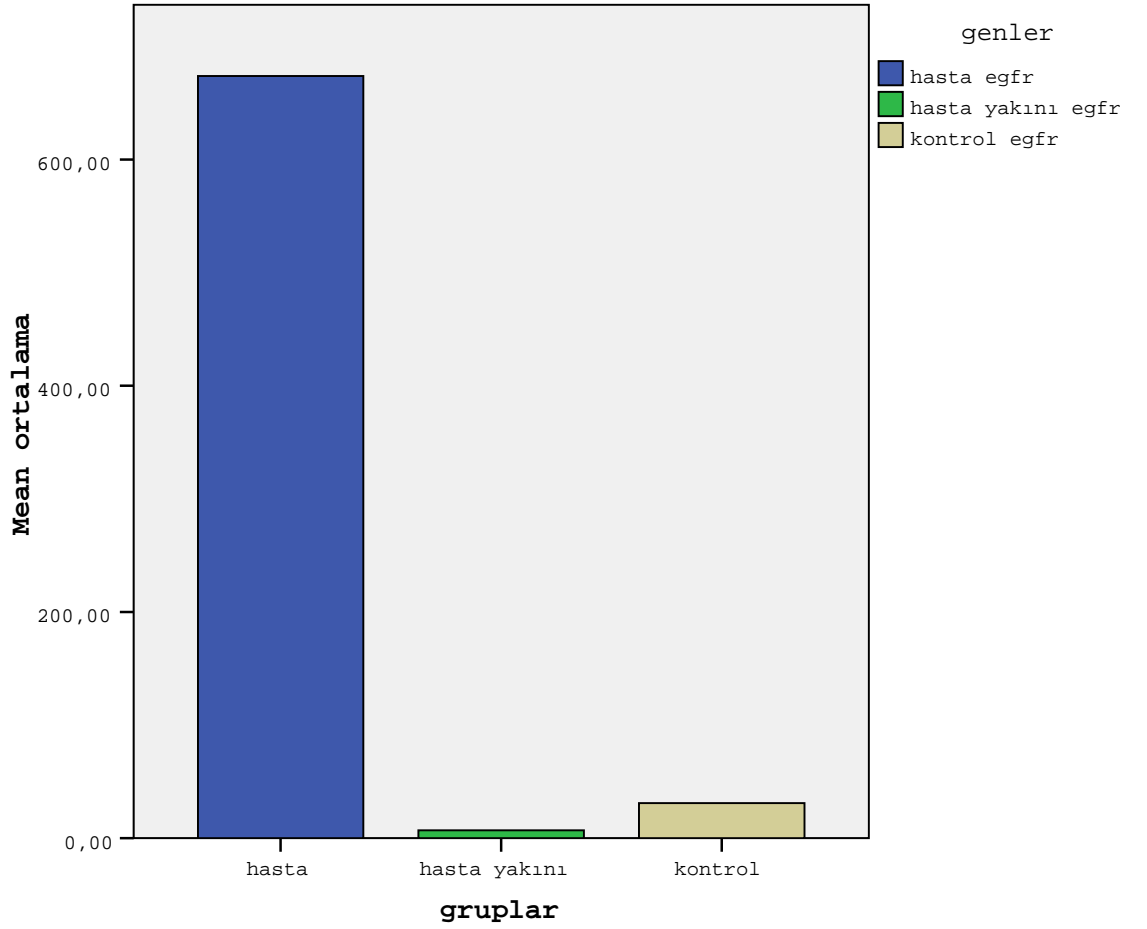
Tablo 4.7. ve Şekil 4.4 incelendiğinde GATA-3 geni ekspresyon düzeyinin hasta grubunda oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Bu değeri hasta yakını grubunun ortalaması takip ederken, en az ekspresyonun kontrol grubunda olduğu gözlemlenmiştir. Ancak istatistikî yönden anlamlı fark bulunamamıştır ($p=0.388$, $p>0.05$). Hasta grubundaki ölçülen en yüksek GATA değeri 2619 iken, en düşük değer 0 olarak izlendi. Bu değer hasta yakını grubunda en yüksek 146, en düşük 0 olarak bulunurken, kontrol grubunda ise en yüksek 177, en düşük 0 olarak saptandı.



Şekil 4.5. Gruplara göre GRB-7 dağılımı

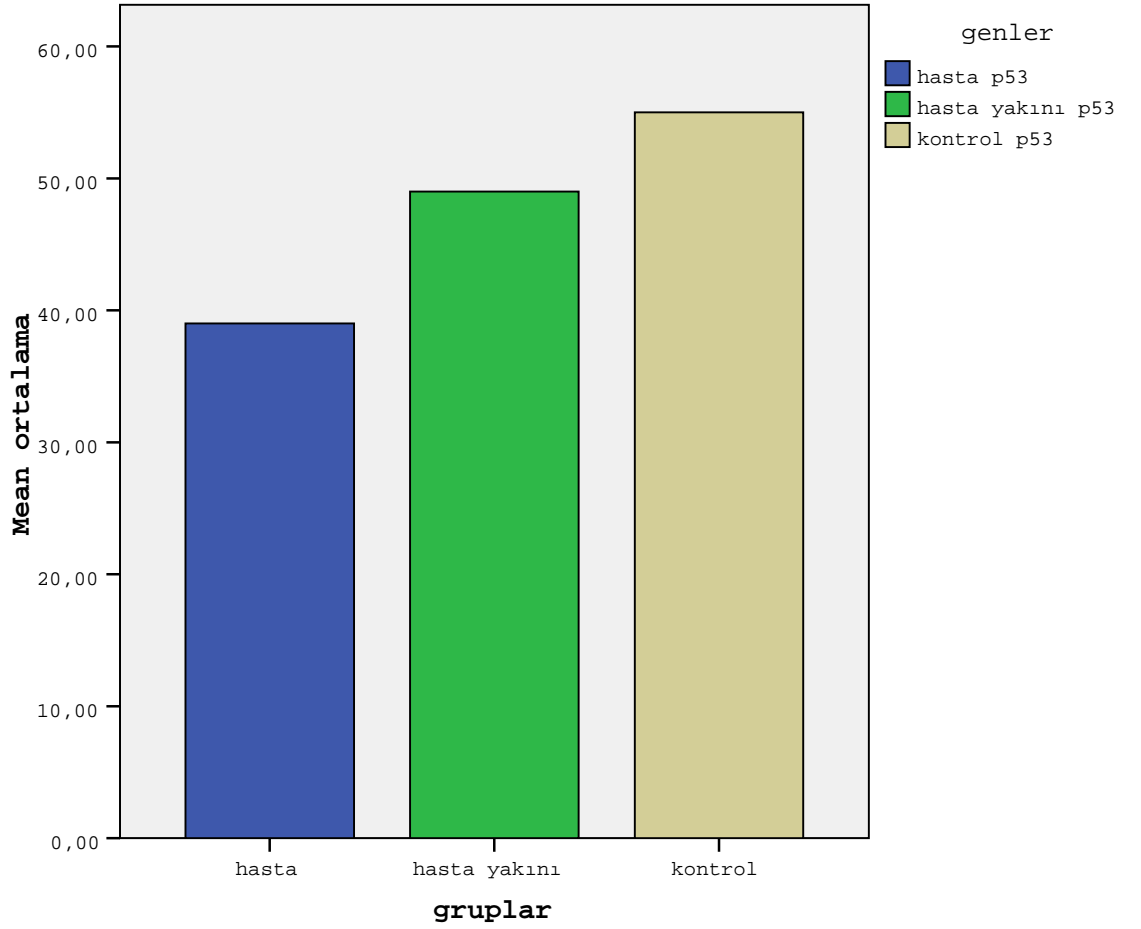
Tablo 4.7. ve Şekil 4.5.'de ise GRB-7 geni ekspresyon düzeyinin hasta grubunda oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Bu değeri kontrol grubunun ortalaması takip ederken, en az ekspresyon hasta yakını grubunda gözlenmiştir. Ancak istatistikî yönden bu gruplar arasında anlamlı fark bulunamamıştır ($p=0.086$, $p>0.05$).

Hasta grubundaki ölçülen en yüksek GRB-7 değeri 2619 iken en düşük değer 0 olarak izlendi. Bu değer hasta yakını grubunda en yüksek 6, en düşük 0 olarak bulunurken, kontrol grubunda ise en yüksek 106, en düşük 0 olarak saptandı.



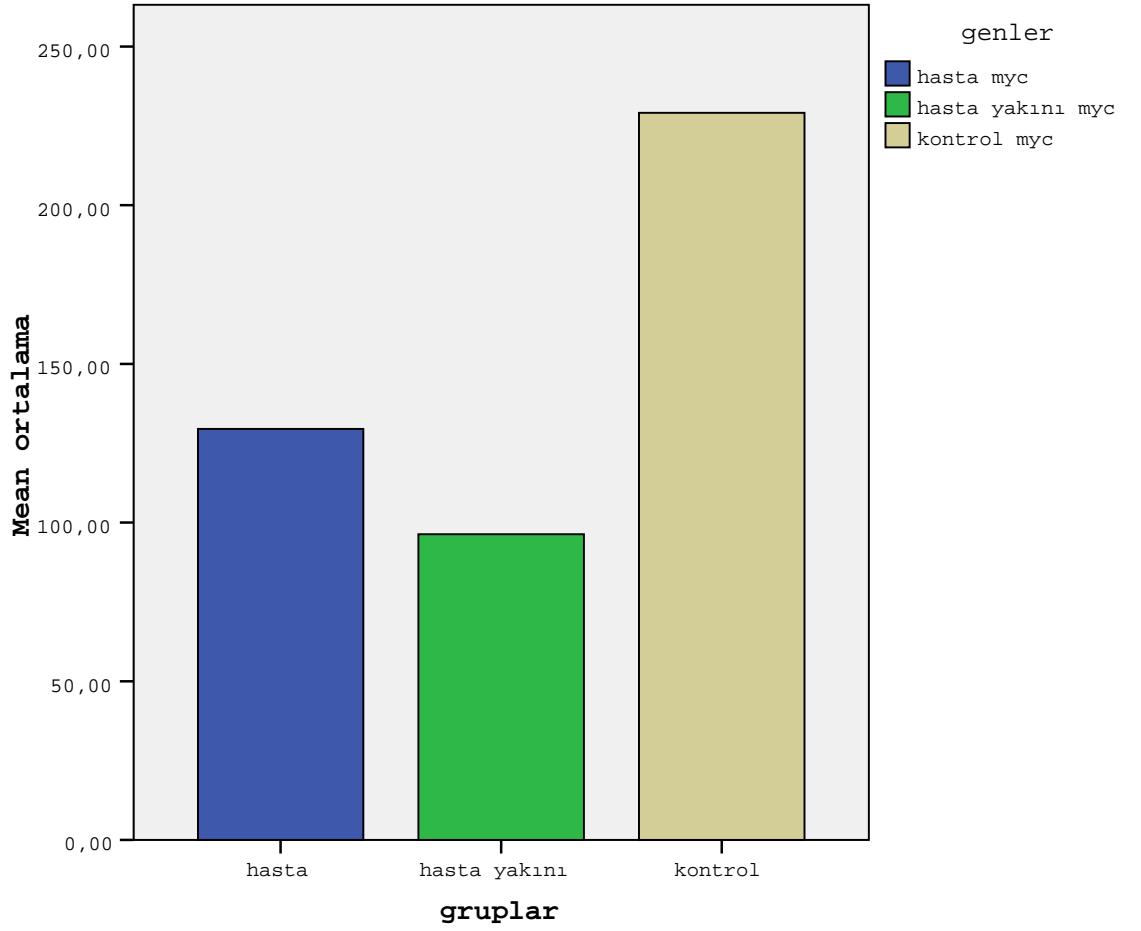
Şekil 4.6. Gruplara göre EGFR dağılımı

Tablo 4.7. ve Şekil 4.6. incelenirse EGFR geni ekspresyon düzeyinin hasta grubunda oldukça yüksek olduğu görülür. Bu değeri kontrol grubunun ortalaması takip ederken, en az ekspresyonun hasta yakını grubunda olduğu gözlemlenmiştir. Ancak istatistikî yönden aralarında anlamlı fark bulunamamıştır ($p=0.100$, $p>0.05$). Hasta grubundaki ölçülen en yüksek EGFR değeri 2619 iken, en düşük değer 0 olarak izlendi. Bu değer hasta yakını grubunda en yüksek 7, en düşük 0 olarak bulunurken, kontrol grubunda ise en yüksek 59, en düşük 0 olarak saptandı.



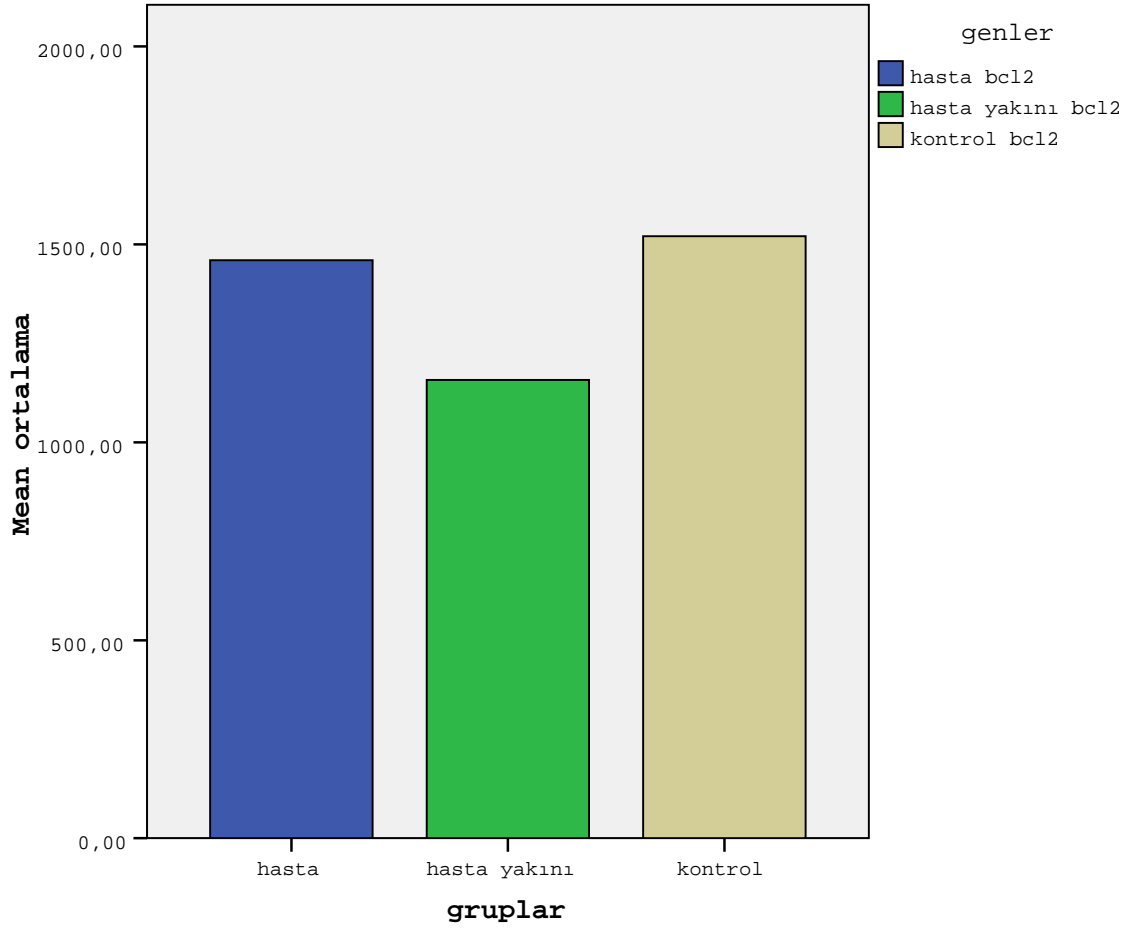
Şekil 4.7. Gruplara göre p53 dağılımı

Tablo 4.7. ve Şekil 4.7.'de gruplara göre p53 değerine bakılacak olursa gruplar arasındaki farklılıkların önemsiz olduğu rahatlıkla görülebilir ($p=0.819$, $p>0.05$). Ancak p53 geni kontrol grubunda beklenildiği gibi overekspresedir. Çünkü p53 tümör süpressör genidir. Bu nedenle hasta grubunda ekspresyon seviyesinde düşme gözlenmiştir. Hasta grubundaki ölçülen en yüksek p53 değeri 137 iken, en düşük değer 0 olarak izlendi. Bu değer hasta yakını grubunda en yüksek 256, en düşük 0 olarak bulunurken, kontrol grubunda ise en yüksek 277, en düşük 0 olarak saptandı.



Şekil 4.8. Gruplara göre MYC dağılımı

Tablo 4.7. ve Şekil 4.8.'de her üç gruptaki ölçümler karşılaştırıldığında da gruplar arası farklılıkların önemsiz oldukları tespit edilmiştir ($p=0.064$, $p>0.05$). Hasta grubundaki ölçülen en yüksek MYC değeri 726 iken, en düşük değer 0 olarak izlendi. Bu değer hasta yakını grubunda en yüksek 315, en düşük 0 olarak bulunurken, kontrol grubunda ise en yüksek 2026, en düşük 0 olarak saptandı.



Şekil 4.9. Gruplara göre BCL-2 dağılımı

Tablo 4.7. ve Şekil 4.9. ise hasta ve kontrol grubundaki BCL-2 ölçümlerinin birbirine yakın olduğu ve gruplar arasında istatistiksel bir farklılık olmadığı görülmüştür ($p=0.381$, $p>0.05$). Hasta grubundaki ölçülen en yüksek BCL-2 değeri 3386 iken, en düşük değer 0 olarak izlendi. Bu değer hasta yakını grubunda en yüksek 4976, en düşük 0 olarak bulunurken, kontrol grubunda ise en yüksek 4976, en düşük 0 olarak saptandı.

5.TARTIŞMA

Meme kanseri, epigenetik ve genetik değişikliklerin progresif birikimi ile oluşan, kalıtsal ve çevresel risk faktörlerinin etkili olduğu heterojen bir hastalıktır (119). Meme kanserine bağlı denetimsiz hücre çoğalması genellikle genomik instabilite belirtileri ve belirli epitelyal özelliklerin ortadan kalkması gibi değişiklikler sergiler. Bu yüzden kanser gelişimine neden olan moleküler mekanizmaların bilinmesi ve buna en uygun tedavi yöntemlerinin belirlenmesi önem taşır. Meme kanseri araştırmalarının genel amacı, prognostik ve prediktif değişiklikleri belirlemektir (103).

Bağımlı ve bağımsız risk faktörlerinin çeşitli derecelerde etkin olduğu bu hastalık için yaş en önemli bağımsız risk faktörüdür. Diğer önemli bağımsız risk faktörlerinden biri de aile hikâyesidir. Meme kanserinin insidansı yaşla birlikte artmaktadır. İnsidans eğrisi menopoza kadar her 10 yılda iki kat artarak dik bir şekilde yükselmektedir. Hastalık 50 yaşında plato yapar ve daha sonra tekrar dik bir şekilde yükselir. Bu eğri önemli ölçüde over aktivitesinden etkilenmektedir. Meme kanserine postmenopozal dönemde daha sık rastlanır (103,120). Çalışmamıza katılan meme kanserli olguların yaş ortalaması 52.83 ± 10.57 iken, bu olguların birinci derece yakınlarının yaş ortalaması 32.93 ± 10.88 olarak saptandı. Ayrıca kontrol grubundaki bireylerin yaş ortalamaları ise 34.70 ± 11.02 idi. Yaş yönünden hasta ve kontrol grupları arası farklılık önemli bulundu ($p=0.001$ $p<0.05$). Kontrol ve birinci derece akraba grubundaki kadınlar arası yaş farkı yoktu. Çalışmanın öncelikli amacı birinci derece hasta yakınlarını araştırmak olduğu için hasta ve hasta yakını grupları arasındaki farklılık önem arz etmemektedir. Hasta grubunda 12 (%40) premenopozal, 18 (%60) postmenopozal olgu mevcut iken, hasta yakınlarından 28'i (%93,3) premenopozal, 2 olgu (%6,7) postmenopozal grupta idi. Kontrol grubunda ise 27 (%90) premenopozal, 3 postmenopozal (%10) birey mevcuttu. Risk faktörlerinin minimal düzeye indirilerek eşlik eden diğer faktörlerin arındırılması ve genotipik

incelemenin daha net yapılabilmesi için daha önce aile öyküsü bulunmayan meme kanserli olgular ve bu olguların yaşça daha genç sayılabilecek birinci derece aile yakınları çalışmaya dâhil edildi.

Meme kanseri tedavisinde kullanılan prognostik faktörlerden biri de tümörün histolojik tipidir. Meme kanseri histolojik olarak invaziv ve in situ karsinom olarak ikiye ayrılır. İnvaziv karsinomun en sık histolojik subtipi invaziv duktal (%75–80) karsinomlardır. Diğer subtipler sırasıyla invaziv lobuler (%5–15), tubüler (%2), müsinöz (%1–6), medüller (%1–2) ve daha az oranda da mikst tiptir (101). Literatürle uyumlu olarak bizim çalışmamızda; 25 (%83,3) olguda invaziv duktal karsinom mevcut iken, 4 olgu mikst (%13), 1 olgu (%3,7) medüller karsinom idi.

Evreleme, hastaları hastalıklarının yayılma derecesine göre gruplara ayırma işlemidir. Böylece gerek tedavinin planlanmasında gerekse prognoz tayininde ve tedavi için uygulanan çeşitli yöntemlerin etki farkını ortaya koymada en güvenilir yöntemdir (121). Çalışmamızda olgu grubunda 15 (%50) evre-II, 15 (%50) evre III meme kanseri mevcuttu.

Uzun yıllardan beri meme kanserinde steroid reseptör statüsü tedavi kararını vermekte kullanılır. ER pozitif hastalarda hastalıksız sağ kalımın ER negatif hastalara göre daha uzun olduğu gösterilmiş olup, San Antonio ve NSABP verilerine göre hastalıksız sağ kalım avantajı 5 yılda %10'dur. Östrojen ve progesteron reseptörleri hücre içerisinde olduğu için belirlenmeleri tümörlü hücreden yapılmalıdır. İlişkili oldukları hormonlara bağlanan bu reseptörler nukleusa transloke olarak spesifik gen ekspresyonuna yol açarlar. Patolojik olarak tümör dokusunda tespit edilen c-erbB–2'nin meme kanserindeki prognostik değeri son 10 yıldır araştırılmaktadır. Meme kanserli hastaların üçte birinde c-erbB–2 amplifikasyonun ve aşırı ekspresyonu vardır. Aşırı ekspresyon görülen hastalarda erken nükslerin daha sık olması ve sağ kalımın kısa oluşu nedeniyle, bu gendeki ekspresyon artışı kötü prognozun bir belirtisidir (99). Çalışmamızda meme kanserli olguların 19'unda (%63,3) östrojen ve progesteron hormon reseptörleri pozitifken, 11 (%36,7) olguda bu reseptörler negatifti. 13 (%43,3) olguda c-erbB–2 pozitif saptanırken, 17 (%56,7) olguda c-erbB–2 patolojik olarak negatif idi.

Yeni kanser belirteçlerinin saptanmasında, gen ekspresyon profilleri giderek artan oranlarda kullanılmaktadır. Bu teknoloji klinik ve patolojik parametrelerin

belirlenmesi ve yeni modalitelerin oluşturulması için umut vaat etmektedir. ER, PR, c-erb-B2 ve EGFR prognozu belirlemede ve hedefe yönelik tedavilerin seçiminde kullanılmaktadır. Meme kanserinde östrojen reseptör ekspresyonu her aşaması östrojen tarafından kontrol edilen çok aşamalı kompleks bir işlemdir. Östrojen etkisiyle ER ekspresyonu ve dolayısıyla östrojen bağlanma bölgelerinin sayısı azalır (122). Östrojen bu etkisini translasyon, transkripsiyon ve transkripsiyon sonrası aşamaların hepsinde gösterir. Endokrin tedaviye cevap açısından önemli rol oynayan progesteron reseptörünün ekspresyonu östrojen-ER etkileşimi ile regule edilir. Böylece transkripsiyon hızı düşer, RNA düzeyi ve progesteron reseptör sayısı azalır. Östrojen bağlı değişikliklerin aksine mRNA yarı ömründe değişiklik olmaz ve etkisini sadece transkripsiyon ve transkripsiyon sonrası aşamalarında gösterir (100,123). Sporadik meme kanserlerinin %70–80'inde ER amplifikasyonu vardır (119). Stanley ve Szewczuk yaptıkları hücre kültürü çalışmalarında multiplex tandem PCR ile ER relatif gen ekspresyon değerini yaklaşık 600 olarak bulmuşlardır (124). Çalışmamızda ER açısından hasta grubunda $1154,6 \pm 1000,6$, hasta yakını grubunda $1010,5 \pm 813,9$, kontrol grubunda ise $835,0 \pm 880,4$ c-DNA saptandı. Gruplara ait değerler ikişerli karşılaştırıldığında ise hasta ile kontrol, kontrol ile hasta yakını arasında fark bulunurken ($p=0.006$, $p<0.05$), hasta ile hasta yakını arasında fark olmadığı görülmektedir ($p=0.062$, $p>0.05$) [Tablo 4,7]. Hasta grubundaki serum ER gen ekspresyon seviyelerinin yüksek olarak saptanması prognostik öneme sahip olabilir ve tarama amaçlı kullanılması açısından daha ayrıntılı değerlendirilmelidir.

c-erb-B2 insan solid tümörlerinde gözlenen ve bilinen anormalliklerin prototipidir. Bu gendeki değişikliklerin bilinen kötü prognostik özellikler ile ilişkisi ve bu moleküler değişikliğe karşı hedefe yönelik tedavi geliştirme olanağı vurgulanmaktadır. c-erb-B2 EGFR ile büyük benzerlik taşıyan ve tirozin kinaz aktivitesine sahip bir transmembran proteini kodlar. Meme kanserinin oldukça önemli bir bölümünde c-erb-B2 geninde ekspresyon artışı görülür. c-erb-B2 molekülünün ekstraselüler bölgesi molekülden ayrılarak dolaşıma girmesi bu molekülün hasta serumunda saptanmasına olanak vermektedir (99). Bu yüzden tanı sırasında yapılacak serum c-erb-B2 testi primer tümörün durumu ve tümör hücrelerinin yayılımı hakkında bilgi verebilir. c-erb-B2 sporadik olguların %15–30'unda fazla miktarda eksprese edilmektedir (123). Bizim çalışmamızda kanserli

olgularda $149,5 \pm 184,7$ c-erb-B2 ekspresyonu mevcutken hasta yakını ve kontrol grubunda birer olguda ekspresyon izlenmiştir. Stanley ve Szewczuk'un çalışmalarında hücre kültüründe multiplaks tandem PCR ile c-erb-B2 rölatif gen ekspresyon değerini çalışmamızla benzer olarak, yaklaşık 150–200 arasında saptamışlardır (124). Ayrıca meme kanserli hastaların serumlarında immunoassay yöntemi ile belirlenen c-erb-B2 değeri 6,9–122,2 ng/ml aralığında saptanmıştır. Benzer biçimde normal bireylerin serum değerleri ölçülmüş ve 7,8–20,9 ng/ml olarak değerlendirilmiştir (125).

EGFR, tirozin kinaz aktivitesine sahip bir glikoprotein reseptörüdür. EGFR aşırı ekspresyonu fibroblastlarda EGF'den bağımsız transformasyon oluşturabilmesi reseptörün trans formasyonunda önemli rol oynadığına işaret eder. Klinikte yüksek EGFR düzeylerinin östrojen reseptör durumundan bağımsız olarak kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir. EGFR ile c-erbB2 aşırı ekspresyonunun birlikte görülmesini ve iki molekülün birbirlerini fosforile etmeleri, bu iki gen arasında işlevsel bir bağlantı olduğuna işaret etmektedir. İki genin birlikte aşırı eksprese olduğu hastalarda prognozun kötü olduğu görülmektedir (99). Moleküllerin kompleks kurması büyük olasılıkla tirozin kinaz aktivitesini artırmaktadır. Sporadik olgularda %11–21'inde EGFR overekspresyonu görülmektedir (120). EGFR ekspresyonu hasta grubunda $673,8 \pm 986,2$ olarak izlenirken, hasta yakını grubunda 7,0, kontrol grubunda ise $31,0 \pm 21,7$ olarak izlendi.

Tümör anjiogenezi birçok kanserin olduğu gibi, meme kanserinin de tedavisinde hedefdir. VEGF anjiogeneziste rol alan, tirozin kinaz aktivitesine sahip bir reseptördür. VEGF ekspresyonu pek çok yayında bağımsız prognostik faktör olarak tanımlanmıştır ve meme kanserinde düşük sağ kalım ile ilişkilendirilmiştir (126,127). Hasta grubunda VEGF ekspresyonu $319,1 \pm 754,3$ olarak saptanırken, hasta yakını $135,0 \pm 246,4$ ve kontrol grubunda $519,2 \pm 901,3$ olarak tespit edildi. Her üç gruptaki VEGF ölçümleri karşılaştırıldığında, gruplar arası farklılıkların önemsiz olarak bulundu.

GATA–3 meme gland morfogenez ve differansiyasyonunda rol oynayan önemli bir transkripsiyon faktörüdür. GATA–3 meme kanseri differansiyasyonu ve proliferasyonunda rol oynayan gen dizilerini kontrolünde görev alması sebebiyle, aynı zamanda tümör supresör gen olarak da adlandırılabilir. Meme kanserinde

GATA-3 ekspresyonu ve ER ekspresyonu arasında güçlü bir ilişki vardır. Bu nedenle komplementer DNA mikro-array analizleri östrojen pozitif karsinomlarda düşük GATA-3 ekspresyonu yüksek metastaz ve rekürrens ile ilişkili bulunmuştur. Yüksek GATA-3 gen anlatımı ise relapsız sağ kalımla ilişkilendirilmiştir (128). Bizim sonuçlarımızda hasta grubunda GATA-3 ekspresyonu $165,3 \pm 632,4$ olarak saptanırken, hasta yakını grubunda $16,1 \pm 31,5$, kontrol grubunda ise $12,2 \pm 37,9$ olarak saptandı. Bu gen ekspresyonu içinde gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı.

GRB-7 pek çok hücre yüzey reseptöründe sinyal iletimini sağlayan adaptör moleküldür. Meme kanserlerinin %20-30'unda overeksprese olarak izlenmiştir. GRB-7 overekspresyonu hücre migrasyonu ve metastazla ilişkilendirilebilir. Ancak bu yolak tam olarak bilinmemektedir (129). Stanley ve Szewczuk'un hücre kültüründe multipleks tandem PCR ile yaptığı çalışmada GRB-7 rölatif gen ekspresyon değerini, 1000'in altında saptanmışlardır (124). Bizim çalışmamızda hasta grubunda GRB-7 ekspresyonu $689,4 \pm 889,1$ olarak saptanırken, hasta yakını grubunda $6,0$, kontrol grubunda $48,2 \pm 33,7$ olarak saptandı. Hasta grubunda bu gen ekspresyonu yüksek olmasına karşın kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, istatistikî olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

p53, 17. kromozomda yerleşmiş olan bir tümör süppressör genidir. Kodladığı protein hücre bölümünde düzenleyici olarak rol oynar. Aynı zamanda diğer genlerin transkripsiyonunu da düzenler. p53'ün asıl görevi hasara uğramış DNA'ya sahip hücrenin bölünmesine engel olmaktır. p53'ün prognostik faktör olarak meme kanserindeki yeri yaklaşık 40 araştırma iken ortaya konmuştur. p53 sporadik meme kanserlerinin %14-35 inde inaktivedir (130). Literatürle uyumlu olarak p53 ekspresyonu hasta grubunda $39,0 \pm 49,7$, hasta yakını $49,0 \pm 58,3$, kontrol grubunda ise $55,2 \pm 74,7$ olarak saptanmış ve bu oran olması gerektiği gibi hasta grubunda en düşük olarak saptanmıştır.

c-Myc protoonkogeni transkripsiyon faktörü olarak görev yapan bir çekirdek proteini kodlar. Bu fosfoprotein, hücre çoğalmasını, farklılaşmasını ve apoptozisin bazı aşamalarını kontrol eder. Meme kanserinde en çok görülen değişikliklerden biri c-Myc geninde amplifikasyonudur. Çok sayıda çalışmada c-Myc amplifikasyonunun kötü prognozla ilişkili olduğu gözlenmiştir (99). Sporadik meme kanserlerinin %5-30 unda c-Myc geninin overeksprese olduğu saptanmıştır (119). Bizim çalışmamızda

hasta grubunda $129,5 \pm 159,4$ oranında c-Myc ekspresyonu saptanırken, bu oran hasta yakını grubunda $96,3 \pm 96,3$, kontrol grubunda $229,1 \pm 360,8$ olarak saptandı. Gruplar arası anlamlı bir fark saptanmadı.

Bcl-2 apoptozisi inhibe ederek hücre sağkalımını artıran bir onkogendir. Tümörlerde Bcl-2 varlığı iyi prognoz ile ilişkilidir. İleri evre tümörlerde azalmış Bcl-2 salınımı söz konusudur. İnvaziv meme kanserinde Bcl-2 ekspresyonu ile ER durumu arasında güçlü bir korelasyon olduğu bildirilmiştir (130). Bizim çalışmamızda bu gen hasta grubunda $1460,0 \pm 903,7$ saptanırken, hasta yakını grubunda $1157,38 \pm 869,34$, kontrol grubunda ise $1520,7 \pm 1295,9$ şeklinde izlendi ve gruplar arası anlamlı fark saptanmadı.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Meme kanseri sıklıkla geç tanı konan ve tanısı sonrası ciddi mortalite ve morbiditesi olan bir hastalıktır. Meme kanseri tanısı alan hastalarda tedavi; oldukça pahalı, hasta için yorucu ve uzun bir süreçtir. Ancak tüm bu olumsuzluklara rağmen bu hastalıkta erken tanı ve doğru tedaviyle, mortalite ve morbiditede büyük iyileşmeler sağlanabilir. Yapılan standart tedavilere rağmen, hasta odaklı başarı sağlanabilmektedir. Bu durum her bir hastada etiyolojik faktörlerin farklı olabileceğini, tümöre özgü epigenetik faktörlerin hasta ve tümör dokusunu özgülleştirdiğini ortaya koymaktadır. Bütün kanser tiplerinde olduğu gibi meme kanserinde de en doğru tanı (genetik ve /veya patogenetik) doğru ve etkili tedavi için kaçınılmazdır. Bu çalışma ile birinci derece yakın akrabalarda hedef gen ürünlerinin kantitatif değerleri meme kanserli hastaların değerleri karşılaştırılmıştır. Onkogen ve TSG'lerin transkriptom profillerinin bazal seviyeleri serumda belirlenmeye çalışılmıştır. Böylelikle bu olgularda yakın takiple erken teşhis sağlanabileceği gibi tedavi başarı oranında artma ve tedavi giderlerinde anlamlı düşüşler olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca kullanılan dokunun periferik kan dokusu olması, minimal invaziv bir teknik ile erken tanı şansı sağlayan prediktif bir faktör ya da tedavi etkinliğini belirleyen genetik yaklaşım belirlenebilmektedir.

Sonuç olarak farklı gen ürünlerinin, birlikte veya ayrı, ayrı ele alınmasıyla meme kanserinin, tanı ve tedavi modaliteleri aydınlatılabileceği gibi özellikle aile öyküsünün aşikâr bir etyolojik faktör olduğu bu kanser için prediktif faktörlerin ortaya konması ile riskli gruplar ayrılacaktır. Bu ayırım sağlandığı takdirde, meme kanseri ortaya çıkmadan mücadelenin erken safhada başlanması ve kalıtım dışı engellenebilir risk faktörleri ve çevresel tehditler açısından bu grubun eğitilmesini sağlanabilecektir. Bu ve bunun gibi multigenik, multifaktöryel hastalıklar için yapılan çalışmalar etiyolojiyi aydınlatarak belki de eksik olan parçaların yerine konmasını sağlayacaktır.

Meme kanserli hastaların birinci derece yakınlarında erken teşhis ve uygun takip için genomik baz değerlerin elde edilmesinin amaçlandığı bu çalışmanın, daha anlamlı sonuçlara ulaşması, ancak geniş serilerle yapılacak kapsamlı araştırmalarla mümkün olacaktır. Meme kanseri ile ilgili teorik ve uygulamalı akademik çalışmaların sayısının artmasının bu konudaki bilinçlenmeye katkı sağlayacağı kuşkusuzdur.

KAYNAKLAR

1. Bland KI. Anatomy of the breast; Fischer JE, Bland KI, (eds). Mastery of Surgery Volume I. 5th edition. Philadelphia, Pa, Lippincott Williams & Wilkins Part V. 482–485: 2007
2. Aygun AD, Akarsu S, Guvenc H, Kocabay K. Nipple and areola diameter in turkish pubertal girls. J Adolesc Health, 1998;23 (1): 55–57.
3. Cooper A: Anatomy and Diseases of the Breast. Philadelphia, Lea & Blanchard, 1–130:1845.
4. Jinde L, Jianliang S, Siaoping C, et al. Anatomy and clinical significance of pectoral fascia. Plast Reconstr Surg 2006; 118 (7):1557–1560
5. McCarthy KS, Carpenter SA, Georgiade GS. The breast: embryology, anatomy, and physiology. In: Georgiade NG, Georgiade GS, Riefkohl R, Eds. Aesthetic Surgery of the Breast. 1th edition. New York, Saunders Co, 1990; 3–18.
6. Netter F. Atlas of Human Anatomy. Netteranatomy.com (4th ed.). Saunders p182: 2006
7. Russo J, Russo IH. Development of the human mammary gland. In: Neville M, Daniel C, Eds. The Mammary Gland, Development, Regulation and Function. New-York-London: Plenum Publishing Corp, 1987;67–93.
8. Batson OV. The role of the vertebral veins in metastatic process of the breast cancer. Ann Int Med, 1942;16–38.
9. Bengtson BP. Sensory nerves in the lower pole of the breast encountered in breast (augmentation) surgery. Plast Reconstr Surg, 2009;123(1):32–33.
10. Netter F. Atlas of Human Anatomy: with Netteranatomy.com (4th ed.). Saunders p184:2006.
11. Estourgie SH, Nieweg OE, Valdés Olmos RA, Rutgers EJ, Kroon BB. Lymphatic drainage patterns from the breast. Ann Surg 2004;239:232–237.
12. Berardo MD, Allred DC, O’Connell P. Breast Cancer. Principles of molecular medicine, 1998; 31: 625- 632.
13. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ J Cancer Statistics, 2009. CA Cancer J Clin 2009;59:225–249

14. Sağlık Bakanlığı Kanserele Savaş Dairesi Başkanlığı: Kansere İstatistikleri 2005, <http://sbu.saglik.gov.tr/sb/default.asp?sayfa=ozelistatistik&id=116&kelime=&page=> (erişim tarihi: 01.02.2010)
15. Ulusal Hastalık Yüğü ve Maliyet-Etkililik Projesi 2004-Hastalık yüğü final rapor. <http://www.tusak.saglik.gov.tr/pdf/nbd/raporlar/hastalikyukuTR.pdf> (erişim tarihi: 01.02.2010)
16. Kalaycı G, Acarlı K, Demirkol K, Ertekin C. Meme anatomisi ve gelişmesi. Genel cerrahi cilt 1.Türkiye, İstanbul Nobel 2002;(1):537–542.
17. Struewing JP, Hartge P, Wacholder S, et al. The risk of cancer associated with specific mutations of BRCA1 and BRCA2 among Ashkenazi Jews. N Engl J Med 1997; 336: 1401–1408.
18. Thorlacius S, Struewing JP, Hartge P, et al. Population-based study of risk of breast cancer in carriers of BRCA2 mutation. Lancet 1998; 352: 1337–1339.
19. Futreal PA, Liu Q, Shattuck-Eidens D, et al. BRCA1 mutations in primary breast and ovarian carcinomas. Science 1994; 266: 120–122.
20. Jardines L, Haffty GB, Doroshov H, et al. Breast cancer overview: risk factors, screening, genetic testing, and prevention. In Pazdur R, Coia LR, Hoskins WJ, Wagman LD. (eds): Cancer Management: A Multidisciplinary Approach, 6th edition. Newyork: NRR Inc, 2002; 149–172.
21. Klijn JG, Berns PM, Schmits PI, Foekens JA. The clinical significance of epidermal growth factor receptor (EGFR) in human breast cancer: a review on 5232 patients. Endocr Rev 1992;13:3–17
22. Spiegel D. Psycosocial aspects of breast cancer treatment. Semin Oncol 1997; 24(1)(Suppl 1):36–47.
23. Nemoto T, Natarajan N, Bedwani R, et al. Breast cancer in the medial half: results of the National Survey of the American College of Surgeons. Cancer 1983; 51:1333
24. Kilpatrick MG, Kristjanson LJ, Tatrjn DJ, et al. Information needs of husbands of women with breast cancer. Oncol Nurs Forum 1998; 25:1595–1601.

25. Vogel VG. Breast Cancer Prevention: A Review of Current Evidence. *CA Cancer J Clin* 2000; 50: 156–170.
26. Darendeliler E, Ağaoğlu FY. Meme Kanserinin Epidemiyolojisi ve Etyolojisi. Topuz E, Aydın A, Dinçer M. (eds): *Meme Kanseri*, 1. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2003; 13–33.
27. Wooster R, Neuhausen SL, Mangion J, et al. Localization of a breast cancer susceptibility gene, BCRA2, to chromosome 13q. *Science* 1994; 265: 2088–2090.
28. Willard W, Borgen P, Bol R, et al. Cowden's disease. A case report with analysis at molecular level. *Cancer* 1992; 69: 2969–2976.
29. Wrensch M, Chew T, Farren G, et al. Risk factors for breast cancer in a population with high incidence rates. *Breast Cancer Res* 2003; 5(4): 88–102.
30. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data on 53,297 women with breast cancer and 100,239 women without breast cancer from 54 epidemiological studies. *Lancet* 1996; 47: 1713.
31. Gelmann EP. Oncogenes in human breast Cancer. In: *The Breast: Comprehensive management of benign and malignant Diseases*. Vol I. Ed: Bland KI, Copeland EM. WB saunders Company, USA, 1998, p:499–517.
32. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 705 women with breast cancer and 108 411 women without breast cancer. *Lancet* 1997; 350: 1047–1059.
33. Topuz E, Aydın A, Dinçer M. *Meme Kanseri*. Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul: 2003; 1–8.
34. Lubin F, Ruder AM, Wax Y, et al. Overweight and changes in weight throughout adult life in breast cancer etiology. *Am J Epidemiol* 1985; 579: 122–126.
35. Hall N, Williams M, Murday V, et al. Muir-Torre syndrome: a variant of the cancer family syndrome. *J Med Genet* 1994; 31: 627–631.

36. Rohan TE, Howe GR, Friendenrich CM, et al. Dietary fiber, vitamins A,C and E and risk of breast cancer. A cohort study. *Cancer Causes Control* 1993; 4: 29–35.
37. Hunter DJ, Manson JE, Colditz GA, et al. A prospective study of consumption of vitamin C,E and A and breast cancer risk. *N Engl J Med* 1993; 329: 234–239.
38. Graham S, Hellmann R, Marshall J, et al. Nutritional epidemiology of postmenopausal breast cancer in New York. *Am J Epidemiol* 1991; 134: 552–554.
39. Margolese RG, Fisher B, Hortobagyi GN. et al. Neoplasms of The Breast. In Holland FJ, Frei E (eds): *Cancer Medicine*, 5th edition. Ontario: B.C.Decker Inc, 2000;1735–1822.
40. Bloom H, Richardson W, Harrier E. Natural history of untreated breast cancer. *BMJ* 1962; 213(2): 1805–1933
41. Spratt JS, Spratt SW. Medical and legal implications of screening and follow-up procedures for breast cancer. *Cancer* 1990; 6: 1351–1362
42. Skrabanek P. False premises and false promises of breast cancer screening. *Lancet* 1985; 2(8450): 316–320
43. Fisher ER, Dignam J, Tan-Chiu E, et al. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Project (NSABP) eight-year update of Protocol B–17: intraductal carcinoma. *Cancer* 1999;86(3):429–38.
44. Fisher B, Slock N, Ausman R, et al. Location of breast carcinoma and prognosis. *Surg Gynecol Obstet* 1969;129: 705.
45. Dahl-Iversen E. Research on the microscopic metastases of breast cancers into the para-sternal and subclavicular lymph nodes. *Mem Acad Clin* 1952; 78: 651–652.
46. Singletary SE, Allred C, Ashley P et al. Revision of the American Joint Committee on Cancer Staging System for breast cancer. *J Clin Oncol* 2002; 20: 3628–3636.
47. Haagensen C. In: *Diseases of the breast*. 3rd edition Philadelphia, W.B.Saunders 1986; 686.

48. Sainsbury JR, Nicholson S, Angus B, Farndon JR, Malcolm AJ, Harris AL. Epidermal growth factor receptor status of histological sub-types of breast cancer. *Br J Cancer* 1988; 8: 458–460.
49. Warren S, Witham E. Studies on tumor metastases: The distribution of metastases in cancer of the breast. *Surg Gynecol Obstet* 1933; 57: 81.
50. Donegan WL. “Staging and primary treatment” Donegan WL, Spratt JS. *Cancer of the breast*. 4th ed. W.B.Saunders. 1995; 375–442.
51. Ciatto S, Pacini P, Axini J, et al. Preoperative staging of primary breast carcinoma. *Cancer* 1988; 61: 1038–1764.
52. Fleming ID, Cooper JS, Henson DE, et al. For the American Joint Commission on Cancer. *AJCC Cancer staging manual*. 5th edition. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997;171
53. Yeatman TJ, Blond KI. Assessment and designation of breast cancer stage. In Blond KI, Copeland EM editors. *The breast: Comprehensive management of benign and malignant diseases*. Philadelphia WB Sanders; 1998; 339–351
54. National Comprehensive Cancer Network: NCCN Breast Cancer Clinical Practice Guidelines in Oncology (V.2.2009). http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/PDF/breast.pdf. (erişim tarihi: 12.01.2010)
55. Joensuu H, Toikanen S, Klemi PJ. DNA index and S phase fraction and their combinations as prognostic factors in operable ductal breast carcinoma. *Cancer* 1990; 66: 331–340.
56. Crowe JP, Gordon NH, Shenk RR, et al. Primary tumor size. Relevance to Breast Cancer Survival. *Arch Surg* 1992;127: 910–915
57. Robbins GF, Leis HP Jr, Hutter Rup. A rational approach to and result of women with breast carcinoma. *J Breast* 1997;3:9
58. Fisher B, Slack NH. Number of lymph nodes examined and prognosis of breast carcinoma. *Surg Gynecol Obstet* 1970;131: 79–88
59. Berg JW, Robbins GF. Factors influencing short and long-term survival of breast cancer patients. *Surg Gynecol Obstet* 1966;122: 1311–1316

60. Saez RA, Clark GM, Mc Guire WL. Prognostic factors in breast cancer. *Semin Surg Oncol* 1989;5: 102–110.
61. Fisher B, Boyer M, Wickerham DL, et al. Relation of number of positive axillary nodes to the prognosis of patients with primary breast cancer: An NSABP update. *Cancer* 1983; 52: 1551–1557.
62. Nemeto T, Vana J, Bedwani RN, Baker HW, Mac Gregor FH, Murphy GP. Management and survival of female breast cancer: Results of a national survey by the American College of Surgeons. *Cancer* 1980; 45: 2917–2924.
63. Mitra I, MacRae KD. A meta-analysis of reported correlations between prognostic factors in breast cancer: Does axillary lymph node metastasis represent biology or chromology? *Sur J Cancer* 1991;27: 1574–1583.
64. Donegan WL. In *Cancer of Breast*. Donegan and Spratt (ed). 4th ed. Philadelphia WB Saunders Comp. 1995; 387–389.
65. World Health Organization. *Histological Typing of Breast Tumors*, 2nd ed. International Histological Classifications of tumours. Geneva: World Health Organizations 1982;19.
66. Liu E, Thor A, He M, et al. The Her 2 (cerb B2) oncogene is frequently amplified in in situ carcinomas of the breast. *Oncogene* 1992; 7:1027–1032.
67. van Der Burg B, De Groot RB, Isbruk L, et al. Oestrogen directly stimulates growth factor signal transduction pathways in human breast cancer cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1992; 43:111–115.
68. Du Toit RS, Locker AP, Ellis IO, et al. Invasive lobular carcinoma of the breast. *Br J Cancer* 1989; 60: 605–609.
69. Rosen PP. Invasive lobular carcinoma. In: Rosen PP (ed) *Breast Pathology*. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997: 545–565.
70. Cartens PHB, Greenberg RA, Francis D, et al. Tubular carcinoma of the breast: A long term follow-up. *Histopathology* 1985; 9: 221–280.

71. Anderson TJ, Lamb J, Donnan P, et al. Comparative pathology of breast cancer in randomised trial of screening. *Br J Cancer* 1991; 64: 108–113.
72. Tavassol FA, Norris HJ. Secretory carcinoma of the breast. *Cancer* 1980; 45: 2404–2413.
73. Ramos CV, Taylor HB. Lipid-rich carcinoma of the breast: A clinicopathologic analysis of thirteen examples. *Cancer* 1974; 33: 812–819.
74. King WJ, De Sambre ER, Jensen EV, Greene GL. Comparison of immunocytochemical and steroid binding assays for estrogen receptors in human breast tumors. *Cancer Research* 1985; 45: 293–299.
75. Molino A, Micciolo R, Turazza M, et al. Prognostic significance of estrogen receptors in 405 primary breast cancers. *Breast Cancer Res Treat* 1997; 45(3): 241–9.
76. Tavassol F. *Pathology of the breast*. 2nd Ed. Stamford, Connecticut: Appleton & Lange, 1999;52–53.
77. Giri DD, Dundas SAC, Nothingam JF, Underwood JCE. Oestrogen receptors in benign epithelial lesions and intraductal carcinomas of the breast: An immunohistological study. *Histopathology* 1989; 574–584.
78. Jakesz R, Reiner A, Bieglmaier C, et al. Tumor histology and steroid receptors in breast carcinoma. *Oncologie* 1981; 4(2): 73–8.
79. Amadori D, Silverstrini R. Prognostic and predictive value of thymidine labeling index in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1998; 51: 267–81.
80. Dickson RB, Lipman ME, *Oncogenes and Suppressor Genes In: Disease of the Breast* Ed. Harris JR, Morrow M, Lippman ME, Hellman S. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia-NewYork 1996;221–235.
81. DicksonRB, Lippman ME. Cancer of the breast. In *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. Fifth Edition, Ed: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1997: 1541–1557.
82. Perren TJ. *CerbB2* oncogene as a prognostic marker in breast cancer. *Br J Cancer* 1991;63: 328–332.

83. Ozturk M, Bolkent S, Yilmazer S, et al. Detection of c-erbB-2 mRNAs using diglabelled oligonucleotide probe with in situ hybridisation in human breast carcinoma: comparison with immunohistochemical results. *Anal Cell Pathol* 1998; 16(4): 201–209.
84. Erensoy N, Ssleyici B, Ozturk M. et al. Amplification and overexpression of c-erbB-2 gene in breast carcinomas. *Breast* 1998;4(1):55.
85. Kurebayashi JJ. Biological and clinical significance of her2 overexpression in breast cancer. *Breast Cancer* 2001; 8(1): 45–51.
86. Kao J, Salari K, Bocanegra M. Molecular profiling of breast cancer cell lines defines relevant tumor models and provides a resource for cancer gene discovery. *PLoS One* 2009; 4(7): 1–16.
87. Osborne C, Wilson P, Tripathy D. Oncogene and tumor suppressor genes in breast cancer: Potential diagnostic and therapeutic applications. *Oncologist* 2004; 9: 361–77.
88. Liao DJ, Dickson RB. C-Myc in breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 2000; 7(3): 143–164.
89. Smith D, Toft D. Steroid receptors and their associated proteins. *Mol Endocrinol* 1993; 7: 4–11
90. Norberg T, Jansson T, Sjogren S, et al. Overview on human breast cancer with focus on prognostic and predictive factors with special attention on the tumour suppressor gene p53. *Acta Oncologica* 1996; 35(5): 96–102.
91. Lane DP. P53; guardian of the genome. *Nature* 1992; 358: 15–16.
92. Cattoretti G, Rilke F, Andreda S, et al. p53 expression in breast cancer. *Int J Cancer* 1998; 41: 178–183.
93. Sirvent JJ, Fortuno Mar A, Olona M, et al. Prognostic value of p53 protein expression and clinicopathological factors in infiltrating ductal carcinoma of the breast. A study of 192 patients. *Histol Histopathol* 2001; 16 (1): 99–106.
94. Malkin D, Li FP, Strong LC, et al. p53 mutation in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas and other neoplasms. *Science* 1990; 250: 1233–1238.

95. Caleffi M, Teague MW, Jensen RA, Vnencak-Jones CL, Dupont Wd, Parl FF. p53 gene mutations and steroid receptor status in breast cancer. Clinicopathologic correlations and prognostic assessment. *Cancer* 1994; 73(8): 2147–2156.
96. Sierra A, Castellsague X, Escobedo A, et al. Bcl-2 with loss of apoptosis allows accumulation of genetic alteration: a pathway to metastatic progression in human breast cancer. *Int J Cancer* 2000; 89 (2):142–147
97. Poon RT-P, Fan S-T, Wong J. Clinical implications of circulating angiogenic factors in cancer patients. *J Clin Oncol* 2001; 19: 1207–1225.
98. Park JE, Chen HH, Winer J, et al. Placenta growth factor. Potentiation of vascular endothelial growth factor bioactivity, in vitro and in vivo, and high affinity binding to Flt-1 but not to Flk-1/KDR. *J Biol Chem* 1994; 269: 25646–25654.
99. Bai T, Luoh SW. GRB-7 facilitates HER-2/Neu-mediated signal transduction and tumor formation. *Carcinogenesis* 2008; 29(3): 473–479.
100. Hoch RV, Thompson DA, Baker RJ, et al. GATA-3 is expressed in association with estrogen receptor in breast cancer. *Int J Cancer* 1999; 84(2):122–128
101. Dalay N. Meme kanserinin biyolojik özellikleri Meme Kanseri. Nobel Tıp Kitapevi, 2003; 34–71.
102. Fang SH, Chen Y, Weigel RJ. GATA-3 as a marker of hormone response in breast cancer. *J Surg Res* 2009; 157(2): 290–295.
103. Erdamar, S. Meme Karsinomlarında Histolojik Tipler ve Prognoz, Meme Hastalıkları, Editörler: Ünal G., Ünal H. Nobel Tıp Kitabevleri, 2001;301-305.
104. Onat H. Meme kanseri risk faktörleri ve korunma: Meme Kanseri(Ed) E Topuz, A Aydın, M Dinçer, 2003, 90–107.
105. Özdağ H. http://bteml.biotek.ankara.edu.tr/wiki/images/b/b5/Gen_ifadesi-Hafta_II.pdf (Erişim Tarihi:12.11.2009)
106. Ünver N, Emre S. Sistem biyolojisi ve deri. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2008; 39:68–74

107. Schulze A, Downward J. Navigating gene expression using microarrays-a technology review. *Nat Cell Biol* 2001; 3: 190–195.
108. de Hoog CL, Mann M. Proteomics. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2004; 5: 267–293.
109. Üner A. Array Teknolojileri ve Onkolojide Kullanım Alanları. XV. Ulusal Kanser Kongresi. 23- Nisan. Antalya, 2003
110. Coşkun T. *Nütrisyonel Genomik Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2007; 50: 47–66
111. Rodwell VW; Nucleotides in "Harper's Biochemistry", Ed. Murray RK, Granner KG, Mayes PA, Rodwell VW. (Lange Medical Book, 24th ed.) USA, 1996; 359–369.
112. Granner DK. Nucleotic acid Structure and Function in "Harper's Biochemistry", Ed. Murray RK, Granner KG, Mayes PA, Rodwell VW. (Lange Medical Book, 24th ed.) USA, 1996; 386–395.
113. Mathews CK, van Holde KE; Nucleic acids in "Biochemistry" Benjamin/Cummings Publishing, USA, 1990; 91–132.
114. Oral HB. Polimeraz Zincir Reaksiyonu *T Klin Tıp Bilimleri* 1992;12: 49–58
115. Rody A, Holtrich U, Gaetje R, et al. Poor outcome in estrogen receptor positive breast cancers predicted by loss of plexin B1. *Clin Cancer Res* 2007; 13(4):1115–1122
116. Fournier MV, Martin KJ. Transcriptome profiling in clinical breast cancer: from 3d culture models to prognostic signatures. *J Cell Physiol* 2006;209:625–630
117. Shiau AK, Barstad D, Loria PM, et al. The structural basis of estrogen receptor/coactivator recognition and the antagonism of this interaction by tamoxifen. *Cell* 1998; 95; 927–937
118. Shou J, Massarweh S, Osborne CK, et al. Mechanisms of Tamoxifen Resistance: Increased Estrogen Receptor-HER2/neu Cross-Talk in ER/HER2-Positive Breast Cancer. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 926–35
119. Conzen SD, Grushko TA, Olopade OI. *The Molecular Biology of Breast Cancer* 8th ed.43:(1); 1595–1605
120. İlvan Ş. Meme Karsinomu Patolojisi Meme Kanseri Sempozyum Dizisi No:

54 Aralık 2006; s. 65 – 71

121. Bomford CK, Kunkler IH, Sherriff SB. Walter and Miller's Textbook of RT, Radiation Physics, Therapy and Oncology. (2. ed). Churchill Livingstone Inc., Edinburgh 1993; 383-394.
122. Nasser SM. Gene expression profiling in breast cancer. J Med Liban 2009; 57(2): 83–88
123. Kao J, Salari K, Bocanegra M. Molecular profiling of breast cancer cell lines defines relevant tumor models and provides a resource for cancer gene discovery. PLoS One 2009; 4(7):1–16
124. Stanley KK, Szewczuk E. Multiplexed Tandem PCR: gene profiling from small amounts of RNA using SYBR Green detection. Nucleic Acids Res 2005; 33(20): 1–9
125. Oğuz H, Yasasever V. Moleküler Tıpta Tümör Belirleyiciler. Türk Onkol Derg. 2004; 19(1): 28–35
126. Asgeirsson K, Agrawal A, Allen C. Serum epidermal growth factor receptor and her2 expression in primary and metastatic breast cancer patient. Breast Can Res. 2007, 9: 75
127. Gisterek I, Matkowski R, Lacko A, et al. Serum vascular endothelial growth factors a, c nad d in human breast tumors. Pathol Oncol Res 2009
128. Fang SH, Chen Y, Weigel RJ. GATA–3 as a Marker of Hormone Response in Breast Cancer. J Surg Res 2008; 157(2): 1–6
129. Siamakpour-Reihani S, Argios HJ, Wilmeth LJ, et al. The cell migration protein Grb7 associates with transcriptional regulator FHL2 in a Grb7 phosphorylation-dependent manner. J Mol Recognit 2009; 22(1): 9–17
130. Yasasever V, Karaoglu D, Yazici H. Serum neu oncoprotein levels as tumor marker in breast cancer. J Tumor Marker Oncol 1992;7: 33–42

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Bu katıldığınız çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı **MEME KANSERİ HASTALARI VE 1. DERECE AKRABALARINDA EPİGENETİK RİSK FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI** 'dır.

Bu araştırmanın amacı, meme kanserinde doğru ve erken tanı sağlayabilmek için meme kanserinde etkili olan hedef genleri incelemektir. Araştırmada meme kanserli hastaların 1. derece akrabaları ve meme kanseri öyküsü olmayan sağlıklı kadınlardan elde edilecek meme kanseri oluşumunda rol alan hedef gen ürünlerine ait sayısal değerler karşılaştırılacaktır. Bu araştırmada, sizin kolunuzdan 5 ml kan alınacaktır. Bu araştırmada yer almanız öngörülen süre 3 ay olup, araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı 90 (doksan)'dır.

Bu araştırma ile ilgili olarak genetik A.D. tarafından çıkarılacak rapor, inceleme tamamlandığında tarafınıza verilecektir.

Bu araştırmada sizin için herhangi bir risk ya da rahatsızlık söz konusu değildir.

Araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için 2580000-1416 no.lu telefondan Dr.Eda ERDİŞ'e başvurabilirsiniz.

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır. Ayrıca, bu araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik, testler ve tıbbi bakım hizmetleri için sizden veya bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir. Bu araştırma CÜBAP tarafından desteklenmektedir.

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol açmayacaktır. Araştırmacı bilginiz dahilinde veya isteğiniz dışında, uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle sizi araştırmadan çıkarabilir. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir.

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayımlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz (tedavinin gizli olması durumunda, gönüllüye kendine ait tıbbi bilgilere ancak verilerin analizinden sonra ulaşabileceği bildirilmelidir).

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

Bu formun imzalı bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllünün,

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin,

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Açıklamaları yapan araştırmacının,

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin/görüşme tanığının,

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza: