

SEMİRAMİS DOĞAN
ZEYBEK

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL.
ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2024



(DOKTORA TEZİ)

TRPM4 PROTEİNİNİN MEME KANSERİNDE ROLÜ

SEMİRAMİS DOĞAN ZEYBEK

**DANIŞMAN
PROF. DR. HADİYE DERYA DURANYILDIZ**

**TEMEL ONKOLOJİ ANABİLİM DALI
KANSER BİYOKİMYASI PROGRAMI**

İSTANBUL-2024

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Semiramis Doğan Zeybek

İTHAF

Kızıma ithaf ediyorum.



TEŞEKKÜR

Onkoloji Enstitü Müdürümüz Sn. Prof. Dr. Osman Bülent Zülfişar'a,

Temel Onkoloji Anabilim Dalı Başkanımız Sn. Prof. Dr. Hatice Bilge BECERİR'e,

Doktora eğitimim boyunca deneyim ve birikimlerini aktaran sevgili hocam, tez danışmanım Sn. Prof. Dr. Derya DURANYILDIZ'a,

Tez çalışmam süresince beni yalnız bırakmayan, en doğru şekilde yönlendiren, bilgi ve birikimlerini aktaran değerli hocam Sn. Doç. Dr. Hilal OĞUZ SOYDİNÇ'e,

Hastalara ait materyal ve klinik verilerin sağlanmasında destek veren

Sn. Doç. Dr. Süleyman BADEMLER'e

Tez çalışmam süresince yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Ceren TILGEN YASASEVER, Arş. Gör. Elif BILGIN DOĞRU, Dr. Murat SERİLMEZ ve tüm çalışma arkadaşlarıma,

Her zaman yanımda olduklarını hissettiğim canım annem ve babama,

Eğitimim süresince her konuda yanımda olan, desteğini hiç esirgemeyen eşim

Tolga ZEYBEK'e ve kızım Ekin'e teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 39716

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Kanser Biyokimyası Programında Doktora öğrencisi Semiramis Doğan Zeybek tarafından Prof. Dr. Hadiye Derya Duranyıldız'ın danışmanlığında hazırlanan "TRPM4 Proteininin Meme Kanseri Rolü" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 18/12/2024 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Uğur Gezer
İstanbul Üniversitesi
Temel Onkoloji Anabilim Dalı

Jüri

Prof. Dr. Matem Tunçdemir
İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Jüri

Doç. Dr. Hilal Oğuz Soyduñ Fakül
İstanbul Üniversitesi
Temel Onkoloji

Jüri

Doç. Dr. Süleyman Bademler
İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi
Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü
Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Jüri

Dr. Öğr. Üyesi Ezgi Kürkçü Kahraman
İstanbul Beykent Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Fakültesi
Beslenme ve Diyetetik Bölümü

Jüri-(Danışman)

Prof.Dr. Hadiye Derya Duranyıldız
İstanbul Üniversitesi
Temel Onkoloji Anabilim Dalı

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|------|
| BEYAN..... | ii |
| İTHAF..... | iii |
| TEŞEKKÜR..... | iv |
| İÇİNDEKİLER..... | vi |
| TABLolar LİSTESİ..... | viii |
| ŞEKİLLER LİSTESİ..... | x |
| SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ..... | xi |
| ÖZET..... | xiii |
| ABSTRACT..... | xiv |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ..... | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER..... | 3 |
| 2.1. Memenin Oluşumu ve Embriyolojisi..... | 3 |
| 2.2. Memenin Anatomisi..... | 3 |
| 2.3. Meme Fizyolojisi..... | 5 |
| 2.4. Meme Kanseri..... | 5 |
| 2.4.1. Meme Kanseri Epidemiyolojisi..... | 5 |
| 2.4.2. Meme Kanseri Risk Faktörleri..... | 5 |
| 2.4.3. Meme Kanserinin Belirti ve Bulguları..... | 8 |
| 2.4.4. Meme Kanserinde Tanı..... | 10 |
| 2.4.4.1. Anamnez..... | 10 |
| 2.4.4.2. Memenin Fizik Muayenesi..... | 11 |
| 2.4.4.3. Radyolojik Görüntüleme..... | 13 |
| 2.4.4.4. Tümör Belirteçleri..... | 14 |
| 2.4.5. Meme Kanseri Histopatolojisi..... | 14 |
| 2.4.5.1. İnvaziv Olmayan Karsinom..... | 15 |
| 2.4.5.2. İnvaziv Karsinom..... | 16 |
| İnvaziv Duktal Karsinom..... | 16 |
| 2.4.6. Meme Kanserinde Evreleme..... | 18 |
| 2.4.7. Meme Kanserinde Sinyal Yolakları..... | 21 |
| 2.4.7.1. PI3K/Akt/mTor Sinyal Yolağı..... | 21 |
| 2.4.7.2. Notch Sinyal Yolağı..... | 22 |
| 2.4.7.3. Wnt/beta catenin Sinyal Yolağı..... | 23 |

| | |
|---|----|
| 2.5. TRPM4 (Transient receptor potential cation channel subfamily M member 4-Geçici reseptör potansiyeli melastatin 4) | 25 |
| 2.5.1. TRPM4 ün Genel Mekanizması | 28 |
| 2.5.2. TRPM4 ve Kanser | 31 |
| 2.5.3. TRPM4 ve Meme Kanseri | 33 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM | 34 |
| 3.1. Araştırmada Kullanılan Örnekler | 34 |
| 3.2. Gen Ekspresyon Düzeylerinin Belirlenmesi | 36 |
| 3.2.1. RNA İzolasyonu | 36 |
| 3.2.2. Komplementer DNA (cDNA) Sentezi | 36 |
| 3.2.3. Gerçek Zamanlı PCR | 37 |
| 3.3. Protein Düzeylerinin Belirlenmesi | 39 |
| 3.3.1. ELISA Yöntemi | 39 |
| 3.3.2. TRPM4 Protein Düzeylerinin Belirlenmesi | 39 |
| 4. BULGULAR | 41 |
| 5. TARTIŞMA | 54 |
| KAYNAKLAR | 59 |
| FORMLAR | 70 |
| İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI | 74 |

TABLOLAR LİSTESİ

| | |
|---|----|
| Tablo 2-1: Meme Kanserinde Belirti ve Bulgular | 9 |
| Tablo 2-2: BI-RADS sınıflama sistemi..... | 13 |
| Tablo 2-3: Meme Karsinomu Histopatolojik Sınıflandırması | 15 |
| Tablo 2-4: Primer Tümör (T) Evrelemesi -Anatomik..... | 19 |
| Tablo 2-5: Bölgesel lenf nodları sınıflaması (cN) | 19 |
| Tablo 2-6: Uzak Metastaz (M) sınıflaması | 20 |
| Tablo 2-7: Anatomik Evreleme sınıflaması | 20 |
| Tablo 3-1. Meme Kanserli Hastaların Özellikleri..... | 35 |
| Tablo 3-2: cDNA sentezi tepkime bileşenleri..... | 37 |
| Tablo 3-3: cDNA sentezi için gerekli tepkime şartları | 37 |
| Tablo 3-4: TRPM4 genine ait primerler | 37 |
| Tablo 3-5: Real Time PCR bileşenleri..... | 38 |
| Tablo 3-6: Real Time PCR gerçekleşme koşulları | 39 |
| Tablo 4-1: Hasta grubuna ait yaş, çocuk sayısı, doğum sayısı ve emzirme süresi ile ilgili bilgilerin dağılımları | 41 |
| Tablo 4-2: Hasta grubuna ait diğer genel bilgilerin dağılımı..... | 41 |
| Tablo 4-3: Hasta grubuna ait rutin belirteçlerin sonuçları | 42 |
| Tablo 4-4: Grupların yaş ve menopoza açısından karşılaştırılması..... | 43 |
| Tablo 4-5: Grupların TRPM4 gen ekspresyonu ve protein düzeyleri açısından aritmetik ortalama (x), standart sapma (sd), medyan (m), minimum (min), maksimum (max) değerleri ile birlikte istatistiksel anlamlılıkları (p değerleri)karşılaştırılması..... | 43 |
| Tablo 4-6: Hasta ve kontrol grubunun TRPM4 gen ekspresyonu ve protein düzeylerinin korelasyonu | 45 |
| Tablo 4-7: TRPM4'ün gen ekspresyonu ve protein düzeyi için ROC analizi sonuçları ... | 45 |
| Tablo 4-8: Meme kanserli hastaların ve sağlıklı kontrollerin yaş ile TRPM4 gen ekspresyonu ve protein düzeyi korelasyonu | 47 |
| Tablo 4-9: Grupların menopoza durumuna göre TRPM4 gen ekspresyonu ve protein düzeyleri açısından aritmetik ortalama (x), standart sapma (sd), medyan (m), minimum (min), maksimum (max) değerleri ile birlikte istatistiksel anlamlılıkları (p değerleri)karşılaştırılması | 47 |
| Tablo 4-10: Emzirme süresi (ay) ile TRPM4'ün gen ekspresyon ve protein düzeyinin korelasyonu | 48 |
| Tablo 4-11: Grupların emzirme durumuna göre TRPM4 gen ekspresyonu ve protein düzeyleri açısından aritmetik ortalama (x), standart sapma (sd), medyan (m), minimum (min), maksimum (max) değerleri ile birlikte istatistiksel anlamlılıkları (p değerleri)karşılaştırılması | 48 |
| Tablo 4-12: Grupların ek hastalık varlığına göre TRPM4 gen ekspresyonu ve protein düzeyleri açısından aritmetik ortalama (x), standart sapma (sd), medyan (m), minimum (min), maksimum (max) değerleri ile birlikte istatistiksel anlamlılıkları (p değerleri)karşılaştırılması | 49 |
| Tablo 4-13: Grupların memenin konumuna göre TRPM4 gen ekspresyonu ve protein düzeyleri açısından aritmetik ortalama (x), standart sapma (sd), medyan (m), minimum (min), maksimum (max) değerleri ile birlikte istatistiksel anlamlılıkları (p değerleri)karşılaştırılması | 49 |
| Tablo 4-14: Grupların histolojik tanıya göre TRPM4 gen ekspresyonu ve protein düzeyleri açısından aritmetik ortalama (x), standart sapma (sd), medyan (m), minimum (min), maksimum (max) değerleri ile birlikte istatistiksel anlamlılıkları (p değerleri)karşılaştırılması | 50 |

| | |
|---|----|
| Tablo 4-15: Grupların evreye göre TRPM4 gen ekspresyonu ve protein düzeyleri açısından aritmetik ortalama (x), standart sapma (sd), medyan (m), minimum (min), maksimum (max) değerleri ile birlikte istatistiksel anlamlılıkları (p değerleri)karşılaştırılması | 50 |
| Tablo 4-16: ER ve PR ile TRPM4'ün gen ekspresyonu- protein düzeyi korelasyonu | 51 |
| Tablo 4-17: Grupların HER2 durumuna göre TRPM4 gen ekspresyonu ve protein düzeyleri açısından aritmetik ortalama (x), standart sapma (sd), medyan (m), minimum (min), maksimum (max) değerleri ile birlikte istatistiksel anlamlılıkları (p değerleri)karşılaştırılması | 52 |
| Tablo 4-18: TRPM4'ün gen ekspresyonu ve protein düzeyleri ile tümör belirteçlerinin korelasyonu | 52 |



ŞEKİLLER LİSTESİ

| | |
|---|----|
| Şekil 2-1: Meme Anatomisi | 4 |
| Şekil 2-2: Kanser kök hücrelerinde anormal düzenlenmiş Notch sinyal yolağının aktivitesi | 22 |
| Şekil 2-3: Wnt/ β -Katenin Yolağı | 24 |
| Şekil 2-4: TRPM kanal ailesinin genel yapısı..... | 27 |
| Şekil 2-5: TRPM4'ün aktivasyonu ve Ca^{+2} girişinin düzenlenmesi..... | 30 |
| Şekil 2-6: Farklı kanser türlerinde TRPM4 ekspresyon seviyelerinin sağlıklı kontrol dokusuyla karşılaştırmalı özeti | 31 |
| Şekil 4-1: Meme kanseri hastalarının ve sağlıklı kontrollerin TRPM4 gen ekspresyon seviyesi dağılım grafiği..... | 44 |
| Şekil 4-2: Meme kanserli hastaların ve sağlıklı kontrollerin TRPM4 protein düzeyleri dağılım grafiği..... | 44 |
| Şekil 4-3: Gen ekspresyon düzeyi için ROC eğrisi | 46 |
| Şekil 4-4: Protein düzeyi değerleri için ROC eğrisi | 46 |

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

- TRP: Geçici Reseptör Potansiyeli
- TRPM4: Geçici Reseptör Potansiyeli Melastatin 4
- IP3: Inositol trifosfat
- VKI: Vücut Kitle İndeksi
- HRT: Hormon Replasman Tedavisi
- KKMM: Kendi Kendine Meme Muayenesi
- KMM: Klinik Meme Muayenesi
- MMG: Mamografi
- BIRADS: Breast Imaging Reporting and Data System
- FDG: Floro-2-deoksi-d-glukoz
- PET: Pozitron Emisyon Tomografisi
- USG: Ultrasonografi
- HER2: Human Epidermal Growth Factor Receptor 2- insan epidermal büyüme faktör reseptörü 2
- CA 15-3: Kanser antijeni 15-3
- CEA: Karsinoembriyonik antijen
- DKİS: Duktal karsinoma in situ
- LKİS: Lobüler karsinoma in situ
- IDK: Invaziv Duktal Karsinom
- PH: Paget Hastalığı
- TNM: Tümör-Nod-Metastaz
- UICC: Uluslararası Kanserle Mücadele Derneği- Union for International Cancer Control
- AJCC: American Joint Committee on Cancer
- ER: Östrojen Reseptörü
- PR: Progesteron Reseptörü
- PI3K/Akt/mTOR: Fosfatidilinositol 3-Kinaz/ Protein Kinaz B/ Memelilerdeki Hedef Rapamisin, Mammalian Target of Rapamycin
- PIK3CA: Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha
- PTEN: Fosfataz ve Tensin Homoloğu
- ADAM: A Disintegrin ve Metalloproteinaz
- NF-κB: Nuclear factor-kappa B
- TGFβ: Transforming growth factor beta

APC: Adenomatöz Polipozis Coli
CK1: Kazein kinaz 1
GSK-3: Glikojen Sentaz Kinaz 3
TCF/LEF: T-hücre faktörü/Lenfoid güçlendirici faktör
SOCE: Store-Operated Calcium Entry
ER: Endoplazmik Retikulum
STIM1: Stromal-interaction molecule 1
ROS: Reaktif Oksijen Türleri
SUR1: Sülfanilüre Reseptörü
KCTD5: Potasyum kanalı tetramerizasyon bölgesi içeren protein 5
SUMO: Small Ubiquitin-like Modifier
TRPC3: Transient Receptor Potential Canonical 3
PTPN6: Protein tirozin fosfataz non-reseptör tipi 6
NMDA: N-metil-D-aspartat
KRK: Kolorektal kanser
PCa: Prostat kanseri
PIN: Prostatik İntraepitelyal Neoplazi
DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü
EMT: Epitelyal Mezenkimal Geçiş
EC: Endometrium Kanseri
HT: Hipertansiyon
DM: Diabetes Mellitus
TCGA: The Cancer Genome Atlas
TNBC: Üçlü Negatif Meme Kanseri
ROC: Receiver Operating Characteristic
AUC: Area Under Curve
bCSCs: Meme kanseri kök hücreleri
ELISA: Enzime bağlı immünosorbent deneyleri
RT-PCR: Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu

ÖZET

Zeybek Doğan S. TRPM4 Proteinin Meme Kanserinde Rolü. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Onkoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul. 2024.

Meme kanserinde erken tanı ve tedavi yöntemlerindeki gelişmeler sayesinde, tanı alan birçok kişi için sağkalım oranlarının arttığı ve yaşam kalitesinin yükseldiği bilinmektedir. Kanserin biyolojik ve genetik özelliklerine göre planlanan tedaviler, daha etkili sonuçlar sağlamak amacıyla geliştirilmektedir. İyon kanalları, meme kanseri tedavisinde yeni bir hedef alanı olarak giderek dikkat çekmektedir. Kanser hücrelerinde kalsiyum, potasyum ve sodyum gibi iyonların dengesini düzenleyen bu kanallar, kanserin büyümesi, metastaz yapması ve kemoterapiye direnç göstermesi gibi özellikleri etkileyebilir. Bu nedenle, iyon kanallarını hedef alarak meme kanseri tedavisinde yenilikçi yaklaşımlar geliştirilmesi gerekmektedir. TRPM4 (Geçici Reseptör Potansiyeli Melastatin 4) kanalı, hücrelerin iyon dengesi ve kalsiyum sinyalizasyonunda rol oynayan bir iyon kanalıdır. Bu kanal, çeşitli kanser türlerinde, özellikle de meme kanserinde önemli bir rol oynar. TRPM4'ün aşırı ifade edilmesi, hücrelerin kalsiyum dengesini bozarak kanser hücrelerinin hayatta kalma, büyüme, hareketlilik ve metastaz gibi aktivasyonlarını etkilediği düşünülmektedir. Araştırmamızda, 60 meme kanseri hastası ile 20 sağlıklı kadından oluşan kontrol grubuna ait serum örnekleri incelendi ve TRPM4 proteininin gen ekspresyonu ile protein düzeyleri değerlendirildi. TRPM4, gen ekspresyon düzeyinde hasta ve kontrol grubu arasında, hastalarda istatistiksel açıdan yüksek bulunarak, anlamlılık saptandı ($p < 0.05$). TRPM4 protein düzeylerinde her iki grup arasında da istatistiksel bir anlamlılık bulunamadı ($p > 0.05$). Gen düzeyindeki yüksek ekspresyon nedeniyle TRPM4'ün meme kanserinde tanısal bir belirteç olabileceğinin önemine dikkat çekilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Meme Kanseri, TRPM4, mRNA, ELISA, Biyobelirteç

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 39716

ABSTRACT

Zeybek Doğan S. The Role of TRPM4 Protein in Breast Cancer. Istanbul University, Institute of Health Sciences, Department of Basic Oncology Phd thesis. Istanbul.2024.

Breast cancer outcomes have significantly improved, with advancements in early diagnosis and treatment methods leading to higher survival rates and better the well-being of many patients. Treatments tailored to the biological and genetic characteristics of cancer are being developed to achieve more effective outcomes. Ion channels are gaining attention as a novel therapeutic target in breast cancer treatment. These channels, which regulate the balance of ions such as calcium, potassium, and sodium in cancer cells, can influence critical processes such as tumor growth, metastasis, and chemotherapy resistance. Therefore, targeting ion channels has opened the door to innovative approaches in breast cancer therapy. The TRPM4 (Transient Receptor Potential Melastatin 4) channel is an ion channel involved in maintaining cellular ion balance and calcium signaling. This channel plays a significant role in various cancer types, particularly in breast cancer. Overexpression of TRPM4 is known to disrupt calcium homeostasis, thereby influencing cancer cell survival, growth, motility, and metastasis. In our study, serum samples from 60 breast cancer patients and 20 healthy women in the control group were analyzed, and the gene expression and protein levels of TRPM4 were evaluated. At the gene expression level, TRPM4 was found to be statistically higher in patients compared to the control group, with significance detected ($p < 0.05$). However, no statistical significance was observed in TRPM4 protein levels between the two groups. ($p > 0.05$). It has been emphasized that due to its high expression at the gene level, TRPM4 could be a potential diagnostic marker in breast cancer.

Key Words: Breast Cancer, TRPM4, mRNA, ELISA, Biomarker

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University.

Project No: 39716

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri, günümüzde dünya genelinde sık teşhis edilen kanser türü haline gelmiştir. 2020 yılına ait veriler, dünya genelinde yaklaşık 2,26 milyon meme kanseri tanısı konulduğunu ayrıca hastalığın kadınlarda kansere bağlı ölümlerin başlıca nedeni olduğunu göstermektedir (1). Kanser gelişiminde rol oynayan birçok risk faktörü bulunmaktadır; bunlar arasında cinsiyet, yaş, hormon, aile öyküsü, gen mutasyonları ve sağlıklı yaşam tarzı yer alır (2). Vakaların büyük çoğunluğu kadınlarda görülmektedir ve kadınlardaki vaka sayısı erkeklere kıyasla 100 kat daha fazladır (3). Meme kanseri, metastaz yapabilen bir kanser türüdür ve sıklıkla kemik, karaciğer, akciğer ve beyin gibi uzak organlara yayılabilir; bu durum da hastalığın tedavisini zorlaştıran başlıca sebeplerdendir. Hastalığın erken teşhisi, olumlu bir prognoz ve yüksek sağ kalım oranları sağlayabilir.

Geçici reseptör potansiyeli (Transient Receptor Potential-TRP) ailesi büyük bir iyon kanalı ailesidir ve esas olarak Ca^{+2} , Mg^{+2} ve Na^{+} gibi katyonları iletmektedir. TRP kanalları hücresel işlevlerden sorumlu olup, bu kanalların çoğu hücre içi Ca^{+2} homeostazını ve sinyal iletimini düzenler (4). Geçici reseptör potansiyeli melastatin 4 (Transient Receptor Potential Melastatin 4-TRPM4), TRP kanal alt ailesine ait bir proteindir. Hücre içi Ca^{+2} , TRPM4'ü doğrudan aktive eder ve bu kanaldan Na^{+} girişi sağlanır. TRPM4'ün Ca^{+2} aktivasyonu, ATP, IP3, kalmodulin ve protein kinaz C bağımlı fosforilasyon ile değiştirilebilir. TRPM4 çeşitli organlarda yaygın olarak ifade edilir ve kardiyovasküler sistem ile bağışıklık sistemi hastalıkları ile ilişkilidir. Son zamanlarda, kanserle ilgili TRPM4 üzerine yapılan çalışmalar artış göstermiştir. Bugüne kadar, TRPM4, difüz büyük B-hücreli lenfoma, prostat, kolorektal, karaciğer, meme, serviks ve endometrium kanseri gibi çeşitli kanser türlerinde incelenmiştir. Birçok kanser türünde TRPM4 aşırı ifade edilmekte ve bu durum, kanserin temel özellikleri olan artan proliferasyon, migrasyon ve hücre döngüsündeki değişikliklere katkıda bulunmaktadır. Bu nedenle, TRPM4, potansiyel bir prognostik kanser belirteci ve umut verici bir antikanser ilaç hedefi olarak değerlendirilmektedir. Günümüzde, TRPM4'ün kanser gelişmesine nasıl katkıda bulunduğu dair mekanizmalar üzerinde çalışmalar devam etmektedir (4).

Bu bilgiler ışığında, TRPM4 proteininin hücre döngüsündeki değişikliklerde rol oynamasından dolayı meme kanseri hastalarında tanısal bir belirteç olabileceği düşüncesiyle, hastalarda gen ekspresyonu ile protein düzeylerinin tespit edilmesi hedeflenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

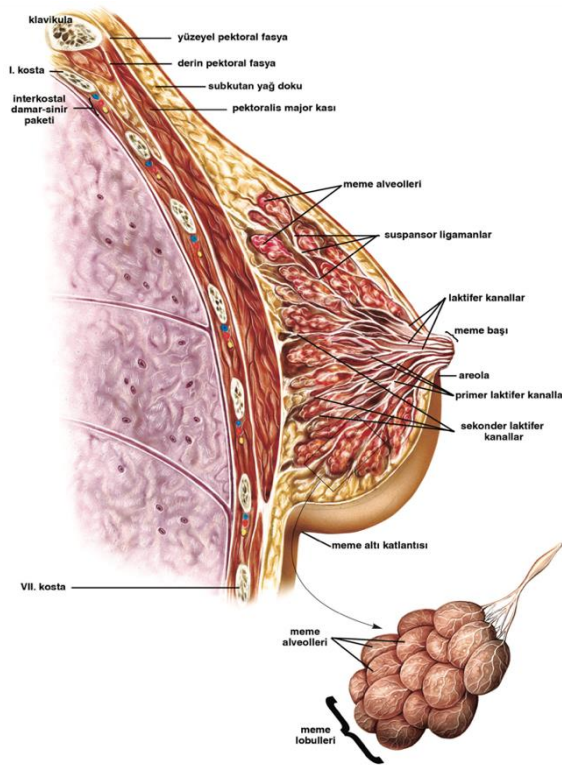
2.1. Memenin Oluşumu ve Embriyolojisi

İnsanlarda memenin gelişimi embriyonik yaşam ile başlayan ve ilerleyen bir süreçtir. Meme bezleri ise bu süreçte evrilmiş ve özelleşmiş ter bezlerinden biridir. Memenin oluşumu birçok evrimsel süreçten geçer. Fetal gelişimin 5. haftasından başlayarak koltuk altından kasık bölgesine kadar bir kalınlaşma görülür. Bu kalınlaşma potansiyel meme bezi dokusunu temsil eden meme çıkıntıları ve süt kanalları olarak adlandırılır. Fetal yaşamın son 8 haftasında, kanallar kanalize olur ve bezin başlangıç noktasındaki epidermis meme çukuru oluşturur (6). Bu alan meme tomurcuklarına dönüşür ve 15-20 katı kordon oluşturarak süt kanalları meydana gelir. Daha sonra mezenşimde büyüyerek meme çukuru olan bölge, meme başını (papilla) oluşturur (7).

2.2. Memenin Anatomisi

Meme, lateral ve ön göğüs duvarının yüzeysel fasyası arasında yer alır ve bir meme yaklaşık 150-225 gram ağırlığındadır. Eliptik bir tabanda, meme başı-areola yapısı çevresinde yer alan kanallarla birlikte, her birinde birçok lobül içeren 15-20 lobdan meydana gelir. Memenin apeksinde yer alan meme ucunu çevreleyen pigmentli bölgeye "areola" adı verilir. Areola ve meme başı, özel bir histolojik yapıya sahiptir. Meme başında bol miktarda duyuşal sinir uçları, yağ bezleri ve apokrin ter bezleri bulunurken, kıl folikülleri bulunmaz (8). İnsanlarda meme dokusu, salgı bezlerine ek olarak yağ ve bağ dokusundan oluşmaktadır. Bağ dokusunda meydana gelen fibröz kalınlaşmalar meme parankimal dokusuna uzanarak Cooper bağlarını oluşturur. Cooper bağları yüzeysel fasyanın derin fasyası ile meme ucuna kadar uzanarak memeye destek görevinde bulunur. Memenin arka yüzeyinde, yüzeysel fasyanın derin tabakası ile meme arasındaki alana retromammary bursa (Chassaignac bursa) denir. Bu aralık memenin göğüs duvarı üzerindeki hareketliliğine destek olmaktadır (9). Meme parankiminden gelen kanallar memenin ucunda birleşerek ve gelişerek laktiferöz sinüsü oluşturur. Laktiferöz sinüs, süt veren sinüştür ve toplama kanalı aracılığıyla meme ucunun yüzeyi ile iletişim kurar. Toplama kanalındaki proksimal kısım kanalın geri kalanına benzer fakat yüzeysel kısım yani meme ağzına doğru olan kısım skuamoz epitel ile kaplanmıştır (10) (Şekil 2-1). Bu epitelin, süt veren sinüsün içine doğru uzanması patolojiktir ve kanal tıkanması dediğimiz durum olarak bilinen skuamoz metaplazi ortaya çıkabilir.

Yüzeyel pektoral fasya memeyi sararak, yüzeyel abdominal fasya olarak devam eder. Süt üretimi, lobüllerde gerçekleşir ve üretilen süt bileşenleri, duktuslar vasıtasıyla taşınır. Laktasyon sürecinde süt, laktiferöz kanalın salgılama kanalında birikir. Memenin periyodik döngüsünü yaş, gebelik ve laktasyon etkiler. Her ovülasyon döneminde östrojen hormonunun uyarısı ile hücrelerin yapısı değişir, dokuda sıvı ve lipid toplanır. Döngünün tamamlanması sonucunda memenin boyutu küçülür. Gebelik sırasında meme bezi, laktasyona hazırlık aşamasında büyüme ve çoğalma sürecine girer (9).



Şekil 2-1: Meme Anatomisi

Memenin arter kan akışı, aksiller arterin yan dalları, internal torasik arter (ön interkostal dallar aracılığıyla) ve bazı arka interkostal arterler tarafından sağlanır. Üst memeyi, meme ucunu ve aerolayı anterior interkostal arter besler. Memeye kan sağlayan üst torasik arter, yan torasik ve subskapüler damarlar tarafından beslenir (11). Aerola çevresindeki pleksustan memenin venöz drenajı başlar ve parankimal dokudan devam ederek torasik arter, lateral torasik ve subskapüler arterlere eşlik eder. Aksiller lenf nodları memenin lenfatik akımını sağlar (12).

2.3. Meme Fizyolojisi

Memenin gelişiminde ve fonksiyonunu gerçekleştirmesinde birçok hormon etkilidir. Bunlar prolaktin, oksitosin, progesteron, östrojen, tiroid hormonları ve büyüme hormonlarıdır (13).

Östrojen ile progesteron meme gelişimde önemli rol oynar. Meme dokusunun fetal gelişimini progesteron aracılığıyla prolaktin, östrojen ve progesteron uyarır. Meme çocukluk döneminde aktif değildir fakat puberte döneminde laktifer duktuslarda dallanmalar oluşarak yağ depolanması artar. Böylece meme boyutları artış gösterir.

Adet döngüsünün başlamasından itibaren 12-18 ay sonunda memenin karakteristik lobüler gelişimi tamamlanır (14).

2.4. Meme Kanseri

2.4.1. Meme Kanseri Epidemiyolojisi

Dünya genelinde meme kanseri vakalarının sayısı 1980'ler ve 1990'larda hızla artmıştır; bu artışın temel nedeni, daha gelişmiş tarama yöntemlerinin uygulanmasıdır. 2007 yılından itibaren meme kanseri yükü yeniden artmaya başlamıştır. Bu artışı açıklayan faktörler arasında artan vücut kitle indeksi (VKI) ve azalan doğum oranı yer alabilir (15). Genel olarak, son otuz yılda dünya genelinde yeni meme kanseri vakalarının toplamında %128 oranında bir artış yaşanmıştır (16). En son tahminlere göre, 2040 yılına kadar meme kanseri yükünün yıllık 3 milyondan fazla yeni vaka ile artması beklenmektedir (17).

2.4.2. Meme Kanseri Risk Faktörleri

Tümörlerin meydana gelmesi ve gelişiminde risk faktörleri ciddi bir rol oynar. Bunlar değiştirilebilen ve değiştirilemeyen olarak iki gruba ayrılabilir. Değiştirilebilen risk faktörlerinin kontrol altına alınması, kanser gelişimini büyük ölçüde azaltabilir. Fiziksel aktivite, alkol-sigara-uyuşturucu madde kullanımı, hormon replasman tedavisi (HRT), yapay ışık ve kimyasallara maruz kalma, obezite bunlar arasındadır. Değiştirilemeyen faktörler arasında gebelik, emzirme geçmişi, yaş ve cinsiyet, ailede meme veya over kanseri hikayesi, etnik köken, genetik mutasyonlar, varsa geçmişteki meme kanseri öyküsü, adet dönemi-menopoz, meme dokusunun yoğunluğu, kanser dışı meme hastalıkları ve geçmişte uygulanan radyasyon tedavisi sayılabilir (18).

Yaş: Meme kanserinin gelişme riski yaşla beraber artış gösterir. 40 yaşında bir kadın için bu risk %1,5 iken 50 yaşında bir kadının %3 ve 70'li yaşlarda %4 olarak devam eder. Meme kanserli hastaların ortalama olarak %80'i 50 yaş üstü bireylerdir (19). Yaş ilerledikçe meme kanseri riski artmaktadır (20).

Cinsiyet: Meme kanseri riskindeki en büyük ana faktör kadın cinsiyetidir. Hormonal olarak dolaşımdaki östrojenler ve androjenlerin artması bununla doğrudan ilişkilidir (21). Erkeklerde meme kanseri riskinde etkili faktörler arasında, BRCA2/BRCA1 mutasyonları, ilerlemiş yaş, artan östrojen seviyesi, Klinefelter sendromu (XXY sendromu) ve radyasyona maruz kalma durumu vardır (22).

Aile Öyküsü: Kişinin önceki öyküsünde invaziv meme kanseri, duktal karsinom in situ (DCIS) veya lobüler karsinom in situ (LCIS) öyküsü, ayrıca benign proliferatif hastalık gösteren meme biyopsileri, meme kanseri riskini artırmaktadır. Hastanın birinci derecede akrabalarında görülme riski oldukça yüksektir. Bu durum aynı zamanda epigenetik değişiklikler tarafından da yönlendirilmektedir. Eğer ailede over kanseri hikayesi bulunuyorsa meme kanseri olma ihtimali daha yüksektir. En yaygın duyarlılık genleri BRCA1/BRCA2'dir (23).

Genetik Faktörler: Birinci derece akrabalarında meme kanseri bulunan bireyler, önemli ölçüde artmış bir meme kanseri riski taşırlar. BRCA1 (17q21) ve BRCA2 (13q13), homolog rekombinasyon yoluyla DNA onarımında görev alan iki önemli genlerdir (23). BRCA1 ve BRCA2 dışında, diğer yüksek penetranslı genler arasında PTEN, TP53, CDH1 ve STK11 yer alır. Ayrıca DNA onarımı ve hücre döngüsü kontrolünde rol oynayan CHEK2, BRIP1, ATM ve PALB2 bulunur (24, 25).

İrk: Diğer ırklarla karşılaştırma yapıldığında, beyaz ırklarda meme kanseri insidansının daha yüksek olduğu belirtilmiştir (18).

Hamilelik ve Emzirme: Genç yaşta yapılan doğumun ve doğum sayılarının meme kanseri riskini azalttığı belirtilmiştir. Emzirme ve emzirme süresi de kanser riskinin azaltılmasında önemlidir.

Regl Dönemi ve Menopoz: Menarş ve menopoz yaşı, östrojen maruziyet süresi ile ilişkili olduğundan, önemli risk faktörleridir. Daha önce yapılmış birçok vaka-kontrol çalışması

menarş yaşının 15'ten büyük olmasının, menarş yaşı 12-13 veya daha küçük olanlara kıyasla meme kanseri riskini önemli ölçüde artırdığını göstermiştir. Bunun tersine, erken menopoz meme kanseri riskini azaltır; özellikle menopozu 55 yaş ve üzerinde yaşayan kadınlar ile 45 yaşından önce menopoz yaşayanlar karşılaştırıldığında bu fark belirgindir. Ayrıca adet döngüsü özellikleri de meme kanseri riskini etkiler. Kısa ve düzensiz adet döngülerine eşlik eden yaşam boyu hormon tedavisine maruz kalma durumu da meme kanseri riskini ortaya çıkarabilir (26).

Obezite: Hormonal ve biyolojik yollarla meme kanserinin riskini arttıran durumlar arasında obezite yer alır. Premenopozal obez kadınlarda normal kilolu kadınlara göre riskin yükseldiği bildirilirken, postmenopozal kadınlarda bu oranın %25 olduğu belirtilmiştir (18).

Önceden Meme Kanseri Öyküsü: Tıbbi geçmişinde meme kanseri olan bir hastanın yeniden kanserli lezyon oluşturma ihtimali yüksektir.

Meme Dokusunun Yoğunluğu: Meme dokusu, fibroz, glandüler ve yağ dokusundan oluşur. Meme yoğunluğu, mamografi ile ölçülür ve memelerdeki fibröz ve glandüler dokunun, yağ dokusuna oranıyla tanımlanır. 40 yaş ve üzerindeki kadınların neredeyse yarısının yoğun meme dokusuna sahip olduğu, bunun kalıtsal faktörler, üreme faktörleri ve vücut kitle indeksi ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Yoğun meme dokusuna sahip kadınlar, yağlı meme dokusuna sahip kadınlara göre daha yüksek meme kanseri riski taşırlar. Bu eğilim, farklı yaş grupları ve menopoz durumları arasında tutarlı bir şekilde görülmektedir. Yoğun meme dokusu, mamografide erken dönem meme kanserinin tespit edilmesini zorlaştırır ve bu da tanı ve tedavide gecikmelere yol açar. Ayrıca, meme kanseri genellikle epitelyal hücrelerden kaynaklanır ve yoğun meme dokusu, epitelyal bileşenlerin daha fazla olması nedeniyle meme kanseri gelişme olasılığını artırır. Bununla birlikte, yoğun meme dokusuyla ilişkili meme kanserinin agresif biyolojik özelliklerine rağmen, yoğun meme dokusuna sahip hastalar ile yağlı meme dokusuna sahip hastalar arasında ölüm oranı açısından önemli bir fark tespit edilmemiştir (27,28).

Radyasyona Maruziyet: Radyasyona maruz kalınan yaş oldukça önemlidir. 20 yaş ve altındaki bireylerin radyasyona maruz kalmasının, 40 yaş sonrası maruziyete kıyasla daha yüksek risk oluşturduğu ifade edilmiştir. Aynı zamanda düşük dozda da olsa meme

bölgesine yapılan radyografi ve mamografinin kanser riskini artırdığı belirtilmiştir (29). Tanı koyma amaçlı yapılan bu testlerin ortaya koydukları risk göz önünde bulundurulmalı ve hastanın en iyi yararına olacak şekilde karar verilmelidir (30).

Hormon Replasman Tedavisi: Gebelikte dietilstilbestrol alımının daha sonra çocuklarda meme kanseri riskini arttırabileceği bildirilmiştir. 40 yaş üstündeki kadınlar, 40 yaş altındakilere göre 1,9 kat daha duyarlıdır. Bu durum da riskin yaşla birlikte arttığını göstermektedir (31). 7 yıldan fazla HRT alanların meme kanserine yakalanma riskinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (32).

Fiziksel Aktivite: Düzenli ve orta seviye yapılan fiziksel aktivitenin kanser riskini %10-%50 oranlarında azalttığı bildirilmiştir. Fiziksel aktivite, vücut yağ oranının düşmesi ve buna bağlı olarak endojen cinsiyet hormonlarına maruziyetin azalmasına katkı sağlamaktadır (33).

Alkol ve Sigara Tüketimi: Yapılan bir çalışmada düzenli olarak alkol tüketmenin meme kanseri için risk potansiyelini artırdığı belirtilmektedir (34). Sigara içme, premenopozal kadınlarda meme kanseri riskinde hafif bir artış ile ilişkilendirilmektedir (35, 36).

Yapay Işığa Maruziyet: Yakın zamanda yapılan çalışmalarda gece saatlerinde yapay ışık altında bulunma, bireylerin daha az maruz kalanlara göre, daha fazla meme kanseri riski taşıdığı bildirilmiştir. Bunun sebebinin ise biyolojik saat ve buna bağlı olarak ortaya çıkan epigenetik değişikliklerin etkisinin olduğu bildirilmektedir (37).

İlaç ve Benzeri Kimyasallar: İlaçların ve kimyasal maddelerin meme kanseri riskiyle ilişkisi, kullanılan ilaçların içerdiği kimyasalların, hormon seviyelerini değiştirmesi veya hücre büyümesi üzerinde etkili olması nedeniyle önemlidir. Bu ilaçlar arasında statinler, antihipertansif ilaçlar, antidepresanlar yer alır (38).

2.4.3. Meme Kanserinin Belirti ve Bulguları

Meme sağlığı açısından memelerin görünümü büyük önem taşır. Normal yapının bilinmesi, meme sağlığının korunmasının önemli bir parçasıdır. Yapılan düzenli tarama testlerinin yanı sıra, kendi kendine meme muayenesi (KKMM) de erken tanı için büyük rol oynamaktadır. Bu yüzden, kişinin meme yapısını tanıması, meme kanseri belirtilerini ve memedeki değişiklikleri zamanında fark etmesi gereklidir. Meme kanserinde en

yaygın belirti memede kitledir. Kitlede ağrı olması durumunda, genellikle meme kanseri şüphesi düşülmez. Ancak, ileri evre meme kanserlerinde ağrı da gözlemlenebilir (Tablo 2-1).

Tablo 2-1: Meme Kanserinde Belirti ve Bulgular

| Belirti-Bulgular | Yorum |
|------------------------------------|--|
| Kitle | Kitlede ağrı yoktur. Hareket yoktur. Kitle büyüklüğü ortalama 1-2 cm'dir. Belli bir şekli yoktur ve zor palpe edilir. |
| Ağrı | Başlangıçta %90 ağrısız bulgu verir. Ağrı oluşumu ileri evrede gözlenmektedir. |
| Meme üzerindeki deride ödem olması | Tümör hücrelerinin lenf damarlarına yayılması sonucunda lenflerin tıkanarak dolaşımın bozulmasına sebep olarak ödem oluşturması durumudur. |
| Meme başı akıntısı | Az rastlanan bir durumdur. Tek taraflı olabilir ve genellikle kanlıdır. |
| Forge belirtisi | Tümörlü memenin görüntüsü yukarıda, dik ve dolgundur. Memenin üst kadranslarında meme başının kitleye doğru çekilmesiyle meydana gelir. |
| Meme başında içeriye doğru çekilme | Tümörün büyümesiyle birlikte meme başına yayılması sonucu meydana gelir. |

| | |
|-----------------------------|---|
| Lenf nodüllerinde büyüme | Tümörün lenf bezlerine metastaz yapması sonucunda gelişir. |
| Üst kolda şişkinlik durumu | Lenf tıkanıklığı nedeniyle lenf akışı bozulur ve kolda ödem oluşur. |
| Deride ülserasyon ve eritem | Kanserin ileri dönemlerinde tümör hücrelerinin önce derin fasyaya ardından M.Pektoralis'e ve göğüs duvarına doğru ilerlemesiyle ortaya çıkar. |

Meme kanseri, fibrozisle giden malign bir süreçtir. Bu süreçle beraber deri dokusunun çevresi fibrotik dokuyla çekilir. Bunun sonucunda meme derisinde büzülmeler ortaya çıkabilir. Orta bölgede yer alan tümörlerde, meme başı tümörlü bölgeye doğru çekilerek yer değiştirebilir (39). Meme kanseri, lenfatik ve vasküler sistemler aracılığıyla vücuda dağılır. En çok; kemik (%71), akciğer (%69), karaciğer (%65), plevra (%51), adrenal bez (%49), deri (%30) ve beyine (%20) metastaz yapar (40). Özellikle ileri evre meme kanserinde, metastazın gerçekleştiği organa bağlı olarak meme dışı belirtiler de görülebilir. Beyin metastazı durumunda zamanla gelişen nörolojik bozukluklar veya inme benzeri bir klinik tablo ortaya çıkabilirken, kemik metastazı durumunda sırt ve bel ağrıları görülebilir. Ayrıca, yorgunluk, halsizlik ve kilo kaybı gibi genel belirtiler de gözlemlenebilir (41, 42).

2.4.4. Meme Kanseri Tanı

Anamnez, fiziksel muayene, görüntüleme ve biyopsi yöntemleri ile tanı konulmaktadır.

2.4.4.1. Anamnez

Memesinde kitle bulgusu şikayetiyle gelen hastanın, öncelikle kitleyi ne zaman ve hangi şekilde fark ettiği, boyutunda zamanla bir değişiklik olup olmadığı sorgulanmalıdır. Malign özellik taşıyan kitleler genellikle zamanla büyüme eğilimindeyken, benign kistler, foliküler faz sırasında küçülebilirler. Fizik muayene sırasında memelerin genel yapısı,

simetrisi ile cilt görünümü değerlendirilir. Deride meydana gelen yeni değişiklikler ya da uzun süredir var olan bulgular kaydedilmelidir. Eğer mevcut kitle ağırlıysa, ağrının adet döngüsüyle ilişkisi ve zaman içindeki değişimi, yani azalıp azalmadığı gibi detaylar araştırılmalıdır.

Hastanın meme başı akıntısı şikayeti varsa, bu akıntının tek ya da iki taraflı olup olmadığı, kendiliğinden meydana gelip gelmediği, rengi, miktarı ve sıklığı gibi özellikler öğrenilmelidir. Patolojik meme başı akıntıları genellikle tek taraflıdır, tek bir kanaldan gelir ve kanlı ya da seröz karakterde olabilir. Bunun yanı sıra, hastanın öyküsü detaylı bir şekilde ele alınarak meme kanseri açısından bilinen risk faktörleri incelenmelidir. İlk adet yaşı, menopoz durumu, ilk doğumun gerçekleştiği yaş, gebelik sayısı, doğum sayısı, emzirme süresi, HRT geçmişi, alkol-sigara kullanımı gibi bilgiler alınmalıdır. Ayrıca, hastanın daha önce geçirdiği meme biyopsileri ve sonuçları sorgulanmalıdır.

Hastanın boy ve kilosu ölçülerek vücut kitle indeksi hesaplanmalı, premenopozal kadınlarda son adet tarihi ve adet düzenine ilişkin bilgi alınmalıdır. Tanı sırasında hastanın yaşı da dikkate alınmalıdır (43).

2.4.4.2. Memenin Fizik Muayenesi

Kendi Kendine Meme Muayenesi (KKMM)

Herhangi bir harcama gerektirmeyen ve kolayca uygulanabilen KKMM, özellikle tarama yöntemlerine erişimin sınırlı olduğu bölgelerde önerilmektedir. Türkiye'de, meme kanseri farkındalığını artırmak açısından KKMM'nin önemli bir rol oynadığına dair yaygın bir kanaat bulunmaktadır (44).

KKMM'ye 20 yaşından itibaren başlanması tavsiye edilmektedir. Premenopozal kadınlar için her ay adet döneminin bitimini takip eden bir hafta içinde, postmenopozal kadınlar içinse her ay aynı gün yapılması önerilir. Gebelik ve emzirme süreçlerinde de düzenli olarak her ay KKMM yapılması gereklidir. Emzirme döneminde, bu kontrolün emzirdikten sonra gerçekleştirilmesi uygun görülmektedir (45).

KKMM İki adımda uygulanır.

Gözle değerlendirme: İyi aydınlatılmış bir ortamda, farklı pozisyonlarda yapılmalıdır. Kişi aynanın karşısına geçerken eller kalçada, kollar yanlarda serbest, eller yukarıda, avuçlar öne dönük ve vücut öne doğru eğilmiş şekilde durmalıdır. Bu pozisyonlarda, memelerde belirgin şişlik, portakal kabuğu görüntüsü, meme ucunda çekilme, renk değişikliği veya asimetri olup olmadığı dikkatlice incelenmelidir (45).

Elle değerlendirme: İlk olarak, muayene edilecek alan belirlenmelidir. Bu alan, yatayda göğüs kemiğinin ortasından koltuk altına kadar, dikeyde ise köprücük kemiğinden memenin birkaç santimetre altına kadar olan alandır. Bu inceleme sırasında koltuk altları da gözden geçirilmelidir (46).

Klinik Meme Muayenesi

Klinik Meme Muayenesi (KMM), tıbbi ekipler tarafından gerçekleştirilen muayenedir. Bazı çalışmalara göre, yalnızca KMM ile doğru tanı koyma oranı %35 ile %85 arasında değişmektedir (47). Menopoza girmemiş kadınlarda, adet sonrası hafta, yoğunluk ve hassasiyet açısından fiziksel muayenenin en etkili olduğu dönemdir. Emziren kadınların muayenesi, emzirme sonunda yapıldığında daha doğru sonuçlar verebilir (48).

KMM üç basamakta yapılmaktadır:

İnspeksiyon: Doktor, hastayı ayakta dururken, elleri yanlarda, yukarıda ve belini tutarak değerlendirir. Bu aşamada dikkat edilecek hususlar, ciltte ve memede herhangi bir çekilme olup olmadığı, deride kızarıklık, şişlik ve ödem olup olmadığıdır. (39).

Aksilla palpasyonu: Hasta sırt üstü yatmadan önce, doktor sağ kolu sağ eliyle tutarak, sol eliyle sağ koltuk altını muayene eder. Aynı şekilde sol aksilla da değerlendirilir. Ayrıca, supraklavikular ve parasternal bölgeler de palpasyonla incelenir. Değerlendirilen lenf nodlarının yerleri, boyutları, dokuları, şekilleri, yüzeyle ve hareketliliği not edilir. En etkili yöntem, bu bulguların çizimle kaydedilmesidir (39).

Meme palpasyonu: Hasta sırt üstü pozisyondayken, avuç içi ile meme dokusuna baskı yaparak göğüs duvarına doğru palpasyon yapılır. Palpasyon, dıştan içe doğru radyal veya dairesel bir şekilde uygulanabilir (39).

2.4.4.3. Radyolojik Görüntüleme

Mammografi (MMG) ilk olarak 1960'larda yaygın olarak kullanılmaya başlanmış ve çeşitli uluslararası kılavuzlar tarafından önerilen ana tarama aracı olmaya devam etmektedir. Bu süreçte, hastanın meme dokusu bir plaka yardımıyla sıkıştırılır. Genellikle 20 ila 30 kVp arasında değişen düşük enerjili X-ışınları, meme dokusunu geçerek iki boyutlu mamogramlar oluşturur. Mamogramlar, kitleler, kalsifikasyonlar ve mimari bozulmalar gibi çeşitli meme anormalliklerini tespit etmede etkilidir (49). Mamogramlarda tespit edilen meme lezyonları, bulguları 0'dan 6'ya kadar yedi kategoriye ayıran Breast Imaging Reporting and Data System (BI-RADS) kullanılarak sınıflandırılmaktadır (50) (Tablo 2-2).

Tablo 2-2: BI-RADS sınıflama sistemi

| BI-RADS | | |
|---------|--|---|
| 0 | Daha fazla tanımlamaya ihtiyacın olduğu durumlar | Ek görüntüleme önerilir, MMG veya USG, MR |
| 1 | Negatif (lezyon olmadığı durum) | MMG takibi önerilir |
| 2 | Benign bulgular | MMG takibi önerilir |
| 3 | Yüksek ihtimal benign bulgular | Yakın takip önerilir |
| 4 | Şüpheli malignite | İğne biyopsisi önerilir |
| A | Düşük malignite şüphesi | |
| B | Malignite için orta düzey şüpheli | |
| C | Yüksek malignite kuşkusu | |
| 5 | Çok yüksek ihtimal malignite | Biyopsi |
| 6 | Histopatolojik tanı | |

Floro-2-deoksi-d-glukoz (FDG)- Pozitron Emisyon Tomografisi (PET) yöntemi, kanser tanısı almış hastaların primer lezyon tanısında, metastatik durumların gösterilmesinde ve tedaviye başladıktan sonra kemoterapiye verilen cevabı değerlendirmede kullanılan bir

görüntüleme yöntemidir. Bu yöntemde glukozun normal dokulardan daha çok malign dokularda tutulduğu görülmüştür (51).

Ultrasonografi (USG), ses dalgalarını kullanarak vücuttaki organların ve dokuların görüntülenmesini sağlayan bir tıbbi görüntüleme yöntemidir. Organlarda veya dokularda bulunan kitlelerin varlığını saptamak için kullanılır. Özellikle yumuşak dokularda, tiroid, meme, karaciğer, böbrek ve prostat gibi organlarda kitlelerin değerlendirilmesinde etkili bir yöntemdir. MMG ve USG mümkünse her ikisi de beraber yapılmalıdır. Yapılan görüntüleme ardından kesin tanı için biyopsi önerilmektedir (52). Görüntüleme ve muayene işleminde aksillada patolojik lenf nodlarının varlığında da biyopsi yapılmalıdır (53).

2.4.4.4. Tümör Belirteçleri

Meme kanserinde erken teşhiste ya da kanser takibinde ortaya çıkabilecek nükslerin tespiti için değerlendirilmektedir. Birçok kanser türünde bu belirteçler kullanılmaktadır. Aynı zamanda genetik aile öyküsü olan hastalarda da erken tanı için oldukça önemlidir. Meme kanserinde yaygın kullanılan tümör belirteçleri kanser antijeni (CA)15-3 ve karsinoembriyonik antijen (CEA) dir. CA 15-3, Mucin-1 (MUC-1) geninin ürünü olan bir proteindir ve hücrelerin birbirine tutunması, bağışıklık sistemini baskılama ve metastazdan sorumludur. Normal meme dokusuna göre, MUC-1 geni kanserli meme dokusunda daha yüksek konsantrasyonda bulunur. CEA, yaklaşık %40-55 karbonhidrat içeren ve molekül ağırlığı 150-300 kDa arasında değişen bir glikoprotein türüdür. Meme kanserlerinin yaklaşık %15-20'si HER2 pozitif olarak sınıflandırılır. Bu durum, tümörün genetik özelliklerinin bir sonucu olarak HER2 proteininin aşırı üretildiği anlamına gelir. Bu tümör biyobelirteçleri kolorektal kanser, karaciğer, meme, over ve gastrointestinal sistem kanserinde kullanılmaktadır.

2.4.5. Meme Kanseri Histopatolojisi

Memede görülebilen maligniteler arasında karsinom, sarkom, lenfoma, lösemi, metastatik meme lezyonları vardır. Meme kanserlerinin büyük bir kısmını malign tümörler oluşturur. Bu tümörler, hedeflenen hücrelerdeki farklılıklar, çeşitli onkogenlerin aktive olması ve tümör supresör genlerinin işlev kayıpları nedeniyle farklı özellikler gösterir. Bu sebeplerle, morfolojik ve klinik özellikleri, hormon reseptör düzeyleri ve

tedaviye verdikleri yanıtlar bakımından farklılıklar sergilerler ve bu özelliklere dayalı sınıflandırılmaları oldukça önemlidir (54, 55) (Tablo 2-3).

Tablo 2-3: Meme Karsinomu Histopatolojik Sınıflandırması

| | |
|---------------------------------|--|
| İnvaziv olmayan karsinom | Duktal karsinoma in situ Lobüler karsinoma in situ |
| İnvaziv karsinom | Duktal karsinom Lobüler karsinom Tübüler karsinom Medüller karsinom Müsinöz karsinom Papiller karsinom İnflamatuvar karsinom Mikropapiller karsinom Sekretuar karsinom Metaplastik karsinom Nöroendokrin karsinom Apokrin karsinom Paget hastalığı |

2.4.5.1. İnvaziv Olmayan Karsinom

Duktal Karsinoma İn situ

Duktal karsinoma in situ (DKİS), memenin süt kanallarından kaynaklanan ve bazal membranı geçmeyen bir meme kanseri türüdür (56).

DKİS memenin non-invaziv tümörü olup davranışsal yapısı, tümörün evresine ve doku özelliklerine göre değişiklik gösterir. DKİS %70 oranında postmenopozal kadınlarda ve ortalama 50 yaş civarında görülmektedir (57).

Lobüler Karsinoma

Lobüler karsinoma in situ (LKİS) asiner hücrelerin atipik çoğalmasını ifade eder. LKİS tanısı genellikle başka bir nedenle biyopsi yapılan hastaya tesadüfen konur. DKİS'e kıyasla kitle oluşturmayıp, meme başında akıntıya sebep olmaz (57).

2.4.5.2. İnvaziv Karsinom

İnvaziv Duktal Karsinom

İnvaziv duktal karsinom (IDK), yaygın görülen ve kötü prognoza sahip meme kanseri türüdür. Meme kanserlerinin yaklaşık %80'ini oluşturur ve bu tümörler, terminal duktal yapılarından türetilir (58).

İnvaziv Lobüler Karsinom

Meme kanserleri arasında ikinci sırada yer alan bu tip, genellikle HRT gören kadınlarda daha sık görülür ve vakaların %5-14'ünü oluşturur. Histolojik olarak sıklıkla LKİS alanlarına sahip olurlar. Genellikle diffüz bir büyüme paterni gösterir veya yapısal bir bozulma yaratacak şekilde gelişirler. Kitle oluşturmayıp, fibrozis içermedikleri için, MMG'de tespit edilemeyebilirler (59).

Tübüler Karsinom

Tübüler karsinom, meme kanserleri arasında yaklaşık %2'lik bir orana sahiptir. Tarama mamografisinin yaygınlaşmasının sonucu olarak 1 cm'den küçük tümörler tanıda erken tespit edilmeye başlanmıştır. Tübüler karsinomlar genellikle 1 cm'den küçük,

makroskopik olarak düzensiz, sert kıvamlı kitle meydana getirirler. Tübüler karsinomda genel olarak aksiller metastaz %10'dan azdır ve prognoz oldukça iyidir (58).

Medüller Karsinom

Meme kanserlerinin %5-7'sini oluşturur. 35 yaş altında görülen meme kanserlerinin %11'ini oluşturarak diğerlerine göre daha genç yaşta görüldüğü bildirilmiştir. Sıklıkla BRCA-1 geninde mutasyon taşıyan kadınlarda gözlenmektedir. Düzgün kontürlü ve iyi prognozludur (60).

Müsinöz Karsinom

Yaşça büyük kadınlarda, meme kanserlerinin %1-7'sini oluşturur. Karakteristik olarak kalsifikasyon içermez ve sınırları iyidir. Tümör genel olarak yavaş ilerler, lenfatik yayılım çok azdır ve prognozu iyidir (58).

Papiller Karsinom

Bu karsinom tipi, tüm vakaların %1-2'sini kapsar ve yaşça büyük kadınlarda gözlenir. Boyut olarak genellikle küçüktür. Papiller karsinomlar kist duvarından köken alırlar. Karakteristik olarak kist duvarında belirsiz sınırlarla bulunan bir lezyon şeklinde görülür. MMG'de geniş ve iyi sınırlıdır ve çoğunlukla daha büyük kitleler gözlenir (61).

Inflamatuvar Karsinom

Vakaların %3'ünden azını kapsar. Karakteristik olarak meme derisinde; inflamasyon, sıvı birikimi ve portakal kabuğu etkisi vardır. Kitle bulgusu da gözlenebilir. Mamografide en karakteristik bulgu memede homojen doku yoğunluğunun artmasıyla seyreden, cilt-cilt altı dokusunun kalınlığı görülmektedir (58).

Paget Hastalığı

Paget hastalığı (PH) vakaların %1-3'ünü oluşturur. Nadir de olsa erkeklerde de görülmektedir. Olguların %15'inde meme başı belirtileri görülmemekle beraber daha çok postmenopozal kadınlarda bildirilmiştir. Tümörün boyutu ve lenf nodu tutulumu, ölüm riski üzerinde belirleyici faktörlerdir (62).

2.4.6. Meme Kanserinde Evreleme

Tümör-nod-metastaz (TNM) sistemi, günümüzde kanser evreleme yöntemi olarak kullanılmakta olup, 1942 yılında Pierre Denoix tarafından geliştirilmiştir. TNM evreleme sistemi, tümörün temel morfolojik özelliklerini; primer tümörün boyutunu (T), bölgesel lenf düğümlerinin etkilenme durumunu (N) ve uzak metastazın varlığını (M) esas alarak tanımlamaktadır (63) (Tablo 2-4, Tablo 2-5, Tablo 2-6).

1958 senesinde Uluslararası Kanserle Mücadele Derneği (UICC) ve 1977 yılında Amerikan Kanser Ortak Komitesi (AJCC) TNM evrelemesini geliştirip düzenleyerek yeniden yayınlanmıştır. 1987 yılında yeni güncellemelerle UICC ve AJCC birlikte ortak bir TNM evreleme sistemi yayınlanmış ve daha sonra yeni gelişmeler ile klinik veriler ışığında düzenli olarak TNM evreleme sistemi düzenlenmeye devam edilmiştir. Meme kanseri biyolojisindeki ilerlemeler ve güncel klinik veriler doğrultusunda, TNM evreleme sistemi UICC ve AJCC tarafından belirli aralıklarla yenilenmektedir. İlk düzenleme 1977 yılında yayınlanırken toplamda sekiz kez düzenleme yapılmıştır (64, 65) (Tablo 2-7).

Evrelendirme sistemi kanser tanı ve tedavisinde oldukça önemlidir. Her kanser için uygun tedavi seçeneğini belirlemek, diğer tedavi şekilleriyle kıyaslamak ve prognozu tahmin edip hastaları gruplandırmak için gerekli bilgiyi sağlamaktadır. Aynı zamanda bu çalışma kanser araştırmaları yürüten klinisyenler, halk sağlığı uzmanları ve epidemiyologlar arasında ortak bir terminolojinin benimsenmesini sağlamıştır.

Önceden meme kanseri teşhisi konmuş hastalarda evreleme ve tedavi planlaması, kanserin anatomik yayılımına göre gerçekleştirilmiştir. Günümüzde östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR) ve insan epidermal büyüme faktör reseptörü 2 (HER2) gibi hastalık seyri ve tedavi yanıtını öngören biyobelirteçler hem yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine hem de tedavi yanıtının tahmin edilmesine önemli katkılar sağlamaktadır. (67, 68).

Evreleme son sisteme göre anatomik ve prognostik olarak gruplandırılmıştır. Tümör boyutu ve metastazı içeren sistem anatomik evrelemedir. Tümörün derecesini, hormon reseptörlerini ve onkogen ekspresyonunu içeren sistem prognostik evrelemedir (69). Primer tümör boyutu (T); fizik muayene, mamografi, ultrasonografi ve magnetik rezonans gibi klinik veriler ve patolojik verilerle mm olarak ölçülür (Tablo 2-4).

Tablo 2-4: Primer Tümör (T) Evrelemesi -Anatomik

| T | T kriteri |
|-------------|---|
| Tx | Değerlendirme yok |
| T0 | Primer tümör bulgusu yok |
| Tis (DCIS) | Duktal karsinom in situ |
| Tis (Paget) | İnvaziv karsinom veya duktal karsinom in situ (DCIS) ile ilişkili olmayan Paget Hastalığı |
| T1 | Tümörün boyutu ≤20 mm |
| T1mi | Tümörün boyutu≤1 mm (mikroinvaziv karsinom) |
| T1a | Tümörün boyutu>1 mm fakat≤5 mm |
| T1b | Tümörün boyutu>5 mm fakat≤10 mm |
| T1c | Tümörün boyutu>10 mm fakat≤20 mm |
| T2 | Tümör boyutu>20 mm fakat≤50 mm |
| T3 | Tümör boyutu>50 mm |
| T4 | Deriye direkt yayılım gösteren tümör |
| T4a | Göğüs duvarı invazyonu |
| T4b | Makroskopik deri değişiklikleri olan tümör |
| T4c | T4a-T4b varlığı |
| T4d | İnflamatuvar karsinom |

Tablo 2-5: Bölgesel lenf nodları sınıflaması (cN)

| | cN kriteri |
|-------|--|
| cNx | Önceden çıkarılmış değerlendirilemeyen tutulum |
| cN0 | Bölgesel lenf nodu metastazı saptanmamış |
| cN1 | İpsilateral mobil level I, II aksiller lenf nodlarına metastaz |
| cN1mi | Mikrometastazlar |
| cN2 | İpsilateral klinik olarak fikse yapmış level 1, 2 aksiller lenf nodu metastazı veya ipsilateral internal nodlarına metastaz |
| cN2a | İpsilateral birbirine veya diğer yapılara fikse level 1,2 aksiller lenf meme nodlarına metastazı |
| cN2b | Aksiller lenf nodu metastazı olmadan ipsilateral internal meme nodlarına metastaz |
| cN3 | Level I, II aksiller lenf nodu tutulumu olsun veya olmasın ipsilateral infraklaviküler (level III aksiller) lenf nodlarına metastaz; veya level I, II aksiller lenf nodu metastazı ile ipsilateral internal memelil lenf nodlarına metastaz; veya aksiller veya internal mammarian lenf nodu tutulumu olsun veya olmasın ipsilateral supraklaviküler lenf nodlarına metastaz |
| cN3a | İpsilateral infraklaviküler lenf nod(lar)a metastaz |
| cN3b | İpsilateral internal mammarian lenf nod(lar)a ve aksiller lenf nod(lar) a metastaz |
| cN3c | İpsilateral supraklaviküler lenf nod(lar)a metastaz |

Tablo 2-6: Uzak Metastaz (M) sınıflaması

| M | M kriteri |
|----------|--|
| cM0 | Uzak metastaza ait klinik veri yok |
| cM0 (i+) | Uzak metastaza ait klinik veri yok fakat kan, kemik iliği veya bölgesel olmayan, 0.2 mm'den büyük olmayan tümör hücreleri var. |
| cM1 | Klinik ve görüntüleme verilerine göre var olan uzak metastazlar |

Tablo 2-7: Anatomik Evreleme sınıflaması

| Evre | T | N | M |
|-------------|----------|----------|----------|
| 0 | Tis | N0 | M0 |
| IA | T1 | N0 | M0 |
| IB | T0 | N1mi | M0 |
| | T1 | N1mi | M0 |
| IIA | T0 | N1 | M0 |
| | T1 | N1 | M0 |
| | T2 | N0 | M0 |
| IIB | T2 | N1 | M0 |
| | T3 | N0 | M0 |
| IIIA | T0 | N2 | M0 |
| | T1 | N1 | M0 |
| | T2 | N2 | M0 |
| | T3 | | M0 |
| | T3 | | M0 |
| IIIB | T4 | N0 | M0 |
| | T4 | N1 | M0 |
| | T4 | N2 | M0 |

| | | | |
|------|------------|------------|----|
| IIIC | Herhangi T | N3 | M0 |
| IV | Herhangi T | Herhangi N | M1 |

2.4.7. Meme Kanserinde Sinyal Yolakları

Hücrede sinyal iletiminde, proliferasyonda, hücresel gelişim sürecinde ve apoptozu düzenleyen yollarda ortaya çıkan değişimler önemli rol oynarlar.

2.4.7.1. PI3K/Akt/mTor Sinyal Yolağı

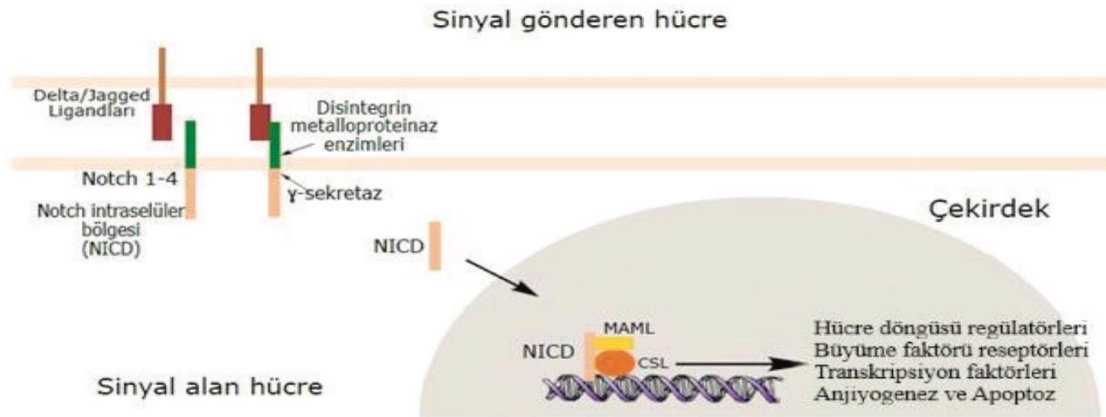
PI3K/Akt/mTOR (Fosfatidilinositol 3-Kinaz/Protein Kinaz B/Memelilerdeki Hedef Rapamisin, Mammalian Target of Rapamycin) sinyal yolağı, hücre büyümesi, proliferasyon ve hayatta kalma süreçlerini düzenleyen önemli bir hücresel yoldur. Meme kanseri gibi birçok kanser türünde, bu yolaktaki proteinlerin aşırı aktif hale gelmesi veya mutasyonlar yoluyla kontrolsüz çalışması, hücrelerin normalin dışında büyümesine, çoğalmasına ve metastaz yapmasına neden olabilir. PI3K/Akt yolak mutasyonları sık görülür ve en önemlisi, p110 α katalitik alt ünitesini kodlayan PIK3CA (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha) geninde meydana gelen mutasyonlardır. PIK3CA mutasyonları, ER+ ve HER2-meme kanseri alt tiplerinde daha sık görülür. Bu mutasyonlar, tümörlerin agresif özellikler kazanmasına, tedaviye direnç gelişimine ve hastalığın ilerlemesine neden olmaktadır. PTEN (Fosfataz ve tensin homoloğu) de sık değişikliğe uğrayan tümör baskılayıcı genler arasındadır. Bu mutasyonlar aminoasit rezidülerinin birbirleriyle yer değiştirmesi sonucunda ortaya çıkar. Mutasyonlar, düzenleyici bir alt birim olan p85 ile p110 α arasındaki etkileşimin inhibe edilmesine yol açarak enzimatik fonksiyonun artışına sebep olur. Bir diğer durum ise Akt'nin PH bölgesinde yer alan lizin (17.aminoasit) glutamik asit ile yer değiştirerek (E17K), serin/treonin kinazın plazma zarına sürekli olarak lokalize olmasına yol açar. Bu durum, Akt sinyal molekülünün aktivasyonunun artmasına neden olur (70).

HER2 hücrenin dışından sinyalleri alıp, hücrenin içerisine aktaran tirozin kinazdır. HER2'nin ekspresyonu ve amplifikasyonundaki artış meme kanseri patofizyolojisinde önemli rol oynar. Ayrıca HER2/HER3 kompleksinin uyarılması PI3K/Akt sinyal yolağını farklı bir şekilde hareketlendirmektedir (71, 72). PI3K/Akt sinyal yolağında meydana gelen mutasyonlar meme kanserinde HER2 hedefli tedavilere direnç gelişiminde aktiflerdir (72, 73).

2.4.7.2. Notch Sinyal Yolağı

İnsan embriyonik kök hücrelerinde Notch sinyalleri proliferasyon, farklılaşma ve apoptozun dengesinde rol oynar aynı zamanda hücre-hücre etkileşimlerinde, anjiyogenezde, kemoterapötik ilaç direncinde önemlidir (74, 75). Notch (Notch 1-4) reseptörleri transmembran protein yapısındadır ve Delta-benzeri (DLL1, 3, 4) ve Jagged (Jagged 1,2) ligandları Notch sinyal yolağının temel bileşenleridir (76).

Plazma membranında endoplazmik retikulum ve golgi tarafından işlenen reseptörün translokasyona uğraması sonucunda, sinyali başlatan hücrenin zarında aktif durumda bulunan Delta-benzeri ve Jagged ligandlarının bağlanması gerçekleşmektedir (77). Ligand ile reseptör arasında gerçekleşen bu aktivasyon sonucunda iki evreli yıkım meydana gelmektedir. Birinci yıkım disintegrin ve metalloproteinaz enzimleri (ADAM 10, ADAM 17) tarafından gerçekleşir ve elde edilen ürünün ikinci yıkımı, γ -sekretaz aracılığıyla hücre içerisinde gerçekleşir (78). Proteolitik yıkımdan sonra Notch hücre içi bölgesi (NICD) hücre nükleusuna geçerek DNA'ya bağlı olan CSL (CBF1/Su(H)/LAG-1) proteini ve Mastermind benzeri (MAML) proteiniyle etkileşimini gerçekleştirir (79).



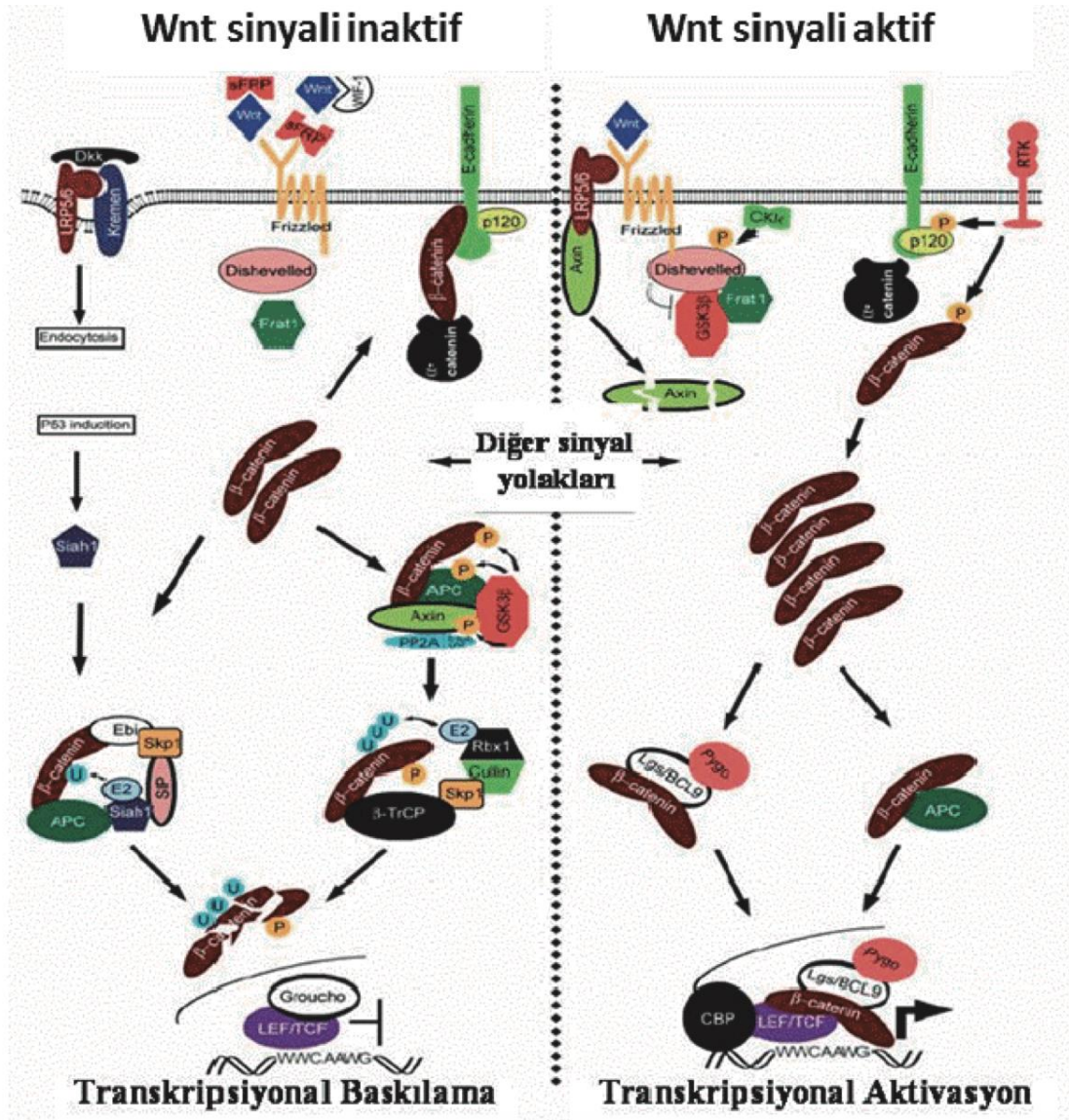
Şekil 2-2: Kanser kök hücrelerinde düzensiz işleyen Notch sinyal yolunun aktivasyonu.

Meme kanserinde Notch4 reseptör sinyal yolunun düzensiz işleyişinin, tümör oluşumunda önemli bir rol oynadığı ifade edilmiştir (80, 81) (Şekil 2-2). Ayrıca ER+ olan hücrelerin Notch1 sinyal yolağında anormal düzenlendiği bildirilmiştir (82).

NF- κ B (Nuclear factor-kappa B) ve TGF β (Transforming growth factor beta) sinyallerini, Notch sinyal yolları aktive ederek metastaz sürecinin temel basamağı olan epitelyal mezenkimal geçişi (EMT) indükler (83).

2.4.7.3. Wnt/beta catenin Sinyal Yolağı

Wnt ailesi, organ oluşumu, kök hücre yenilenmesi ve hücrenin sağkalımı gibi birçok hücreyel işlevde rol oynayan bir protein grubudur. İnsanlarda Wnt ailesi, reseptör ve ko-reseptör için ligand olarak görev yapan sistein açısından zengin glikoproteinlerden oluşur. Ekstraselüler Wnt, çeşitli hücre içi sinyal iletim yollarını tetikleyebilir; bunlar arasında Wnt/ β -katenin bağımlı veya klasik yolak ve β -katenin bağımsız veya klasik olmayan yolak yer alır (84). Hücre yüzeyindeki Frizzled (Fz) adlı reseptöre ve Fz'nin yardımcı reseptörü olan LRP5/6'ya bağlanarak hücre içinde sinyal iletiminin başlamasına neden olur. Bu şekilde, Wnt sinyal mekanizmasının tetiklenmesi için gerekli olan üçlü kompleks (Fz-Wnt-LRP5/6) birbirine bağlanmış olur. Bu bağlanmanın ardından sinyal, önce sitoplazmaya iletilir ve DVL (dishevelled) fosforilasyonu uyarılır. Bu fosforilasyon, Axin, APC (adenomatöz polipozis koli), CK1 (kazein kinaz 1) ve GSK-3 (glikojen sentaz kinaz 3) içeren yıkım kompleksini bozarak, β -kateninin stabilizasyonunu sağlar ve β -kateninin nükleusa taşınmasına olanak tanır. Nükleusa giren β -katenin, transkripsiyon faktör ailesi olan TCF/LEF (T-hücre faktörü/lenfoid güçlendirici faktör) üyelerine bağlanarak, koaktivatörler p300 ve CBP (CREB-bağlayıcı protein) yardımıyla hücre çoğalmasını destekleyecek birçok Wnt hedef geninin transkripsiyonunu başlatır. Wnt ligandının bulunmadığı durumlarda, sitoplazmadaki β -katenin yıkım kompleksi tarafından işaretlenir. CK1 ve GSK3 bileşenleri, β -kateninin N terminalindeki serin ve treonin kalıntılarını fosforiller. Fosforillenmiş β -katenin, transducin tarafından tanınır ve transducin, β -kateninin proteazom yoluyla yıkımını başlatır (85, 86) (Şekil 2-3).



Şekil 2-3: Wnt/ β -Katenin Yolağı

Normal somatik kök hücreleri ile kanser kök hücreleri çoğunlukla aynı hücre yüzeyi işaretçilerini taşırlar. Araştırmalarda, meme kanserinde belirli belirteçleri ifade eden kanser kök hücresi benzeri hücreler tanımlanmıştır. Bunlar, yüksek seviyede CD44 ve düşük seviyede CD24 yüzey belirteci ifade etmektedir. CD44 ve CD24 hücre yüzeyi belirteçleri, Wnt genleri arasında yer alır. CD44, LRP6 aktivasyonu aracılığıyla Wnt sinyal yolunun pozitif düzenleyicisi olarak işlev görür. Ayrıca, hücre yüzeyinde β -katenin ile bağlantılı olarak düşük seviyede ifade edilen E-kadherin, β -kateninin nükleer translokasyonunu ve Wnt sinyalinin etkinleşmesini teşvik eder. Buna ek olarak, birçok Wnt/ β -katenin hedef geni invazyon, göç ve metastazla ilişkilendirilmiştir.

Wnt proteinleri, farklı reseptörlere bağlanarak çeşitli sinyal yollarını aktive eder. Kanonik Wnt sinyal yolu, β -katenine bağlı olarak çalışır ve TCF ile LEF bu süreçte yer alır. Bu yol, özellikle meme kanseri hücrelerinin çoğalmasını ve kök hücre özelliklerinin korunmasını sağlar. Artan bulgular, β -katenin'e bağlı olmayan iki önemli Wnt yolu olan Wnt-PCP ve Wnt- Ca^{+2} sinyal yollarının, meme kanseri hücrelerinin metastazında rol oynadığını göstermektedir. Meme kanserinin tedaviye karşı direnç geliştirmesi ve hücrelerin özelliklerinin şekillenmesi ise oldukça karmaşık süreçler olup, her zaman kanonik ve kanonik olmayan Wnt yollarının birbiriyle etkileşimi ve iş birliği ile gerçekleşmektedir.

Wnt sinyalinin aktivasyonunun meme tümör oluşumunda önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Bu durum Wnt'lerin epigenetik olarak aktive edilmesi ve Wnt inhibitörlerinin etkisiz hale getirilmesinden kaynaklanmaktadır. Meme kanserinde Wnt5a'yı taklit eden Foxy-5 adlı heksapeptit, Wnt5a sinyalini yeniden oluşturarak meme kanserinin göç ve invazyonunu bozar. Bu molekül, metastatik meme, kolorektal ve prostat kanseri tedavisi için faz I klinik denemelerine (NCT02020291 ve NCT02655952) girmiştir ve Wnt5a'nın erken evre kolorektal kanser için neoadjuvan tedavi amacıyla faz II klinik denemesi (NCT03883802) yürütülmektedir. Ayrıca, kanonik ve kanonik olmayan birçok Wnt reseptörü, özellikle üçlü negatif meme kanseri (TNBC) ve bazal benzeri meme kanserinde (BLBC) artış göstermektedir. E-kadherin, β -katenin ile etkileşen bir protein olarak BLBC ve TNBC'de sık sık mutasyona uğramakta veya susturulmakta, bu da β -kateninin sitoplazma zarından sitoplazmaya salınmasına neden olmaktadır (87).

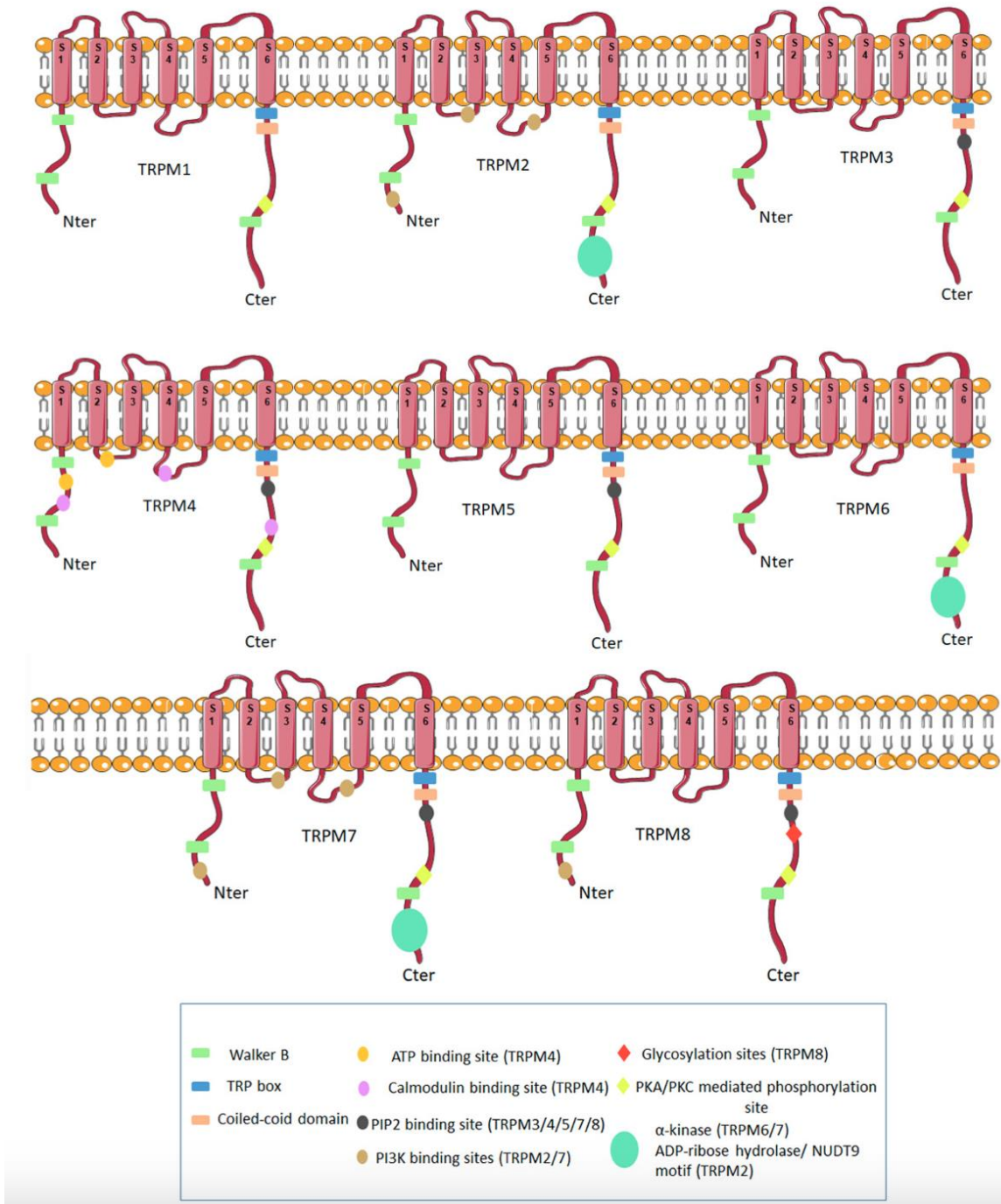
2.5. TRPM4 (Transient receptor potential cation channel subfamily M member 4- Geçici reseptör potansiyeli melastatin 4)

Geçici reseptör potansiyeli (TRP) ailesi, çoğunlukla Ca^{+2} , Mg^{+2} , Na^{+} gibi katyonları ileten iyon kanallarıdır. TRP kanalları, hücresel işlevlerden sorumludur ve bu kanalların birçoğu hücre içi Ca^{+2} homeostazını ve sinyalleşmesini düzenler. TRP kanalları yapısal benzerliklerine ve her ailenin aktivasyonundaki farklılıklara göre altı alt gruba ayrılır (88).

TRPM4, TRP kanalı ailesine ait bir alt gruptur. TRPM4 ve TRPM5 diğer TRP ailesi üyelerinden farklıdır çünkü Ca^{+2} iletmezler (89, 90). TRPM4, tek değerlikli iyonları ileten seçici olmayan bir katyon kanalıdır ve iki değerlikli katyonlara karşı geçirgen değildir. TRPM4'ün aktivasyonu ise hücre içi Ca^{+2} artışı ve ATP tükenmesiyle gerçekleşir. Bu nedenle, hücre içi Ca^{+2} ve ATP düzeylerini etkileyen iskemi gibi durumlar kanal aktivitesini artırabilir. TRPM4, Ca^{+2} iyonlarını iletmezler ama membran potansiyelini düzenleyerek dolaylı yoldan hücre içi Ca^{+2} seviyelerini düzenler (91). TRPM4 aktivasyonu üzerine Na^{+} girişi hücrel membran potansiyelini depolarize edebilir ve Ca^{+2} girişinin itici gücünü azaltabilir (92).

TRPM4'ün aynı zamanda bağışıklık tepkisini, insülin salgılanmasını, serebral kan akışını ve solunum aktivitesini düzenlediği bildirilmiştir (93). Birçok hastalıkta da önemli rol oynamaktadır. TRPM4'ün ekspresyonu, subaraknoid kanama, travmatik kafa yaralanması, omurilik yaralanması ve multipl skleroz gibi merkezi sinir sistemindeki birçok bozuklukta tanımlanmıştır (94).

Hipoksik bir mikroçevre, TRPM4'ün ekspresyonunun artmasına ve aktivitesinin belirgin şekilde yükselmesine neden olarak aşırı Na^{+} girişine yol açabilir. Bu durum, suyun Na^{+} iyonlarıyla birlikte hücre içine taşınmasını tetikleyerek hücre ölümüne ve dolayısıyla doku hasarına neden olabilir. (95). Kalpte, kardiyak blok öyküsü olan ailelerde TRPM4 mutasyonları bildirilmiştir. Bu mutasyonlar TRPM4 aktivitesini artırırken aksiyon potansiyeli yayılımını bozabilir ve kardiyak iletimin engellenmesine sebep olabilir (96).



Şekil 2-4: TRPM kanal ailesinin genel yapısı

(Tüm TRPM proteinlerinin N-terminal bölgesi, genellikle TRPC ve TRPV ailelerindeki aynı bölgelerden yaklaşık 300–400 amino asit daha uzundur. Bu bölgede ayrıca yaklaşık 700 amino asit uzunluğunda büyük bir TRPM homoloğluk domeni bulunmaktadır. TRPM ailesinin C-terminal dizileri ise oldukça değişiklik göstermekte olup, uzunlukları 1000 ile 2000 amino asit arasında farklılık göstermektedir (97)).

2.5.1. TRPM4'ün Genel Mekanizması

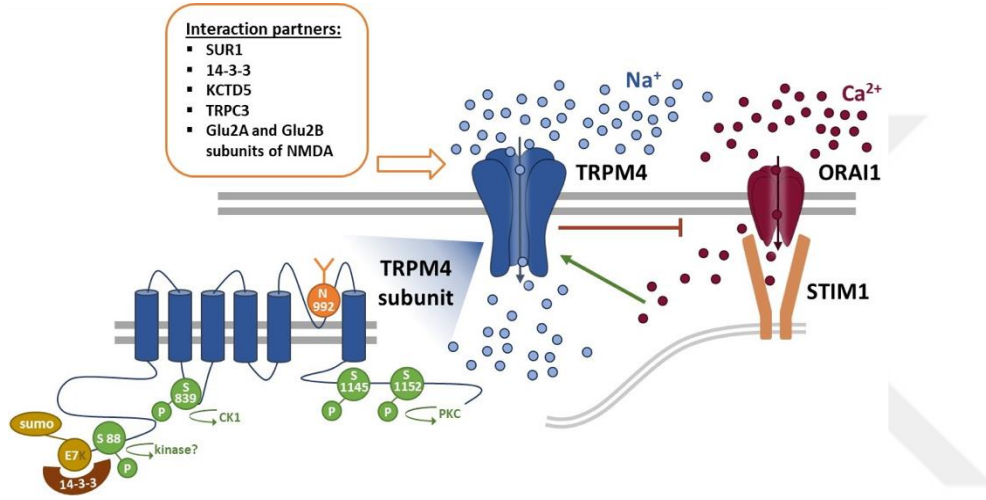
TRPM4'ün aktivasyonu hücreye Na^+ iyonları iletilir. Pozitif iyonların bu akışı plazma membranını depolarize eder ve böylece depo işletimli Ca^{+2} girişi (SOCE- Store-Operated Calcium Entry) ve diğer giriş yolları aracılığıyla Ca^{+2} girişi dengelenir. SOCE, hücre içinde kalsiyum depolarının (genellikle endoplazmik retikulum) boşalması sonucunda hücre zarından Ca^{+2} iyonlarının girişiyle gerçekleşen bir mekanizmadır. SOCE'nin regülasyonu ve aktivasyonu, birçok hücrenel süreç için önemlidir ve Ca^{+2} sinyalleşmesinde görev alan genlerin (örneğin, hücre büyümesi, farklılaşması ve bağışıklık yanıtları ile ilgili genler) ifadesini etkiler. SOCE, Ca^{+2} sinyalleşmesindeki değişikliklere, azalmış apoptoz, artmış proliferasyon ve migrasyon gibi kanserde ayırt edici faktörlere katkıda bulunmaktadır (98). SOCE, Ca^{+2} 'nin ana giriş yoludur. Çeşitli hücre dışı uyarıcılar, hücre içinde IP3 üretimini tetikler ve buna bağlı olarak endoplazmik retikulum, Ca^{+2} depolarının tükenmesine neden olur. Hücre içinde Ca^{+2} depoları boşaldığında, bu durum hücre dışından kalsiyum alımını artırmak için tetikleyici bir sinyal oluşturur. Bu süreç, genellikle STIM1 (stromal-interaction molecule 1) ve Orai1 gibi proteinlerin aktivasyonu ile gerçekleşir. STIM1, Ca^{+2} seviyeleri düştüğünde ER de Ca^{+2} yüklü olduğu yerlerde toplanır ve Orai1 ile etkileşime geçerek Ca^{+2} girişini sağlar. ER lümenindeki Ca^{+2} konsantrasyonundaki düşüş sırasıyla STIM1'in açılmasını ve ardından depo işletimli Orai1 Ca^{+2} kanallarının aktivasyonunu sağlar. SOCE sırasında Ca^{+2} girişiyle birlikte TRPM4 açılabilir. TRPM4, özellikle hücre içine Na^+ akışını artırır. Ca^{+2} ve Na^+ akışları, hücre içi potansiyeli etkileyerek depolarizasyonu artırır. TRPM4, hücre içindeki kalsiyum seviyelerinin düzenlenmesine katkıda bulunarak, aşırı kalsiyum yüklenmesini önler. Aksi takdirde, yüksek kalsiyum seviyeleri hücreyi zararlı etkilerle karşı karşıya bırakabilir. TRPM4 ve SOCE arasındaki dengenin bozulması, kalp hastalıkları, nörolojik bozukluklar ve inflamasyon gibi birçok hastalığın gelişiminde rol oynayabilir. Özetle, TRPM4, SOCE mekanizması ile entegre bir şekilde çalışarak hücre içindeki Ca^{+2} ve Na^+ dengesini düzenler, bu da hücrenel sinyal iletimini ve fizyolojik işlevleri etkiler. TRPM4, Ca^{+2} için geçirgen olmamasına rağmen, TRPM4 yoluyla Na^+ girişi, membran potansiyelini azaltır ve sıçan dış pulpası kök hücreleri, çeşitli bağışıklık hücreleri ve kanser hücreleri de dahil olmak üzere birçok farklı hücrede hücre içi Ca^{+2} sinyalizasyonunda azalmaya neden olur (99).

Hücre içi Ca^{+2} sinyalizasyonunu temelden değiştiren bir mekanizma, hücrel fonksiyonları geniş ölçüde etkiler ve eğer düzensiz hale gelirse, hücrel işlev bozukluklarına yol açar. Bu doğrultuda, TRPM4'ün vasküler endotel hücrelerin, dendritik hücrelerin, mast hücrelerinin ve T hücrelerinin Ca^{+2} bağımlı göçüne ve ayrıca T hücrelerinin sitokin üretimine dahil olduğu tanımlanmıştır. Ayrıca, TRPM4'ün fare embriyonik fibroblastlarında fokal adhezyon proteinleriyle ortak yerleştiği ve hücre göçü için önemli bir süreç olan fokal adhezyon döngüsünü düzenlediği belirtilmiştir (100). Kanserden kaynaklanan Ca^{+2} ve reaktif oksijen türleri (ROS) arasındaki etkileşimle ortaya çıkan değişiklikler, apoptozu indüklemeye yeteneğinde azalmaya, artan hücre çoğalmasına, hücre göçüne ve mitokondriyal metabolizmada değişiklikler gibi Ca^{+2} 'a bağlı kanserin temel özelliklerindeki değişikliklere katkıda bulunur. ROS, hücre içi Ca^{+2} sinyalizasyonunu bozar çünkü Ca^{+2} taşıyan membran enzimleri, lipidler ve endoplazmik retikulum-mitokondri arayüzleri ROS'a bağlıdır. ROS, STIM1'in homologu olan ER Ca^{+2} sensörü STIM2'yi engelleyerek SOCE'yi azaltabilir. Orai1'in aksine, homologu Orai3 ROS'a duyarlı değildir ve Orai1/Orai3 oranı, hücre içi SOCE Ca^{+2} sinyalizasyonunun ROS'a bağımlı olup olmadığını belirler. Hem STIM2 hem de Orai3 alt birimleri farklı kanser türlerinde düzensizleşir ve metastatik yayılma, hücre çoğalması ve azalmış apoptoz katkıda bulunur (101) (Şekil 2-5).

TRPM4, kanser hücrelerinin membran proteinlerinde de değişikliğe yol açmaktadır. Membran proteinlerinin glikozilasyon yapıları yaşlanma süreçlerinde, kanserde ve bağışıklık hastalıklarında değişir. Karmaşık N-glikozilasyon değişiklikleri, membran taşıma proteinlerinin, özellikle iyon kanallarının işlevlerini etkileyebilir. TRPM4, aspartat N992 üzerinde glikolize edilerek membran ifadesini stabilize edebilir ve TRPM4 ekspresyonunu azaltabilir (102).

TRPM4 için iki fosforilasyon noktası (Ser1145 ve Ser1152) belirlenmiştir ve fosforilasyon, TRPM4'ün Ca^{+2} hassasiyetini artırabilir. Ser839'un kazein kinaz 1 tarafından fosforilasyonunun, düz kas hücrelerinde TRPM4'ün bazolateral ifadesini kontrol ettiği gösterilmiştir. TRPM4'ün birçok proteinle etkileşim içinde olduğu bildirilmiştir. Gelecekteki çalışmalar, kanserlerde TRPM4'ün değişmiş glikozilasyon veya fosforilasyon yapılarının patofizyolojik anlamlarını ortaya koyup koymayacağını gösterecektir. Bunlar arasında SUR1 (sülfanilüre reseptörü), 14-3-3, KCTD5 (potasyum kanalı tetramerizasyon bölgesi içeren protein 5), SUMO (küçük ubiquitin benzeri

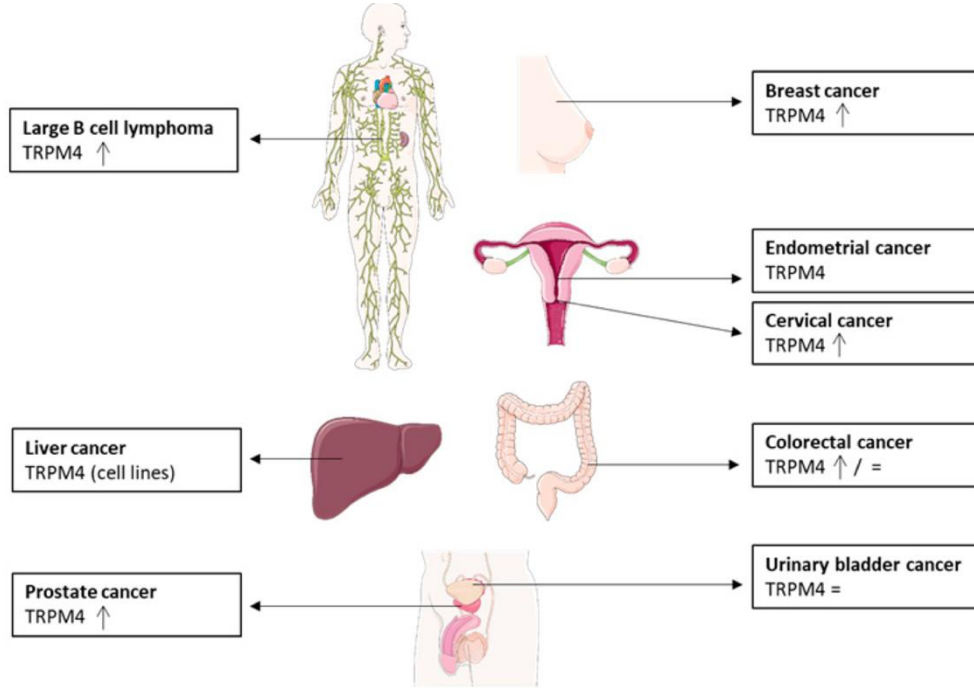
modifikatör), TRPC3 (Transient Receptor Potential Canonical 3), protein tirozin fosfataz non-reseptör tipi 6 (PTPN6) ve N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörünün Glu2A ve Glu2B alt birimleri bulunmaktadır. Ayrıca, PTPN6, kolorektal kanserde (KRK) hücre döngüsü düzenlemesi ve onkogen β -katenin'in baskılanması ile ilgili olduğu gösterilmiştir. Hem 14-3-3 hem de PTPN6, TRPM4'ü fosforilasyon yoluyla değiştirebilmektedir (103).



Şekil 2-5: TRPM4'ün aktivasyonu ve Ca⁺² girişinin düzenlenmesi

2.5.2. TRPM4 ve Kanser

TRPM4 ekspresyon seviyeleri, farklı kanser türlerinde araştırılmıştır (101) (Şekil 2-6).



Şekil 2-6: Farklı kanser türlerinde TRPM4 ekspresyon seviyelerinin sağlıklı kontrol dokusuyla karşılaştırmalı özeti

Prostat kanseri (PCa), TRPM4 ekspresyonu ve işlevi açısından şimdiye kadar en çok araştırılan kanser türüdür. 2014 yılında, TRPM4'ün androjen bağımsız PCa için tetikleyici bir gen olduğu tanımlanmıştır. Holzmann ve ekibi, TRPM4'ün PCa'da Ca^{+2} ile aktive olan non-selektif (CAN) akımdan sorumlu olduğunu bildirilmiştir. Bu tür akım, hücre zarında bulunan ve Ca^{+2} tarafından aktive edilen, ancak belirli bir iyon seçici olmayan iyon kanalları tarafından iletilen akımdır. Ca^{+2} aktivasyonu ile ortaya çıkan büyük Na^{+} akımlarının, TRPM4'ün siRNA ile azaltıldığı PC3, LNCaP ve DU145 prostat kanseri hücrelerinde ve primer insan prostat epitel hücrelerinde (hPEC) azaldığı bildirmiştir (104). Sagredo ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, TRPM4'ün PC3 hücrelerinde EMT'yi (Epitelyal mezenkimal geçiş) etkileyebileceği gösterilmiştir. EMT, kanser hücrelerinin göçü ve invazyonu için önemli bir süreçtir. Bu süreçte, hücreler sıkı hücreli bağlantılarını kaybeder ve daha hareketli, invaziv hale gelirler. EMT, normal gelişim süreçlerinde (embriyogenez gibi) rol oynasa da kanserde tümör hücrelerinin metastaz yapmasına neden olmaktadır.

TRPM4'ün azalması, E-kaderin ve N-kaderin ekspresyon seviyelerinde değişikliklere ve EMT belirteçlerinin, transkripsiyon faktörü olan Snail'in ekspresyonunu azaltmasına neden olmuştur (105).

Prostat kanserinde, TRPM4 protein seviyelerinin, iyi huylu kitlelere kıyasla kanserli prostat dokusunda arttığı bildirilmiştir (106). Ayrıca, yüksek yoğunluklu TRPM4 boyaması ile medyan veya üzeri bir histolojik skora (H-skor) sahip örneklerin, biyokimyasal nüks riskiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Holzmann ve ekibi, 20 hastayı kapsayan daha küçük bir çalışmada, normal prostat dokusuna kıyasla, kansere dönüşen doku içeren prostatik intraepitelyal neoplazide (PIN) TRPM4 ekspresyonunun arttığını bildirmiştir (104). Başka bir çalışmada, tümör örneklerinde kontrol grubuna kıyasla TRPM4 mRNA seviyelerinin önemli ölçüde arttığı ve daha yüksek Gleason skoru (>7) olan, daha az farklılaşmış ve daha agresif doku örneklerinde TRPM4 seviyelerinin yükseldiği bildirilmiştir (107).

Kolorektal kanserde TRPM4'ün rolünü inceleyen yakın tarihli bir çalışma, TRPM4'ün HCT116 kolorektal hücre hattında büyük Na⁺ akımlarını ilettiğini ve bu hücrelerdeki CAN akımının ana kaynağı olduğunu göstermiştir (108). TRPM4'ün hücrelerin daha az göç etmesine ve yavaş yayılmasına da katkıda bulunduğu öne sürülmüştür. Son olarak, TRPM4 iyon iletkenliğinin hücrelerin canlılığı ve hücre döngüsü için önemli olduğu bulunmuştur. Bu da TRPM4'ün kolorektal kanser için potansiyel bir kanser tedavisi hedefi olabileceğini düşündürmektedir. 2015 yılında Sozucan ve ekibi, 93 kolorektal kanser hastasının doku örneklerini analiz ettiklerinde, TRPM4, mRNA ifadesinin azaldığını bildirmiştir (109,110).

Rahim ağzı kanserinden türetilmiş HeLa hücre hattında shRNA aracılığıyla TRPM4 baskılanmasının, hücre çoğalmasının azalmasına yol açtığı gösterilmiştir. Azalmış çoğalmanın yanı sıra, hücre döngüsü dağılımında da değişiklikler gözlemlenmiştir (111). Rahim ağzı kanseri vakalarında yapılan bir gen ekspresyon çalışması, TRPM4'ün normal rahim ağzı epiteline kıyasla rahim ağzı kanseri örneklerinde aşırı ekspresyon gösterdiğini bildirmiştir (112).

Endometrium kanserinde TRPM4'ün susturulması AN3CA endometrial kanser hücre hattında hücre sağkalımını ve göç hızını artırdığı belirtilmiştir. TRPM4 eksikliği,

hücrelerde EMT'nin ilerlemesini artırmıştır bu da EMT belirteçlerinin ifadelerindeki değişikliklerle ölçülmüştür. (N-kadherin ve vimentin ifadelerinde artış, E-kadherin ve sitokeratin ifadelerinde azalma). Ayrıca, TRPM4 ekspresyonunun p53 ve PI3K/AKT/mTOR sinyal yollarıyla ilişkili olduğu bulunmuştur. TRPM4'ün azalması, PI3K, AKT ve mTOR'un fosforilasyonunu artırırken p53 ekspresyon seviyelerini düşürdüğü gözlenmiştir. 491 endometrial kanser hastası üzerinde yapılan güncel bir çalışma, TRPM4 mRNA ekspresyonunun artmasının kötü bir prognoz ve düşük genel sağkalım ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu belirtmiştir (113).

2.5.3. TRPM4 ve Meme Kanseri

Meme kanseri, normal epitelyal kanallardan kaynaklanır ve proliferatif lezyonlar aracılığıyla ilerler. Bu süreç, atipik hiperplazi ile başlar, ardından in situ pre-malign bir duruma geçerek neoplaziye dönüşür. Kanserin metastaz yapmasında temel mekanizmalardan biri, EMT'nin aktive olmasıdır. TRPM4 transkript seviyelerinin, normal meme epitel hücrelerinde bulunmadığı ancak meme kanseri vakalarında EMT gen setiyle bağlantılı olduğu gösterilmiştir. Bu durum, TRPM4'ün meme kanseri hücrelerinde EMT'yi tetikleyerek metastaz potansiyelini artırabileceğini düşündürmektedir. TRPM4, bu hücrelerin yayılma ve metastaz yeteneğini artırabilirken, TRPM4'ün baskılanmasının bu yayılmayı azaltabileceği belirtilmektedir (101).

Hormon ve hedefe yönelik tedavilerdeki gelişmelere rağmen, meme kanseri, kadınlarda kanserden ölümlerin başlıca nedenidir. TRPM iyon kanalı ailesi üyelerinden TRPM2, TRPM7 ve TRPM8, meme kanseri hücrelerinin büyümesi, hayatta kalması ve metastazında önemli roller oynarken, TRPM6'yı etkileyen somatik mutasyonlar da meme kanseri hastalarında görülmektedir. Bu nedenle, TRPM4'ün meme kanserindeki ifade profilini araştırmayı ve TRPM4'ün hastalıktaki potansiyel rollerini incelemeyi amaçladık.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmada Kullanılan Örnekler

Çalışmamıza, İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü'ne 2023-2024 yıllarında başvuran, klinik açıdan tanı almış 60 meme kanseri hastası ve 20 sağlıklı kontrol grubundaki kadın dahil edilmiştir. Meme kanserli hastaların yaş ortalaması 56.68 (23-81 yaş arası) olarak tespit edilmiştir. 60 meme kanseri hastasına ait yaş, ER, PR, HER2 ve menopoz verileri Tablo 3-1'de sunulmaktadır.

Hastalardan ve sağlıklı kontrol grubundan alınan kan örnekleri 10 dakika boyunca, 4000 rpm'de santrifüj (Hettich Universal 32) işleminden geçirildi. Elde edilen serum örnekleri testler gerçekleştirilene kadar -80°C buzdolabında muhafaza edildi.

Tablo 3-1. Meme Kanserli Hastaların Özellikleri

| Parametre | n | % |
|-------------------------------|----------------|----------|
| Hasta sayısı | 60 | 100 |
| Yaş ortalama (min-max) | 57.56 (23- 81) | 100 |
| <57 | 32 | 53 |
| ≥57 | 28 | 47 |
| Histoloji | | |
| İnvaziv Duktal Karsinom | 47 | 79 |
| İnvaziv Lobüler Karsinom | 12 | 20 |
| İnvaziv Tübüler Karsinom | 1 | 2 |
| ER | | |
| + | 49 | 81.7 |
| - | 11 | 18.3 |
| PR | | |
| + | 45 | 75 |
| - | 15 | 25 |
| HER2 | | |
| + | 13 | 21.7 |
| - | 47 | 78.3 |
| Menopoz | | |
| Pre | 18 | 30 |
| Post | 42 | 70 |

3.2. Gen Ekspresyon Düzeylerinin Belirlenmesi

3.2.1. RNA İzolasyonu

Serum örneklerinden 0.4 mL miktarında alınarak tüplere yerleştirildi ve ardından 1 mL RNAzol©RT (Molecular Research Center, Inc., ABD) eklendi. Elde edilen karışıma 0.4 mL su ilave edilerek 15 dakika boyunca beklemeye bırakıldı. Daha sonra, santrifüj işlemi 12.000 g kuvvetinde ve 15 dakika süresince (Tehtnica Centric 200R) uygulandı. Santrifüj sonrası elde edilen süpernatant, başka bir tüpe aktarılıp üzerine 1 mL %75 etanol ilave edildi ve 15 dakika bekletildi. RNA'nın çökmesi için, 12.000 g kuvvetinde 10 dakika boyunca santrifüj işlemi yapıldı. Bu işlemden sonra, tüpte kalan sıvı atıldı ve dipte oluşan beyaz pelletin üzerine 0.4 mL %75 etanol eklenerek, 4000 g kuvvetinde 1-3 dakika süresince santrifüj işlemi tekrarlandı. Bu adım iki kez gerçekleştirildi. Santrifüj işlemi tamamlandıktan sonra alkol, pellete zarar vermeden mikropipet kullanılarak uzaklaştırıldı. RNA pelletinin kurumasını önlemek amacıyla, su içinde çözülerek 1-2 dakika boyunca vortex ile karıştırıldı. İzole edilen RNA'ların ölçümleri ise Nanodrop (Nanodrop:1000; Thermo Fischer Scientific, Wilmington, DE) cihazı ile yapıldı.

3.2.2. Komplementer DNA (cDNA) Sentezi

Total RNA işleminden sonra cDNA sentezi, ticari olarak temin edilen NEB markasının ProtoScript® II First Strand cDNA Synthesis Kit (Almanya; E6560S) kullanılarak yapıldı. Bütün işlemler buz üzerinde gerçekleştirildi. cDNA sentezine başlamadan önce, RNA konsantrasyonları dengelendi. Her bir tepkime örneği, Tablo 3-2'de gösterildiği şekilde hazırlandı ve her tüp için toplam hacim 20 µL olarak ayarlandı. Bu karışım pipetleme işlemi tamamlandıktan sonra kuyucuklara dağıtıldı ve RNA ürünleri eklendi. Ardından karışımlar, Biorad CFX96 Connect cihazına yerleştirildi ve tepkime Tablo 3-3'te belirtilen protokole göre yapıldı. cDNA örnekleri -20°C'de saklanarak aşağıdaki gibi her bir RNA örneği için karışım hazırlandı.

Tablo 3-2: cDNA sentezi tepkime bileşenleri

| Reaktifler | Kullanılan Hacimler (μL) |
|----------------------------------|---------------------------------------|
| RNA | 2 |
| Random Primer Mix | 2 |
| ProtoScript II Reaction Mix (2x) | 10 |
| ProtoScript II Enzyme Mix (2X) | 2 |
| Nuclease-free H ₂ O | 4 |

Tablo 3-3: cDNA sentezi için gerekli tepkime şartları

| Sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$) | Süre(dk.) |
|---------------------------------|-----------|
| 42 $^{\circ}\text{C}$ | 10 dk. |
| 50 $^{\circ}\text{C}$ | 60 dk. |
| 70 $^{\circ}\text{C}$ | 10 dk. |

Tablo 3-4: TRPM4 genine ait primerler

| Gen | Forward (ileri) primer F (5'-3') | Reverse (geri) primer R (5'-3') |
|-------|-----------------------------------|----------------------------------|
| TRPM4 | TGTATCTGCTCTCGGACAAG GC | GCTGAGGAAACTGCATTGGAAC C |

3.2.3. Gerçek Zamanlı PCR

TRPM4 molekülünün mRNA ekspresyon seviyesi, ticari bir kit olan NEB Luna® Universal qPCR Master Mix (M3003) kiti kullanılarak Gerçek Zamanlı PCR (RT-PCR) yöntemi ile analiz edildi. GADPH geni ise referans gen olarak tercih edildi.

Tüm işlemler buz üzerinde gerçekleştirildi ve toplam tepkime hacmi 20 μL olarak ayarlandı. Tablo 3-5'te gösterildiği gibi reaksiyon karışımı; 0.5 μL ileri (forward) primer, 0.5 μL geri (reverse) primer, 7 μL PCR grade su, 10 μL qPCR SybrMasterMix ve 2 μL cDNA içerecek şekilde hazırlandı. Hazırlanan bu karışımlar, 96 kuyucuklu plakaya aktarıldı ve Biorad CFX96 Connect cihazında, Tablo 3-6'da belirtilen protokole göre tepkime tamamlandı.

Reaksiyonun sonunda melt curve protokolü uygulandı. Bu protokolün amacı, elde edilen ürünlerin hedeflenen bölgeye ait olup olmadığını doğrulamak ve primer dimerleri veya non-spesifik çoğalmalar gibi olası kontaminasyonları tespit etmektir. Melt curve analizinde, RT-PCR ürünlerinin sıcaklığı kademeli olarak (55°C'den 95°C'ye, 0.2°C/sn hızında) artırılırken, sinyal değişikliklerine bağlı olarak erime eğrileri oluşturulmaktadır.

Gen ifadelerinin analizi yapılırken, iki bağımsız deneyin sonucunda elde edilen cycle threshold (Ct) değerlerinin ortalaması alındı. Araştırılan genin Ct değerinden referans genin (housekeeping gen) Ct değeri çıkarılarak normalize edilmiş delta Ct (ΔCt) değeri hesaplandı. Ardından kontrol grubunun ΔCt değerlerinin ortalaması belirlendi. Hasta grubunun ΔCt değerlerinden kontrol grubunun ΔCt değeri çıkarılarak $\Delta\Delta Ct$ değeri elde edildi. Gen ifadelerinin analizi, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi.

$$\Delta Ct = Ct_{(kontrol)} - Ct_{(referans)}$$

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{(hedef)} - \Delta Ct_{(kontrol)}$$

$$\text{Kat değişimi} = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

Tablo 3-5: Real Time PCR bileşenleri

| RT-PCR Bileşenleri | Tepkimesinin | 1 Örnek için Hacim (μL) |
|--------------------|--------------|--------------------------------------|
| Primer F | | 0.5 μL |
| Primer R | | 0.5 μL |
| PCR grade su | | 7 μL |
| qPCR SybrMasterMix | | 10 μL |
| cDNA | | 2 μL |
| Toplam | | 20 μL |

Tablo 3-6: Real Time PCR gerekleŒme koŒulları

| Basamaklar | Sıcaklık | Süre | Döngü Sayısı |
|--|-----------------|-------------|---------------------|
| İlk Denatürasyon ve Polimeraz Aktivasyon | 95°C | 1 dk. | 1 döngü |
| Denatürasyon | 95°C | 15 sn. | 45 döngü |
| Bağlanma ve Uzama | 60°C | 1 dk. | |

3.3. Protein Düzeylerinin Belirlenmesi

3.3.1. ELISA Yöntemi

Enzime bağlı immünosorbent testleri (ELISA), kompleks bir karışımındaki belirli bir proteini hem kalitatif hem de kantitatif olarak tespit etmek amacıyla kullanılan plaka tabanlı bir analiz yöntemidir.

Bu yöntem, plakadaki kuyucukların hedef proteine özėü antikorlarla kaplanmasıyla başlar. Kuyucuklara, bilinmeyen miktarda hedef protein içeren örnekler ve bilinen miktarda antijen içeren standartlar eklenir. Bu işlem, antijen ile antikorun bağlanmasını sağlar.

Bağlanmamış antijen ve diğer maddeler yıkama işlemiyle uzaklaştırıldıktan sonra, birincil antikordan farklı olan ve enzimle işaretlenmiş ikincil bir antikor eklenir. Bu oluşan yapı, Antikor-Antijen-Antikor* enzim katı faz sandviç kompleksi olarak adlandırılır. İkincil antikorların bağlanmayan kısmı tekrar yıkama ile ortamdaki temizlendikten sonra, ikincil antikora bağlı enzimin substratı eklenir. Enzim, substratla etkileşime girdiğinde, örnekteki birincil antijenin konsantrasyonuna orantılı bir reaksiyon gerçekleşir ve sonuç olarak renk değişimi meydana gelir. Oluşan renk tepkimesinin absorbansı, belirli bir dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Miktarı bilinen standartlar kullanılarak bir standart eğrisi oluşturulur ve örneklerin konsantrasyonları bu eğri yardımıyla hesaplanır.

3.3.2. TRPM4 Protein Düzeylerinin Belirlenmesi

Hasta ve kontrol örneklerindeki TRPM4 protein seviyelerini belirlemek için ticari bir ELISA kiti (ELK Biotechnology) kullanıldı. Deney öncesinde plazma örnekleri -80°C'de muhafaza edilen dondurucudan çıkarılıp oda sıcaklığına getirildi. Yıkama

yapmak için 25× Wash Buffer, 1X olarak dilüe edilerek deney için hazır hale getirildi. TRPM4 düzeyini ölçmek amacıyla, 10 ng/mL stok standarttan sırasıyla 5 ng/mL, 2.5 ng/mL, 1.25 ng/mL, 0.63 ng/mL ve 0.32 ng/mL ve 0.16 ng/mL konsantrasyonlarında standartlar, standart dilüent solüsyonu kullanılarak hazırlandı. ELISA deneyi sırasında, her standart tüpünden belirlenen kuyucuklara 100 µL standart eklendi. Örneklerin test edileceği kuyucuklara ise 100 µL örnek ilave edildi. *Blank kuyusu boş bırakıldı. Plate, bir sealer ile kapatıldıktan sonra 37 °C ve 80 dakika süreyle inkübasyon işlemi yapıldı. Ardından, tüm kuyucuklar 250 µL yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkandı. Kalan yıkama solüsyonunu tamamen uzaklaştırmak için, son yıkamanın ardından plate ters çevrilerek filtre kağıdı üzerine yerleştirildi. Yıkama işleminden sonra her kuyucuğa 100 µL Biotinylated Antibody Working Solution eklenerek 50 dakika süreyle 37 °C'de inkübasyon edildi. Bu aşamadan sonra da 3 kez yıkama işlemi yapıldı. Her kuyucuğa 100 µL Streptavidin-HRP Working Solution eklendi ve yeniden 50 dakika boyunca 37 °C'de inkübasyon aşaması tamamlandı. 5 defa yıkamadan sonra, 90 TMB substrat solüsyon her kuyucuğa eklendi ve 20 dk süreyle 37 °C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonunda, her kuyucuğa 50 µL stop solüsyonu eklendi ve kuyucuklardaki renk maviden sarıya dönüştü. Son olarak, absorpsiyon konsantrasyonları 450 nm dalga boyunda ELISA okuyucusu (Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer Thermo Scientific™) ile okundu.

4. BULGULAR

Çalışma İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Meme Cerrahisi birimine başvuran meme kanseri tanısı almış hastalar ile sağlıklı kadınlardan oluşan kontrol grubu arasında yapıldı. Hasta grubunun; yaş, çocuk sayısı, doğum sayısı, emzirme durumu ve emzirme süresi, menopoz durumu, aile hikayesi, sigara-alkol kullanımı, ek hastalık (Hipertansiyon-Diabetes Mellitus, HT-DM), memenin konumu (sağ-sol), histolojik tanısı, TNM evresi (erken evre: I-II, ileri evre: III), ER, PR ve HER2 parametreleri kaydedildi (Tablo 4-1, Tablo 4-2). 60 kadından oluşan hasta grubun yaş ortalaması 55.68 ± 13.25 olarak hesaplandı. 20 kadından oluşan kontrol grubunun yaş ortalaması 51.10 ± 8.71 olarak hesaplandı.

Tablo 4-1: Hasta grubuna ait yaş, çocuk sayısı, doğum sayısı ve emzirme süresi ile ilgili bilgilerin dağılımları

| Hasta Grup | Min-Max | $\bar{x} \pm sd$ (medyan) |
|---------------------|---------|---------------------------|
| Yaş | 23-81 | 55.68 ± 13.25 |
| Çocuk sayısı | 0-5 | 2.03 ± 1.25 (2) |
| Doğum sayısı | 0-5 | 2.03 ± 1.25 (2) |
| Emzirme süresi (ay) | 0-48 | 14.5 ± 11.77 (15) |

Tablo 4-2: Hasta grubuna ait diğer genel bilgilerin dağılımı

| Hasta grubu | | n | % |
|---------------|------|----|------|
| Menopoz | Pre | 18 | 30 |
| | Post | 42 | 70 |
| Çocuk | Yok | 9 | 15 |
| | Var | 51 | 85 |
| Doğum | Yok | 9 | 15 |
| | Var | 51 | 85 |
| Emzirme | Yok | 16 | 26.7 |
| | Var | 44 | 73.3 |
| Aile hikayesi | Yok | 40 | 66.7 |
| | Var | 20 | 33.3 |
| Sigara-alkol | Yok | 55 | 91.7 |

| | | | |
|-----------------|--------------------------|----|------|
| | Var | 5 | 8.3 |
| Ek hastalık | Yok | 46 | 76.7 |
| | Var | 14 | 23.3 |
| Meme | Sol | 31 | 38.8 |
| | Sağ | 28 | 35.0 |
| | Bilateral | 1 | 1.3 |
| Histolojik tanı | İnvaziv duktal karsinom | 42 | 70 |
| | İnvaziv lobüler karsinom | 17 | 28.3 |
| | İnvaziv tübüler karsinom | 1 | 1.7 |
| TNM Evre | Erken evre | 50 | 83.3 |
| | İleri evre | 10 | 16.7 |
| ER Durumu | ER (-) | 11 | 18.3 |
| | ER (+) | 49 | 81.7 |
| PR Durumu | PR (-) | 15 | 25 |
| | PR (+) | 45 | 75 |
| HER2 Durumu | HER2 (-) | 47 | 78.3 |
| | HER2 (+) | 13 | 21.7 |

Hasta grubuna ait biyokimyasal belirteçlerin sonuçları Tablo 4-3'te gösterilmiştir.

Tablo 4-3: Hasta grubuna ait rutin belirteçlerin sonuçları

| Hasta Grubu | Min-Max | x±sd (medyan) |
|-------------|---------|---------------------|
| ER | 0-100 | 72.5±37.46 (90) |
| PR | 0-95 | 49.08±36.72 (60) |
| CEA ng/mL | 0-16.7 | 1.64±2.98 (1.28) |
| CA12-5 U/mL | 0-867 | 17.14±111.68 (12.3) |
| CA15.3 U/mL | 0-849 | 28.43±109.08 (11.8) |

Tablo 4-4'te belirtildiği gibi, grupların yaş ve menopoz ortalamaları açısından istatistiksel bir anlamlılık tespit edilemedi ($p>0.05$).

Tablo 4-4: Grupların yaş ve menopoz açısından karşılaştırılması

| | Hasta (n=60) | Kontrol (n=20) | p |
|---------------|--------------|----------------|--------------------|
| Yaş Ort±SS | 55.68±13.25 | 51.10±8.71 | ¹ 0.083 |
| Menopoz n (%) | | | |
| Pre | 18 (%30) | 9 (%45) | ² 0.339 |
| Post | 42 (%70) | 11 (%55) | |

¹Student t test²Continuity (yates) düzeltmesi

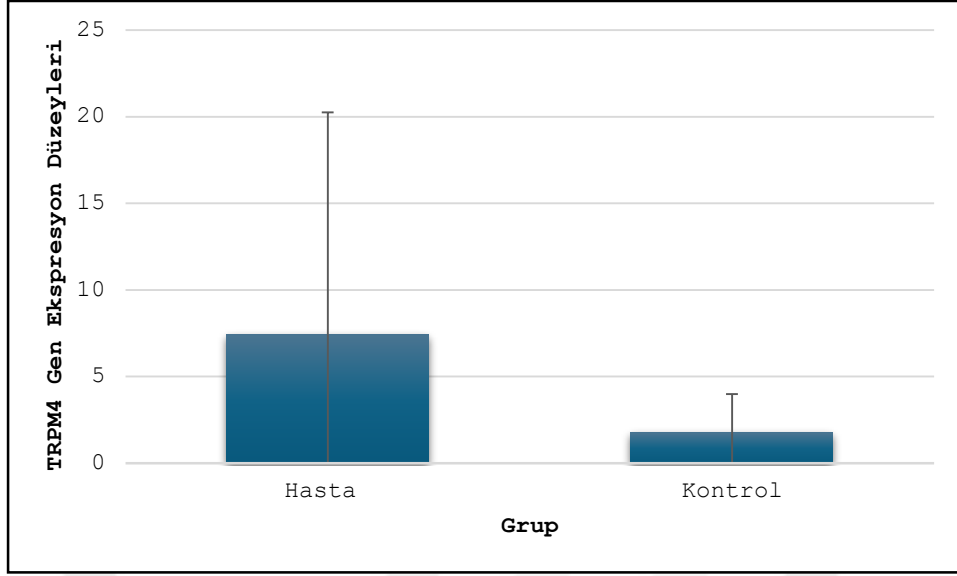
Tablo 4-5 ve Şekil 4-1’de ifade edildiği gibi; hasta grubun TRPM4 gen ekspresyon seviyesi, kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksek bulundu (p:0.001; p<0.05).

Tablo 4-5: Grupların TRPM4 gen ekspresyonu ve protein düzeyleri açısından aritmetik ortalama (x), standart sapma (sd), medyan (m), minimum (min), maksimum (max) değerleri ile birlikte istatistiksel anlamlılıklarının (p değerleri) karşılaştırılması

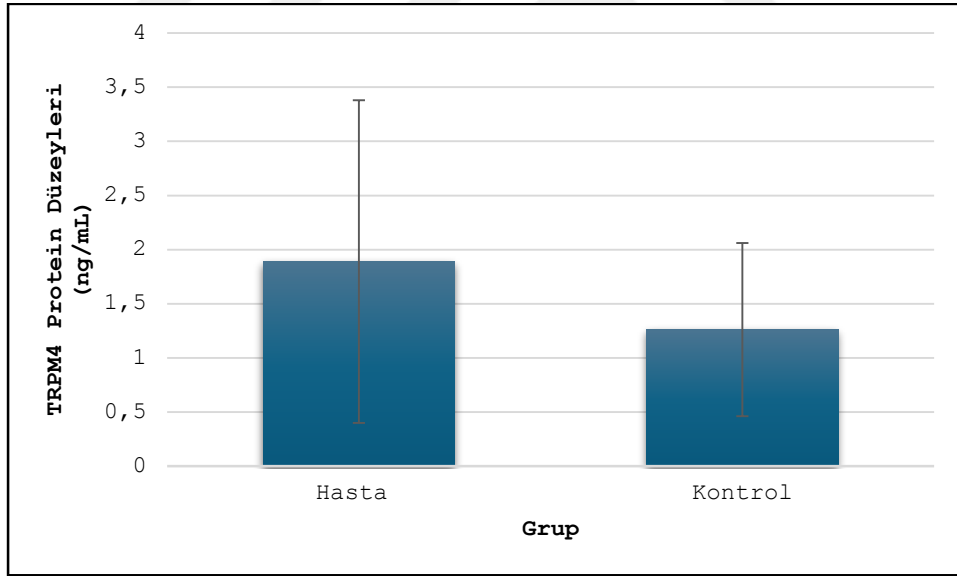
| TRPM4 | Hasta (n=60) | Kontrol (n=20) | p |
|------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|--------|
| | x±sd (medyan) (Min-Max) | x±sd (medyan) (Min-Max) | |
| Gen ekspresyonu | 7.42±12.83 (3.21) (0.24-75.09) | 1.78±2.21 (0.87) (0.12-9.80) | 0.001* |
| Protein düzeyi (ng/mL) | 1.89±1.49 (1.36) (0.14-7) | 1.26±0.80 (1.34) (0.04-2.46) | 0.163 |

Mann Whitney U test

*p<0.05



Şekil 4-1: Meme kanseri hastalarının ve sağlıklı kontrollerin TRPM4 gen ekspresyon seviyesi dağılım grafiği



Şekil 4-2: Meme kanserli hastaların ve sağlıklı kontrollerin TRPM4 protein düzeyleri dağılım grafiği

İki grup arasında, TRPM4 protein düzeyleri arasında bir anlamlılık saptanmadı (Şekil 4-2).

Tablo 4-6'ya göre; hasta ve kontrol grubunda TRPM4 gen ekspresyonu ve protein düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p > 0.05$).

Tablo 4-6: Hasta ve kontrol grubunun TRPM4 gen ekspresyonu ve protein düzeylerinin korelasyonu

| | TRPM4 | |
|---------|--|-------|
| | Gen Ekspresyonu - Protein Düzeyi (ng/mL) | |
| | r | p |
| Hasta | 0.127 | 0.593 |
| Kontrol | 0.104 | 0.427 |

Spearman' s rho korelasyon testi

Gen ekspresyonu değerleri için Eğri Altında Kalan Alan (Area Under Curve/AUC), ROC (Receiver Operating Characteristic) analizi ile tespit edildi.

TRPM4'ün gen ekspresyon seviyesine bakıldığında ROC eğrisi altında kalan alan 0.774, standart hatası 0.06 olarak bulundu. ROC eğrisi altında kalan alan 0.5'ten anlamlı bir düzeyde yüksek olduğu saptandı (p:0.001; p<0.05). Bu değer duyarlılığı %85, özgüllüğü ise %65 olarak hesaplandı (Tablo 4-7) (Şekil 4-3).

TRPM4 protein düzeyine bakıldığında ROC eğrisi altında kalan alan 0.605, standart hatası 0.07 olarak belirlendi. ROC eğrisi altında kalan alan 0.5'ten anlamlı düzeyde yüksek olmadığı için TRPM4 protein düzeyi için cut off hesaplanamadı (p:0.144; p>0.05) (Tablo 4-7) (Şekil 4-4).

Tablo 4-7: TRPM4'ün gen ekspresyonu ve protein düzeyi için ROC analizi sonuçları

| TRPM4 | AUC | S.E. | %95 CI | p | Cut Off Point | Sensitivity | Specificity |
|------------------------|-------|------|-------------|--------|---------------|-------------|-------------|
| Gen Ekspresyonu | 0.774 | 0.06 | 0.667-0.860 | 0.001* | >1.4 | 85.0 | 65.0 |
| Protein Düzeyi (ng/mL) | 0.605 | 0.07 | 0.489-0.712 | 0.144 | - | - | - |

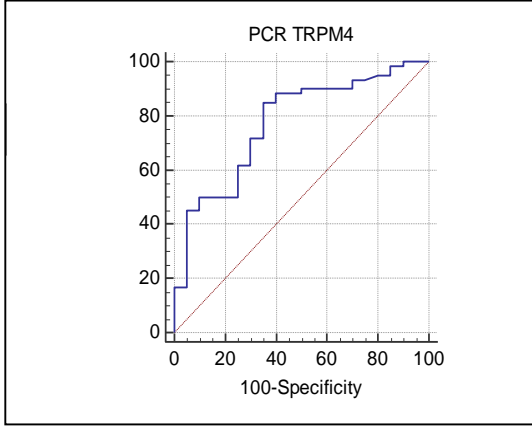
AUC: Eğri Altında Kalan Alan Noktası (Area Under Curve)

SE: Standart Hata

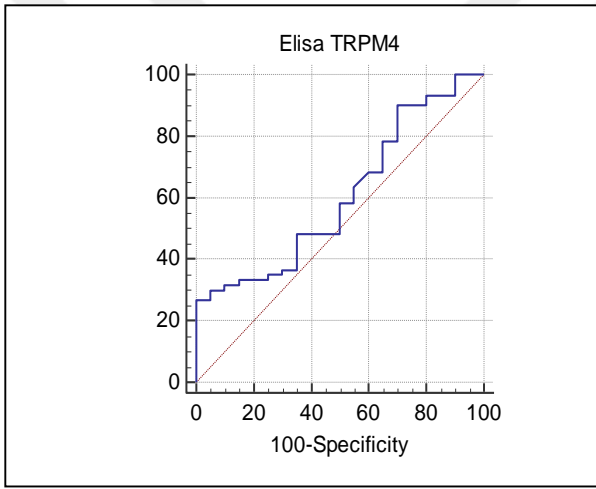
CI: Güven Aralığı Cut Off Point: Kesim

Sensitivity: Duyarlılık

Sensitivity: Özgüllük



Şekil 4-3: Gen ekspresyon düzeyi için ROC eğrisi



Şekil 4-4: Protein düzeyi değerleri için ROC eğrisi

Tablo 4-8'e görüldüğü gibi; hasta ve kontrol grubunda TRPM4 gen ekspresyonu-protein düzeyi ile yaş arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p>0.05$).

Tablo 4-8: Meme kanserli hastaların ve sağlıklı kontrollerin yaş ile TRPM4 gen ekspresyonu ve protein düzeyi korelasyonu

| | | Yaş | |
|---------|------------------------------|--------|-------|
| | | r | p |
| Hasta | TRPM4 Gen Ekspresyonu | -0.071 | 0.587 |
| | TRPM4 Protein Düzeyi (ng/mL) | -0.294 | 0.208 |
| Kontrol | TRPM4 Gen Ekspresyonu | 0.257 | 0.274 |
| | TRPM4 Protein Düzeyi (ng/mL) | 0.133 | 0.311 |

Pearson korelasyon testi

Hasta ve kontrol grubunda premenopoz ve postmenopoz dönemleri arasında TRPM4 gen ekspresyonu ve protein düzeyi açısından anlamlılık tespit edilemedi ($p>0.05$) (Tablo 4-9).

Tablo 4-9: Grupların menopoz durumuna göre TRPM4 gen ekspresyonu-protein düzeyleri açısından aritmetik ortalama (x), standart sapma (sd), medyan (m), minimum (min), maksimum (max) değerleri ile birlikte istatistiksel anlamlılıklarının (p değerleri) karşılaştırılması

| | | Pre Menopoz | Post Menopoz | p |
|----------------|------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------|
| TRPM4 | | x±sd (medyan) (Min-Max) | x±sd (medyan) (Min-Max) | |
| Hasta | Gen ekspresyonu | 7.32±13.77 (2.82) (0.39-60.76) | 7.47±12.59 (3.47) (0.24-75.09) | 0.711 |
| | Protein düzeyi (ng/mL) | 1.62±1.34 (1.5) (0.14-5.68) | 2.01±1.54 (1.3) (0.29-7) | 0.420 |
| Kontrol | Gen ekspresyonu | 2.63±2.88 (1.96) (0.61-9.8) | 1.09±1.23 (0.48) (0.12-3.76) | 0.063 |
| | Protein düzeyi (ng/mL) | 1.38±0.76 (1.3) (0.33-2.46) | 1.67±0.84 (1.4) (0.04-2.23) | 0.569 |

Mann Whitney U test

Tablo 4-10’da emzirme süresi ile TRPM4 gen ekspresyonu-protein düzeyine bakıldığında anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p>0.05$).

Tablo 4-10: Emzirme süresi (ay) ile TRPM4’ün gen ekspresyon ve protein düzeyinin korelasyonu

| | Emzirme Süresi | |
|------------------------|----------------|-------|
| | r | p |
| Gen ekspresyonu | -0.041 | 0.756 |
| Protein düzeyi (ng/mL) | 0.179 | 0.172 |

Spearman’s rho korelasyon testi

Emziren ve emzirmeyen hastalar arasında TRPM4 gen ekspresyonu ve protein düzeylerine bakıldığında istatistiksel yönden bir farklılık bulunamadı ($p>0.05$) (Tablo 4-11).

Tablo 4-11: Grupların emzirme durumuna göre TRPM4 gen ekspresyonu ve protein düzeyleri açısından aritmetik ortalama (x), standart sapma (sd), medyan (m), minimum (min), maksimum (max) değerleri ile birlikte istatistiksel anlamlılıklarının (p değerleri) karşılaştırılması

| TRPM4 | Emzirme Yok | Emzirme Var | p |
|------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|-------|
| | x±sd (medyan) (Min-Max) | x±sd (medyan) (Min-Max) | |
| Gen ekspresyonu | 11.72±22.33 (2.5) (0.24-75.09) | 5.86±6.54 (3.5) (0.32-28.59) | 0.676 |
| Protein düzeyi (ng/mL) | 1.92±1.89 (1.3) (0.42-7) | 1.88±1.34 (1.4) (0.14-5.6) | 0.542 |

Mann Whitney U test

Tablo 4-12’de görüldüğü gibi; ek hastalığı (HT+DM) olan ve olmayan hastalara bakıldığında, TRPM4 gen ekspresyonu ile protein düzeyleri arasında bir anlamlılık hesaplanmadı ($p>0.05$).

Tablo 4-12: Grupların ek hastalık varlığına göre TRPM4 gen ekspresyonu ve protein düzeyleri açısından aritmetik ortalama (x), standart sapma (sd), medyan (m), minimum (min), maksimum (max) değerleri ile birlikte istatistiksel anlamlılıklarının (p değerleri) karşılaştırılması

| TRPM4 | Ek Hastalık Yok | Ek Hastalık Var | p |
|------------------------|----------------------------------|---------------------------------|-------|
| | x±sd (medyan) (Min-Max) | x±sd (medyan) (Min-Max) | |
| Gen ekspresyonu | 8.11±14.30 (3.2) (0.24-75.09) | 5.17±5.76 (3.6) (0.32-22.17) | 0.675 |
| Protein düzeyi (ng/mL) | 1.76±1.32 (1.3) (0.14-5.68) | 2.33±1.92 (1.7) (0.43-7) | 0.416 |

Mann Whitney U test

Memenin konumuna göre bakıldığında; bilateral meme kanseri olan tek bir hasta olduğundan karşılaştırmaya dahil edilmedi. Sağ ve sol meme arasında TRPM4'ün gen ekspresyonu ve protein düzeyleri incelendiğinde istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık tespit edilemedi ($p>0.05$) (Tablo 4-13).

Tablo 4-13: Grupların memenin konumuna göre TRPM4 gen ekspresyonu ve protein düzeyleri açısından aritmetik ortalama (x), standart sapma (sd), medyan (m), minimum (min), maksimum (max) değerleri ile birlikte istatistiksel anlamlılıklarının (p değerleri) karşılaştırılması

| TRPM4 | Sol Meme | Sağ Meme | p |
|------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-------|
| | x±sd (medyan) (Min-Max) | x±sd (medyan) (Min-Max) | |
| Gen ekspresyonu | 8.71±12.25 (3.7) (0.24-60.76) | 6.21±13.73 (2.8) (0.44-75.09) | 0.202 |
| Protein düzeyi (ng/mL) | 1.59±1.04 (1.3) (0.14-4.1) | 2.26±1.82 (1.7) (0.14-7) | 0.219 |

Mann Whitney U test

Tablo 4-14'te invaziv tübüler karsinom olan tek bir hasta olduğundan karşılaştırmaya dahil edilmedi. İnvaziv duktal karsinom ve lobüler karsinom arasında TRPM4'ün gen

ekspresyonu ve protein düzeyleri karşılaştırıldığında; herhangi bir anlamlılık saptanmadı ($p>0.05$).

Tablo 4-14: Grupların histolojik tanıya göre TRPM4 gen ekspresyonu ve protein düzeyleri açısından aritmetik ortalama (x), standart sapma (sd), medyan (m), minimum (min), maksimum (max) değerleri ile birlikte istatistiksel anlamlılıklarının (p değerleri) karşılaştırılması

| TRPM4 | İnvaziv Duktal | İnvaziv Lobüler | p |
|------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-------|
| | Karsinom | Karsinom | |
| | x±sd (medyan) (Min-Max) | x±sd (medyan) (Min-Max) | |
| Gen ekspresyonu | 7.46±10.78 (3.6) (0.39-60.76) | 7.65±17.54 (2.9) (0.24-75.09) | 0.422 |
| Protein düzeyi (ng/mL) | 2.02±1.56 (1.6) (0.14-7) | 1.65±1.30 (1.3) (0.17-5.5) | 0.384 |

Mann Whitney U test

Erken evre ve ileri evre hasta grubu arasında TRPM4'ün gen ekspresyonu ve protein düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilemedi ($p>0.05$) (Tablo 4-15).

Tablo 4-15: Grupların evreye göre TRPM4 gen ekspresyonu ve protein düzeyleri açısından aritmetik ortalama (x), standart sapma (sd), medyan (m), minimum (min), maksimum (max) değerleri ile birlikte istatistiksel anlamlılıklarının (p değerleri) karşılaştırılması

| TRPM4 | Erken Evre(I-II) | İleri Evre (III) | p |
|------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-------|
| | x±sd (medyan) | x±sd (medyan) | |
| | (Min-Max) | (Min-Max) | |
| Gen ekspresyonu | 6.80±11.70 (2.9) (0.24-75.09) | 10.54±11.95 (6.2) (0.44-60.76) | 0.416 |
| Protein düzeyi (ng/mL) | 1.77±1.29 (1.4) (0.14-5.7) | 2.46±2.24 (1.6) (0.43-7) | 0.634 |

Mann Whitney U test

Tablo 4-16'ya göre ER ile TRPM4'ün gen ekspresyonu-protein düzeyi arasında istatistiksel yönden anlamlılık hesaplanamadı ($p>0.05$). PR'ye bakıldığında TRPM4'ün

gen ekspresyon düzeyi arasında ters yönlü, zayıf düzeyli (%29.2) ve istatistiksel yönden anlamlı bir ilişki tespit edildi ($p:0.023$; $p<0.05$). PR düzeyi ve TRPM4'ün protein düzeyi karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan bir ilişki bulunamadı ($p>0.05$).

Tablo 4-16: ER ve PR ile TRPM4'ün gen ekspresyonu- protein düzeyi korelasyonu

| | | ER | |
|---------------------------------|---------------|------------|--------|
| | | r | p |
| TRPM4 Gen ekspresyonu | | -0.180 | 0.169 |
| TRPM4 Protein düzeyi (ng/mL) | | -0.149 | 0.256 |
| Spearman's rho korelasyon testi | | | |
| | | PR | |
| | | r | p |
| Gen ekspresyonu | TRPM4 | -0.292 | 0.023* |
| Protein düzeyi | TRPM4 (ng/mL) | -0.218 | 0.094 |
| Spearman's rho korelasyon testi | | * $p<0.05$ | |

HER2 pozitif ve negatif olan hastalar arasında TRPM4'ün gen ekspresyonu ve protein düzeyleri değerlendirildiğinde istatistiksel yönden bir farklılık tespit edilemedi ($p>0.05$) (Tablo 4-17).

Tablo 4-17: Grupların HER2 durumuna göre TRPM4 gen ekspresyonu ve protein düzeyleri açısından aritmetik ortalama (x), standart sapma (sd), medyan (m), minimum (min), maksimum (max) değerleri ile birlikte istatistiksel anlamlılıklarının (p değerleri) karşılaştırılması

| TRPM4 | HER2 (-) | HER2 (+) | P |
|------------------------|----------------------------------|---------------------------------|-------|
| | x±sd (medyan) (Min-Max) | x±sd (medyan) (Min-Max) | |
| Gen ekspresyonu | 8.60±14.25 (3.7) (0.24-75.09) | 3.18±2.69 (2.23) (0.32-8.78) | 0.097 |
| Protein düzeyi (ng/mL) | 1.91±1.54 (1.4) (0.14-7) | 1.81±1.33 (1.3) (0.65-5.5) | 0.879 |

Mann Whitney U test

TRPM4 gen ekspresyon düzeyi ile tümör belirteçleri karşılaştırıldığında anlamlı bir sonuç elde edilemedi ($p>0.05$). TRPM4 protein düzeyi ile CA125 arasında ters yönlü, orta düzeyli (%32.7) ve istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı ($p:0.011$; $p<0.05$).

TRPM4 protein düzeyi ile CEA ve CA15-3 arasında bir farklılık tespit edilemedi ($p>0.05$) (Tablo 4-18).

Tablo 4-18: TRPM4'ün gen ekspresyonu ve protein düzeyleri ile tümör belirteçlerinin korelasyonu

| | | Gen ekspresyonu | Protein düzeyi (ng/mL) |
|--------|---|-----------------|------------------------|
| CEA | r | 0.016 | -0.003 |
| | p | 0.902 | 0.979 |
| CA125 | r | -0.080 | -0.327 |
| | p | 0.545 | 0.011* |
| CA15-3 | r | 0.075 | 0.047 |
| | p | 0.570 | 0.721 |

Spearman's rho korelasyon testi

* $p<0.05$

İstatistiksel İncelemeler

Çalışmada elde edilen veriler üzerinde yapılan istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 yazılımı kullanılmıştır. Parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro Wilks testleri ile kontrol edilmiştir. Veriler değerlendirilirken, tanımlayıcı istatistiksel yöntemler (minimum, maksimum, ortalama, standart sapma, medyan, frekans) kullanılmış; niceliksel verilerin karşılaştırılmasında, normal dağılım gösteren parametreler için iki grup arasındaki farklar Student t testi ile, normal dağılım göstermeyen parametreler için ise Mann Whitney U testi ile analiz edilmiştir. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında Continuity (Yates) Düzeltmesi uygulanmıştır. Normal dağılıma uygun olan parametreler arasındaki ilişkiler Pearson korelasyon analizi ile, uygun olmayan parametreler arasındaki ilişkiler ise Spearman's rho korelasyon analizi ile incelenmiştir. En uygun kesim noktası, ROC eğrisi analizine dayanarak belirlenmiştir. Anlamlılık değeri $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir.

5. TARTIŞMA

Meme kanseri, kadınlar arasında sık rastlanılan kanser olmakla beraber düşük-orta gelirli ülkelerde ciddi bir sağlık sorunu olarak öne çıkmaktadır. Erken teşhis ve etkili tedaviye erişimdeki sınırlamalar, kanserin daha ileri evrelerde saptanmasına yol açarak ölüm oranlarını artırmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) Küresel Meme Kanseri İnisiyatifi (KMKİ) birimi, bu sınırlamaları gidermek amacıyla, 2021 yılında meme kanseri kaynaklı ölümleri 2040 yılına kadar 2,5 milyon azaltmayı hedeflemiştir. Düşük gelirli ülkelerde beş yıllık sağkalım oranı %40'a kadar azalırken, yüksek gelirli ülkelerde bu oran %90'ın üzerindedir. Bu farkın giderilmesi için özellikle gelişmekte olan ülkelerde meme kanseri çalışmalarının güçlendirilmesi gerektiği vurgulanmaktadır (114).

Her geçen gün meme kanseri üzerine daha fazla yapılan araştırmalar arasında, iyon kanalları da tedavi hedeflerinde önemli bir yer tutar ve insan ilaç hedefli proteinlerin yaklaşık beşte birini oluşturur. TRPM4 kanal proteininin Ca^{+2} bağlantılı sinyal iletiminde önemli bir rolü olduğu ve kanser gelişiminde hücre hareketliliği, proliferasyon, apoptoz ve metastaz gibi süreçleri etkilediği gösterilmiştir. Araştırmalar, TRPM4'ün meme kanseri hücrelerinde yüksek düzeyde ifade edilmesinin hücre içi Ca^{+2} dengesini bozarak kanser hücrelerinin yaşam döngüsünü ve yayılma kapasitesini artırabileceğini göstermektedir. TRPM4'ü hedefleyen tedavilerin, özellikle agresif tümörlerin büyüme hızını azaltmada yararlı olabileceği öngörülmektedir (99,100).

Yapılan bir çalışma, TRPM4 proteinin düşük düzeyde ifadesinin, rahim ağzı kanseri kaynaklı HeLa hücre hattının çoğalmasını engellediğini bildirmiştir. Bu hücrelerde, TRPM4'ün baskılanması, β -kateninin GSK-3b tarafından parçalanmasını artırarak, β -katenin/Tcf/Lef sistemine bağlı olan transkripsiyon sürecini düşürmektedir. Kontrol hücreleriyle karşılaştırıldığında, TRPM4'ün azalması, S fazındaki hücre sayısında bir azalma ve G1 fazındaki hücre sayısında bir artış ile ilişkilendirilmiştir. TRPM4'ün baskılanması, survivin ve siklin D1'in ifade seviyelerini azaltırken, TRPM4'ün aşırı ifadesi, yüksek β -katenin seviyeleri ve artan hücre çoğalmasına yol açmaktadır (115).

Endometrium kanseri hastalarının dokularında yapılan başka bir çalışmada araştırmacılar, TRPM4 ekspresyonunun azalmasının genel sağkalım ($p < 0.001$) ve nüksüz sağkalım ($p = 0.002$) ile ilişkisini tespit etmişlerdir. Bu bulgular, The Cancer Genome Atlas (TCGA)

veri setleri üzerinden mRNA seviyesinde analiz edilmiştir. Çalışmanın in vitro sonuçlarına göre; TRPM4'ün susturulması, EC hücrelerinde belirgin bir şekilde hücre çoğalması ve göç yeteneğinde artışa yol açmıştır. TRPM4 ekspresyonunun östrojen tarafından modüle edildiğini ve bu regülasyonun östrojen antagonistleri ile baskılandığı bildirilmiştir. TRPM4'ün susturulması, p53 protein seviyelerinde azalmaya ve EMT ile PI3K/AKT/mTOR sinyal yolunun aşırı aktivasyonuna neden olmuştur. Son olarak, TRPM4'ün aynı zamanda EC tedavisi için potansiyel bir terapötik hedef olarak da düşünülebileceği bildirilmiştir. (113).

Prostat kanserli hastaların dokusu üzerinde yapılan iki çalışmada da prostat bezi hücrelerinin TRPM4 ekspresyonunda, boyama yoğunluğunun iyi huylu bezlerle karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur. TRPM4 ekspresyonu yüksek olduğunda cerrahi işlem sonrasında da biyokimyasal nüks riskinin arttığı belirtilmiştir (116,105).

Kolorektal kanser çalışmalarında tümör hücrelerinin davranışlarını incelemek için oluşturulan HCT116 hücre hattı ile yapılan bir çalışmada, TRPM4'ün aşırı ifadesi metastaz ile ilişkilendirilmiştir. HCT116 hücrelerinde p53 ifadesi olmadığında, yüksek TRPM4 mRNA ve protein seviyeleri, TRPM4 aracılı Na^+ akımlarında artışa ve Ca^{+2} sinyalinde azalmaya yol açmıştır. HCT116 hücre hattında TRPM4'ün susturulması, depokaynaklı Ca^{+2} girişinde artışa; hücre canlılığı, çoğalması ve invazyonunda azalmaya yol açmıştır. Aynı hücre hattında TRPM4'ün tamamen devre dışı bırakılması, hücre döngüsünün G1 fazına kaymasına neden olmuş ve bu kaymanın p53 ifadesine bağlı olduğu gözlemlenmiştir. Bu araştırmacılar, p53 kaybı durumunda TRPM4 aracılı hücre döngüsü değişiminin ortadan kalktığını da gözlemlemişlerdir; bu da TRPM4 ifadesinin p53 tarafından baskılandığını göstermektedir (117). Buna karşı başka bir çalışmada 93 kolorektal kanser hastasının doku örnekleri incelendiğinde TRPM4'ün, mRNA ifadesinin sağlıklı kontrollere göre azaldığı bildirilmiştir (109,110).

2020 yılında yapılan bir çalışmada, TRPM4 proteininin meme kanserinde, sağlıklı meme epitelyal kanallarına göre daha fazla ifade edildiği bildirilmiştir. Bu çalışmada TRPM4 ifadesinin DCIS vakalarında bulunduğu gözlemlenmiştir. Bu durum TRPM4 ifadesinin normalden pre-kanseröz DCIS'e doğru arttığını ve DCIS'ten invaziv meme kanserine dönüşen vakalarda da devam edebileceğini düşündürmektedir. Ancak, bunu kesin olarak

kanıtlamak için daha fazla DCIS vakası ile çalışılması gerekmektedir. Çalışmada ayrıca TRPM4 ifadesinin demografik parametrelerle ilişkisi değerlendirildiğinde daha yüksek TRPM4 ekspresyonu lenf nodu tutulumuyla (N1-N2, N0; $p=0.024$) ve ileri evreyle (IIB-IIIb vs I-IIa; $p=0.005$) anlamlı bir şekilde ilişkilendirilmiştir. Bu durum TRPM4'ün meme kanserinde daha ileri evrelerle bağlantılı olduğunu ve bunun da koltuk altı lenf nodlarına metastazında rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Ek olarak, hem TRPM4 ekspresyonu hem de korelasyonu araştırılan tüm patolojik parametrelerle, yani ER, PR, HER2 ile ilişkilendirilmemiştir (118). Bizim çalışmamızda da hem erken evre (evre I ve evre II) ve ileri evre (evre III) arasında hem de hormon reseptörleri ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Verigos ve arkadaşlarının meme kanseri kök hücrelerinde yaptığı bir çalışma sonucunda, TRPM4'ün hücrelerde kemoterapiye direnç, nüks ve metastazda rol oynadığı öne sürülmüştür. TRPM4 proteini, meme kanseri kök hücrelerinde (bCSCs) fazla ifade edilmiştir ve bu proteinin susturulması, in vitro olarak bCSCs'lerin kök hücre özelliklerini doğrudan azaltarak potansiyel antitümör etkileri göstermiştir. Ayrıca çalışmada TRPM4'ün fazla ifadesinin, agresif meme tümörleriyle ilişkili olduğu bildirilmiştir (119).

2020 yılında yapılan başka bir çalışmada, K^+ kanal tetramerizasyon alanı 5 (KCTD5) proteininin, TRPM4 aktivitesinin pozitif bir düzenleyicisi olduğu ve KCTD5'in TRPM4'ü düzenleyerek hücre göçünü artırdığı bildirilmiştir. Bu çalışmada, sağlıklı meme dokularında ve meme kanseri vakalarında, TRPM4 ekspresyonunun ileri evre hastalarda önemli ölçüde daha yüksek olduğu gösterilmiştir; bu da bizim çalışmamızdaki sonuçlarla uyumludur. Ayrıca, TRPM4 gen ekspresyonunun, sağlıklı meme dokularına kıyasla üçlü negatif meme kanseri (TNBC) vakalarında önemli ölçüde artmış olduğu rapor edilmiştir (120).

2024 yılında yapılan bir çalışmada, laksatif olarak kullanılan Acetalax'ın ve onun analogu Dulcolax'ın (bisakodil), TNBC hücre hatlarında güçlü antiproliferatif aktivite sergilediği ve ATP tükenmesi ile bağışıklık ve inflamatuvar yanıtların artmasına yol açtığı bildirilmiştir. Bu çalışmada, MDA-MB231, MDA-MB436, MDA-MB468, BT549 ve HS578T hücreler kültüre edilmiştir. Endojen TRPM4 ekspresyonu olmayan MDA-MB231 ve MDA-MB436 hücreleri ile TRPM4'ü genetik olarak devre dışı bırakılmış (knock out) TNBC hücreleri, Acetalax ve bisakodil'e dirençli bulunmuştur. Buna karşılık,

TRPM4'ün ektopik ekspresyonu, MDA-MB231 ve MDA-MB436 hücrelerini Acetalax'a duyarlı hale getirmiştir. MDA-MB468, BT549 ve HS578T hücre hatlarında TRPM4'ün susturulması, acetalax ve bisakodilin etkisini artırırken, TRPM4 taşımayan hücrelerin bu ilaçlara dirençli olduğu belirtilmiştir. Bu bulgulara göre araştırmacılar, TRPM4'ün Acetalax ve bisakodil'in daha önce bilinmeyen bir hedefi olduğunu ve kanser hücrelerindeki TRPM4 ekspresyonunun, Acetalax ve bisakodil'in etkinliğinin bir göstergesi olabileceğini, dolayısıyla bu ilaçların antikanser ajanlar olarak geliştirilmesinde kullanılabileceğini savunmuşlardır (121).

Özetle TRPM4 protein aktivasyonu, hücrelerin iyon dengesi ve kalsiyum sinyalizasyonunda önemli bir rol oynar. Bu proteinin çeşitli kanser türlerinde ve özellikle de meme kanserinde aşırı ifade edilmesi hücrelerin kalsiyum dengesini bozarak kanser hücrelerinin hayatta kalması, büyümesi, hareketliliği ve metastazı gibi özelliklerini etkilemektedir.

Çalışmamızda meme kanserli hastaların ve sağlıklı kontrol grubunun serum örneklerinde, TRPM4 gen ekspresyonu seviyeleri karşılaştırıldığında hasta örneklerinin seviyesi daha yüksek bulunmuştur ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p:0.001$; $p<0.05$).

Her iki grup arasında serum protein düzeylerine bakıldığında bir anlamlılık bulunamamıştır ($p>0.05$). Hem hasta hem de kontrol grubu arasında, TRPM4'ün gen ekspresyonu ve protein düzeyi ile bir korelasyon saptanamamıştır. Ayrıca istatistiksel yönden değerlendirildiğinde anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0.05$).

Hastaların yaş, menopoz, ek hastalıklar, histolojik tanı, evrelemeye göre TRPM4'ün gen ekspresyonu ve protein düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel bir anlamlılık saptanamamıştır ($p>0.05$). Bizim çalışmamızda erken evre ve ileri evre arasında istatistiksel bir anlamlılık saptanmasa da TRPM4 gen ekspresyonu ileri evrede daha yüksek bulunmuştur. Çalışmamızın negatif yönü de dördüncü evre hastamızın bulunmamasıdır.

Hastaların ER ve HER2 durumuna göre TRPM4'ün gen ekspresyonu ve protein düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p>0.05$). Fakat PR düzeyi ile gen ekspresyon düzeyi arasında ters yönlü, zayıf düzeyli (%29.2) ve anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir ($p:0.023$; $p<0.05$).

TRPM4'ün gen ekspresyon seviyesi ile rutin biyokimyasal belirteçlerin korelasyonları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p>0.05$).

Hastaların TRPM4 protein düzeyleri ve rutin biyokimyasal belirteçlerin korelasyonları karşılaştırıldığında; CA125 arasında ters yönlü, orta düzeyli (%32.7) ve istatistiksel olarak anlamlılık hesaplanmıştır ($p:0.011$; $p<0.05$). Fakat CEA ve CA15-3 arasında herhangi bir korelasyon bulunmamıştır ($p>0.05$).

Çalışmamızda TRPM4'ün protein ve gen ekspresyon düzeyinde kullanılabilme potansiyellerine bakıldığında; TRPM4'ün gen ekspresyon düzeyinin anlamlı sonuç verdiği ve biyobelirteç olarak kullanılabilme ihtimalinin olabileceğini düşündürmektedir.



KAYNAKLAR

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A. ve ark. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2021; **71**: 209–49
2. Majeed W, Aslam B, Javed I. ve ark. Breast cancer: major risk factors and recent developments in treatment. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; **15(8)**:3353-3358
3. Siegel RL, Miller KD, and Jemal A. Cancer Statistics, *CA Cancer J Clin* 2017;**67**:7-30.
4. Nilius B, Owsianik G. The transient receptor potential family of ion channels. *GenomeBiol* 2011; **12**:218
5. Borgström A, Peinelt C, Stoklosa P. TRPM4 in Cancer-A New Potential Drug Target. *Biomolecules* 2021;**11**:229
6. Ellis H, Colborn GL, Skandalakis JE, Surgical embryology and anatomy of the breast and its related anatomic structures.*Surgical Clinics of North America* 1993;**73(4)**:611-32.
7. Moore K, Persaud T. The Developing *Human-Clinically Oriented Embryology*. Philadelphia: PA WB Saunders Company;1986; 1011-1018.
8. Cabioğlu N. *Memenin Anatomisi ve Fizyolojisi*. Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri;2009.
9. Johnson MC, Cutler ML. İçinde Jatoi I, Rody A, editors. *Anatomy and Physiology of the Breast*. Management of Breast Diseases, 2nd ed. Switzerland; 2016.
10. Erel S, Atahan KM. İçinde Akça T, Çakmak GK, Emre AU editör. *Memenin Anatomisi, Fizyolojisi ve Değerlendirilmesi*. Genel Cerrahi Ders Kitabı; 2019. 395-410.
11. Stranding S, editör. *Gray's anatomy: the anatomical basis of clinical practice*. 39th ed. Edinburgh: Elsevier, Churchill, Livingstone; 2005.
12. Cody HS 3rd. Clinical significance and management of extraaxillary sentinel lymphnodes: worthwhile or irrelevant? *Surg Oncol Clin N Am* 2010; **19**: 507-17.
13. İnce Ü. İçinde Topuz E, editör. *Memenin Anatomisi, Meme Kanseri, İÜ Onkoloji Enstitüsü Yayınları*, İstanbul; 1997:1-15

14. Moore K.L. İçinde Williams and Wilkins, editör. *Clinically Oriented Anatomy*. Baltimore;1992.pp.45-48
15. Giaquinto AN, Sung H, Miller KD. Breast cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2022;**72**: 524-41.
16. Xu Y, Gong M, Wang Y, Yang Y, Liu S, Zeng Q. Global trends and forecasts of breast cancer incidence and deaths. *Scientific Data* 2023;**10**:334.
17. Arnold M, Morgan E, Rungay H ve ark. Current and future burden of breast cancer: Global statistics for 2020 and 2040. *Breast* 2022;**66**:15-23.
18. Açıkgöz A, Yıldız E. Meme Kanseri Etiyolojisi ve Risk Faktörleri, *Dergipark* 2017;**5**(1):45-56
19. Benz CC. Impact of Aging On The Biology of Breast Cancer. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 2008;**66**:65-74.
20. Türkiye Meme Vakfı. *Meme Kanseri Risk Faktörleri 2023*, Meme Vakfı (internette), Erişim 10.05.2023, <https://www.memekanseri.org.tr/meme-sagligi/meme-kanseri-risk-faktorleri/>.
21. Altekruse S, Kosary C, Krapcho M, Neyman N, Aminou R, Waldron ve ark. *SEER cancer statistics review, 1975-2007*.Erişim 11.06.2023, Bethesda, MD: National Cancer Institute: http://seer.cancer.gov/csr/1975_2007/
22. Giordano SH. Breast Cancer in Men. *The New England Journal of Medicine* 2018;**378**:2311-2320.
23. Çelik A, Acar M, Erkul CM, Gündüz E, Gündüz M. Relationship of Breast Cancer with Ovarian Cancer. *A Concise Review of Molecular Pathology of Breast Cancer*.2015. pp.87-202.
24. Shiovitz S, Korde LA. Genetics of breast cancer: a topic in evolution. *Ann Oncol* 2015;**26**:1291-9.
25. Antoniou A, Pharoah PDP, Narod S, Risch HA, Eyfjord JE, Hopper JL ve ark. Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case series unselected for family history:A combined analysis of22 studies. *The American Journal of Human Genetics* 2003;**72**:1117-30.
26. Olsson HL, Olsson ML. The menstrual cycle and risk of breast cancer: a review. *Front Oncol* 2020;**10**:21.

27. Freer PE. Mammographic breast density: impact on breast cancer risk and implications for screening. *Radiographics* 2015;**35**:302-15
28. Gierach GL, Ichikawa L, Kerlikowske K, Brinton L, Farhat G, Vacek P ve ark. Relationship between mammographic density and breast cancer death in the Breast Cancer Surveillance Consortium. *J Natl Cancer Inst* 2012;**104**:1218-27.
29. Ma H, Hill CK, Bernstein L, & Ursin G. Low-dose medical radiation exposure and breast cancer risk in women under age 50 years overall and by estrogen and progesterone receptor status: results from a case-control and a case-case comparison. *Breast Cancer Research and Treatment* 2008;**109**(1):77-90.
30. Golubicic I, Borojevic N, & Pavlovic T. Risk factors for breast cancer: is ionizing radiation among them? *Official Journal of the Balkan Union of Oncology* 2007;**13**(4):487-494.
31. Hilakivi-Clarke L. Maternal Exposure to Diethylstilbestrol During Pregnancy and Increased Breast Cancer Risk in Daughters. *Breast Cancer Res* 2014;**16**:208.
32. Palmer JR. Prenatal Diethylstilbestrol Exposure and Risk of Breast Cancer. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 2006;**15**:1509-1514.
33. Xu Y, Rogers CJ. Physical activity and breast cancer prevention: possible role of immune mediators. *Front Nutr* 2020;**7**:557-997.
34. Hamajima N, Hirose, K, Tajima K, Rohan T, Calle E, Heath Jr C ve ark. Alcohol, tobacco and breast cancer collaborative reanalysis of individual data from 53 epidemiological studies, including 58,515 women with breast cancer and 95,067 women without the disease. *British Journal of Cancer* 2002;**87**(11):1234-1245.
35. Land SR, Liu Q, Wickerham DL, Costantino JP & Ganz PA. Cigarette smoking, physical activity, and alcohol consumption as predictors of cancer incidence among women at high risk of breast cancer in the NSABP P-1 Trial. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* 2014;**23**(5):823-832.
36. Cui Y, Miller AB, & Rohan TE. Cigarette smoking and breast cancer risk: update of a prospective cohort study. *Breast Cancer Research and Treatment* 2006;**100**(3):293-299
37. Johns LE, Jones M, Schoemaker M, McFadden E, Ashworth A, Swerdlow A ve ark. Domestic Light At Night And Breast Cancer Risk: A Prospective Analysis

- of 105,000UK Women in The Generations Study. *Br. J. Cancer* 2018;**118**:600-606.
38. Velicer CM, Lampe JW, Heckbert SR, Potter J, Taplin S. Hypothesis: Is antibiotic use as sociated with breast cancer? *Cancer Causes Control* 2003;**14**:739-747.
39. Tarhan ÖR, Şahin G, Söker S, Argun A, Türker AK, Üstündağ BB. İçinde Tarhan OR. Editör. *Meme Hastalıkları Genel Cerrahi*;2019. pp. 187-220.
40. Ünal H. İçinde Ünal G, Ünal H editörler. *Selim Meme Hastalıkları*. Ankara: Nobel TıpKitabevleri; 2001.pp. 167-88.
41. Koo MM, Von Wagner C, Abel GA, McPhail S, Rubin GP, Lyratzopoulos G. Typical and atypical presenting symptoms of breast cancer and their associations with diagnostic intervals: Evidence from a national audit of cancer diagnosis. *CancerEpidemiology* 2017;**48**:140-6.
42. Rogers LR. Cerebrovascular complications in cancer patients. *Neurol Clin* 2003;**21**(1):167-92.
43. Doğan L. Meme Kanserinde Tanı. Meme Kanseri Korunma, Tarama, Tanı, Tedavi ve İzlem Klinik Rehberi: Sağlık Bakanlığı Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Araştırma, Geliştirme ve Sağlık Teknolojisi Değerlendirme Dairesi Başkanlığı; 2020. pp. 24-8.
44. Meme Hastalıkları Dernekleri Federasyonu. Meme Kanseri Eğitim Modülü Uzman Hekimler (internette). Erişim 10.09.2023. https://www.tmhdf.org.tr/Uploads/Editor/files/MemeKanseri_UzmanHekim.pdf
45. Çetintaş S. İçinde Engin K editör. *Meme Kanserinde Kendi Kendine Muayene ve FizikMuayene*. Meme Kanseri: Nobel Tıp Kitapevleri; 2005.pp. 163-8.
46. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Kanser Daire Başkanlığı. Kendi Kendine Meme Muayenesi. Erişim 13.11.2023. <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/haberler-kanser/ekimmeme-kanseri-farkindalik-ayi.html>
47. Provencher L, Hogue JC, Desbiens C, Poirier B, Poirier E, Boudreau D ve ark. Is Clinical Breast Examination Important for Breast Cancer Detection? *Current Oncology* 2016;**23**(4):332-9.
48. Fenton JJ, Rolnick SJ, Harris EL, Barton MB, Barlow WE, Reisch LM ve ark. Specificity of Clinical Breast Examination in Community Practice. *Journal of General Internal Medicine* 2007;**22**(3):332-7.

49. National Health Commission of the People's Republic of China. National guidelines for diagnosis and treatment of breast cancer 2022 in China (English version). *Chin J Cancer Res* 2022;**34**:151-75.
50. Burnside ES, Sickles EA, Bassett LW, Rubin DL, Lee CH, Ikeda DB ve ark. The ACRBI-RADS® experience: learning from history. *J Am Coll Radiol* 2009;**6**:851-60.
51. Adalet I, Mudun A, Ünal SN, Türkmen C. Nükleer Tıp Ders Kitabı. Erişim 05.01.2024. http://cdn.istanbul.edu.tr/statics/ogrenciistanbultip.istanbul.edu.tr/wpcontent/uploads/2010/05/079_nukleer.tip_.kitap_.hali1_.pdf
52. Liberman L, Smolkin JH, Dershaw DD, Abramson AF, Rosen PP ve ark. Calcification retrieval at stereotactic, 11-gauge, directional, vacuum-assisted breast biopsy. *Radiology* 1998;**208**:251-60.
53. Liberman L. Centennial dissertation: percutaneous imaging-guided core breast biopsy state of the art at the millennium. *AJR* 2000;**174**:1191-1199.
54. Gusterson BA, Ross DT, Heath VJ, Stein T. Basal cytokeratins and their relationship to the cellular origin and functional classification of breast cancer. *Breast Cancer Research* 2005;**7**(4).
55. Sinn H-P, Kreipe H. A Brief Overview of the WHO Classification of Breast Tumors, 4th Edition, Focusing on Issues and Updates from the 3rd Edition. *Breast Care* 2013;**8**:149-154
56. Olivetto I, Levine M; Steering Committee on Clinical Practice Guidelines for the Care and Treatment of Breast Cancer. Clinical practice guidelines for the care and treatment of breast cancer: the management of ductal carcinoma in situ (summary of the 2001 update). *CMAJ* 2001;**165**(7):912-3.
57. Collins LC, Tamimi RM, Baer HJ, Connolly JL, Colditz GA, Schnitt SJ. Outcome of patients with ductal carcinoma in situ untreated after diagnostic biopsy: results from the Nurses' Health Study. *Cancer* 2005;**103**(9):1778-84.
58. Çiftçi A, Özkara A, Tursun S, Demirel B, Kekilli M. *Bütüncül Tıp (Birinci Basamakta ve Aile Hekimliğinde Güncel Tanı-Tedavi)*. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri; 2020.)
59. Winchester DJ, Chang HR, Graves TA, Menck HR, Bland KI, Winchester DP. A Comparative Analysis of Lobular and Ductal Carcinoma of the Breast:

- Presentation, Treatment, and Outcomes¹ This study was supported by the American Cancer Society and the American College of Surgeons. *Journal of the American College of Surgeons* 1998;**186**(4):416-22.
60. Fisher ER, Kenny JP, Sass R, Dimitrov NV, Siderits RH, Fisher B. Medullary cancer of the breast revisited. *Breast Cancer Res Treat* 1990;**16**(3):215-29.
 61. Puglisi F, Zuiani C, Bazzocchi M, Valent F, Aprile G, Pertoldi B ve ark. Role of mammography, ultrasound and large core biopsy in the diagnostic evaluation of papillary breast lesions. *Oncology* 2003;**65**(4):311-5.
 62. Chen CY, Sun LM, Anderson BO. Paget disease of the breast: changing patterns of incidence, clinical presentation, and treatment in the U.S. *Cancer* 2006;**107**:1448-58.
 63. Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind CH. *TNM classification of malignant tumours*. 7th ed. USA; 2009.
 64. International Union Against Cancer (UICC). *Committee on Clinical Stage Classification and Applied Statistics. Clinical Stage Classification and Presentation of Results, Malignant Tumours of the Breast and Larynx*. Paris; 1958.
 65. American Joint Committee for Cancer Staging and End Results Reporting. *Manual for Staging of Cancer*. Chicago, IL: American Joint Committee; 1977.
 66. Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, Allred DC, Hagerty KL, Badve S ve ark. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *J Clin Oncol* 2010;**28**:2784–95
 67. Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH ve ark. American Society of Clinical Oncology, College of American Pathologists, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol* 2013;**31**:3997–40133.
 68. Amin MB, Greene FL, Edge SB, Compton CC, Gershengwald JE, Brookland RK ve ark. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more “personalized” approach to cancer staging. *Ca-Cancer J Clin* 2017;**67**(2):93-9.

69. Kalli S, Semine A, Cohen S, Naber SP, Makim SS, Bahl M. American Joint Committee on Cancer's Staging System for Breast Cancer, Eighth Edition: What the Radiologist Needs to Know. *Radiographics* 2018;**38**(7):1921-33.
70. Engelman JA. Targeting PI3K signalling in cancer: opportunities, challenges and limitations. *Nat Rev Cancer* 2009; 9(8): 550- 562.
71. Hynes NE, Dey JH. PI3K inhibition overcomes trastuzumab resistance: blockade of ErbB2/ErbB3 is not always enough. *Cancer cell* 2009;**15**:353-355
72. She QB, Chandarlapaty S, Ye Q, Lobo J, Haskell KM, Leander KR ve ark. Breast tumor cells with PI3K mutation or HER2 amplification are selectively addicted to Akt signaling. *PLoS One* 2008;**3**(8):3065.
73. Baselga, J. Targeting the phosphoinositide-3 (PI3) kinase pathway in breast cancer. *The Oncologist* 2011;**16**(1):12-19.
74. Dontu G, Jackson KW, McNicholas E, Kawamura MJ, Abdallah WM, & Wicha MS. Role of Notch signaling in cell-fate determination of human mammary stem/progenitor cells. *Breast Cancer Research* 2004;**6**(6)
75. Pannuti A, Foreman K, Rizzo P, Osipo C, Golde T., Osborne B, & Miele L. Targeting Notch to target cancer stem cells. *Clin Cancer Res* 2010;**16**(12), 3141-3152.doi:10.1158/1078-0432.CCR-09-2823
76. Liu J, Shen JX, Wen XF, Guo YX & Zhang GJ. Targeting Notch degradation system provides promise for breast cancer therapeutics. *Crit Rev Oncol Hematol* 2016;**104**:21-9.
77. Yu Z, Pestell TG, Lisanti MP & Pestell RG. Cancer stem cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2012;**44**(12):2144- 2151.
78. Atapattu L, Saha N, Chheang C, Eissman MF, Xu K, Vail ME ve ark. An activated form of ADAM10 is tumor selective and regulates cancer stem-like cells and tumorgrowth. *J Exp Med* 2016;**213**(9):1741-1757.
79. Iqbal W, Alkarim S, AlHejin A, Mukhtar & Saini KS. Targeting signal transduction pathways of cancer stem cells for therapeutic opportunities of metastasis. *Onco- target* 2016;**7**(46): 76337-76353.
80. Arı S. Meme Kanser Kök Hücrelerinde Notch Sinyal Yolağının İnhibisyonunda Güncel Yaklaşımlar. *Marmara Fen Bilimleri Dergisi* 2018,**1**:94-104.Erişim. 10.08.2024 <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/450891>

81. Harrison H, Farnie G, Howell SJ, Rock RE, Stylianou S, Brennan KR ve ark. Regulation of breast cancer stem cell activity by signaling through the Notch4 receptor. *Cancer Res* 2010;**70**(2):709-718.
82. Andrieu G, Tran AH, Strissel KJ & Denis GV. BRD4 Regulates Breast Cancer Dissemination through Jagged1/Notch1 Signaling. *Cancer Res* 2016;**76**(22):6555-6567.
83. Polyak K & Weinberg RA. Transitions between epithelial and mesenchymal states: acquisition of malignant and stem cell traits. *Nat Rev Cancer* 2009;**9**(4):265-273.
84. Ilyas M. Wnt signalling and the mechanistic basis of tumour development. *J Pathol* 2005;**205**(2)130-144
85. Mikels AJ, Nusse R. Wnts as ligands: processing, secretion and reception. *Oncogene* 2006; **25**(57):7461-8.
86. Altınok B, Sunguroğlu A. Wnt Sinyal Yolağı ve Kanser. *Ankara Sağlık Hizmetleri Dergisi* 2016; **15**:28-38. Erişim 10.08.2024. <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/572365>
87. Xu X, Zhang M, Xu F, Jiang S. Wnt signaling in breast cancer: biological mechanisms, challenges and opportunities. *Molecular Cancer* 2020;**19**:165.
88. Nilius B, Owsianik G. The transient receptor potential family of ion channels. *Genome Biol* 2011;12:218
89. Launay P, Fleig A, Perraud AL, Scharenberg AM, Penner R, Kinet JP. TRPM4 is a Ca⁺²-activated nonselective cation channel mediating cell membrane depolarization. *Cell* 2002;**109**:397–407.
90. Guinamard R, Sallé L, Simard C. The Non-selective Monovalent Cationic Channels TRPM4 and TRPM5. *Adv. Exp. Med. Biol* 2011;**704**:147–171.
91. Vennekens R, Nilius B. Insights into TRPM4 function, regulation and physiological role. *Handb. Exp. Pharmacol* 2007;269.
92. Launay P, Fleig A, Perraud AL, Scharenberg AM, Penner R, Kinet JP. TRPM4 is a Ca²⁺-activated nonselective cation channel mediating cell membrane depolarization. *Cell* 2002;**109**:397–407.
93. Guinamard R, Demion M, Launay P. Physiological roles of the TRPM4 channel extracted from background currents. *Physiology* 2010; **25**:155–164.

94. Kurland DB, Tosun C, Pampori A, Karimy JK, Caffes NM, Gerzanich V ve ark. Glibenclamide for the treatment of acute CNS injury. *Pharmaceuticals* 2013;**6**:1287-1303.
95. Loh KY, Wang Z, Liao P. Oncotic cell death in stroke. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol* 2019;**176**:37–64.
96. Kruse M, Schulze-Bahr E, Corfield V, Beckmann A, Stallmeyer B, Kurtbay G ve ark. Impaired endocytosis of the ion channel TRPM4 is associated with human progressive familial heart block type I. *J. Clin. Investig* 2009;**119**:2737–2744.
97. Ghesquier AH, Haustrate A, Prevarskaya N, Lehen'kyi V. TRPM Family Channels in Cancer. *Aceuticals (Basel)* 2018;**11**(2):58.
98. Prevarskaya N, Ouadid-Ahidouch H, Skryma R, Shuba Y. Remodelling of Ca⁺² transport in cancer: How it contributes to cancer hallmarks? *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci* 2014;**369**:20130097.
99. Almasi, S, El Hiani Y. Exploring the Therapeutic Potential of Membrane Transport Proteins: Focus on Cancer and Chemoresistance. *Cancers* 2020;**12**:1624
100. Blanco C, Morales D, Mogollones I, Vergara-Jaque A, Vargas C, Álvarez A ve ark. EB1- and EB2-dependent anterograde trafficking of TRPM4 regulates focal adhesion turnover and cell invasion. *FASEB J* 2019;**33**:9434–9452.
101. Borgström A, Peinelt C, Stoklosa P. TRPM4 in Cancer-A New Potential DrugTarget. *Biomolecules* 2021;**11**:229
102. Syam N, Rougier JS, Abriel H. Glycosylation of TRPM4 and TRPM5 channels: Molecular determinants and functional aspects. *Front. Cell. Neurosci* 2014;**8**:52.
103. Yan J, Bengtson CP, Buchthal B, Hagenston AM, Bading H. Coupling of NMDA receptors and TRPM4 guides discovery of unconventional neuroprotectants. *Science* 2020;**370**:3302
104. Holzmann C, Kappel S, Kilch T, Jochum MM, Urban SK, Jung V ve ark. Transient receptor potential melastatin 4 channel contributes to migration of androgeninsensitive prostate cancer cells. *Oncotarget* 2015;**6**:41783–41793

105. Borgström A, Hauert B, Kappel S, Zoni E, Kiener M, Stoklösa, P ve ark. Small Molecular Inhibitors Block TRPM4 Currents in Prostate Cancer Cells, with Limited Impact on Cancer Hallmark Functions. *J. Mol.Biol* 2020;12
106. Berg KD, Soldini D, Jung M, Dietrich D, Stephan C, Jung K, Dietel M ve ark. TRPM4proteinexpression in prostate cancer: A novel tissue biomarker associated with risk of biochemical recurrence following radical prostatectomy. *Virchows Arch* 2015;468:345–355.
107. Sagredo AI, Sagredo E, Pola V, Echeverría C, Andaur R, Michea L ve ark. TRPM4 channel is involved in regulating epithelial to mesenchymal transition, migration, and invasion of prostate cancer cell lines. *J. Cell. Physiol* 2019;234:20372050.
108. Loo SK, Ch'Ng ES, Salleh SM, Banham AH, Pedersen LM, Møller MB ve ark. TRPM4 expression is associated with activated B cell subtype and poor survival in diffuse large B cell lymphoma. *Histopathology* 2017;**71**:98–111
109. Sozucan Y, Kalender ME, Sari I, Suner A, Oztuzcu S, Arman K ve ark. Trp Genes Family Expression in Colorectal Cancer. *Exp. Oncol* 2015;37:208–212
110. Mc Georges L, Verset L, Zlobec I, Demetter P, De Wever. Impact of the Microenvironment on Tumour Budding in Colorectal Cancer. *Adv. Exp. Med. Biol* 2018;**1110**:101–111.
111. Armisen R, Marcelain K, Simon F, Tapia JC, Toro J, Quest AF ve ark. TRPM4 enhances cell proliferation through up-regulation of the β -catenin signaling pathway. *J. Cell. Physiol* 2010;226:103–109
112. Narayan G, Bourdon V, Chaganti S, Arias-Pulido H, Nandula SV, Rao PH ve ark. Gene dosage alterations revealed by cDNA microarray analysis in cervical cancer: Identification of candidate amplified and overexpressed genes. *Genes Chromosom Cancer* 2007;**46**:373–384.
113. Li XC, Cheng Y, Yang X, Zhou JY, Dong YY, Shen BQ ve ark. Decreased expression of TRPM4 is associated with unfavorable prognosis and aggressive progression of endometrial carcinoma. *Am. J. Trans Res* 2020;12:3926–3939.
114. WHO. The Global Breast Cancer Initiative (internet). Erişim 05.09.2024 <https://www.who.int/initiatives/global-breast-cancer-initiative>

115. Armisen R, Marcelain K, Simon F, Tapia JC, Toro J, Quest AF ve ark. TRPM4 enhances cell proliferation through up-regulation of the b-catenin signaling pathway. *JCell Physiol* 2011;**226**:103–9.
116. Berg KD, Soldini D, Jung M, Dietrich D, Stephan C, Jung K ve ark. TRPM4 protein expression in prostate cancer: A novel tissue biomarker associated with risk of biochemical recurrence following radical prostatectomy. *Virchows Arch* 2016;**468**:345–355.
117. Kappel S, Kaschitza DR, Hauert B, Rother K, Peinelt C. p53 alters intracellularCa²⁺ signaling through regulation of TRPM4. *Cell Calcium* 2022;**104**:102591.
118. Wong KK, Hussain FA. TRPM4 is over-expressed in breast cancer associated with estrogen response and epithelial-mesenchymal transition gene sets. *PloS One* 2020;**15**:0233884
119. Verigos J, Kordias D, Papadaki S, Magklara A. Transcriptional profiling of tumorspheres reveals TRPM4 as a novel stemness regulator in breast cancer. *Biomedicines* 2021;**9**:1368.
120. Rivas J, Díaz N, Silva I, Morales D, Lavanderos B, Álvarez A ve ark. KCTD5, a novel TRPM4-regulatory protein required for cell migration as a new predictor for breast cancer prognosis. *FASEB J* 2020;**34**:7847–7865
121. Mizunuma M, Redon EC, Saha LK, Tran DA, Dhall A, Sebastian R ve ark. Acetalax (Oxyphenisatin Acetate, NSC 59687) and Bisacodyl Cause Oncosis in Triple-Negative Breast Cancer Cell Lines by Poisoning the Ion Exchange Membrane Protein TRPM4. *Cancer Res Commun* 2024;**4**(8):2101 – 2111.

FORMLAR

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Sayın gönüllü,

İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü'ne meme kanseri tanısı konmuş hastalar arasından rastgele seçilecek olan 60 kişi ile "TRPM4 Proteininin Meme Kanserinde Rolü" adlı çalışma yapılacaktır. TRPM4'ün molekülünün protein ve mRNA düzeylerine ait literatürler incelenmiş olup bu proteine ait son yıllardaki çalışmaların kanserin gelişimi ile ilgili olduğu fakat meme kanseri ile ilgili yeterli çalışma olmadığı görülmüştür. Bu amaçla planlanmış olduğumuz çalışmada meme kanserli hastalarda diagnostik ve prognostik önemi olabileceğini düşündüğümüz TRPM4 proteininin serum değerleri belirlenecektir. Amacımız bu proteininin meme kanserinde ne düzeyde sentezlenip sentezlenmediğini göstermektir. Literatürde meme kanserinde yapılmış benzer çalışmaların çok az sayıdan olması sebebi ile elde edilecek sonuçların meme kanserli hastaların tanı ve takibinde klinik bulgularla birlikte faydalı bir çalışma olacağını düşünmekteyiz.

Bu çalışmaya gönüllü olmaya karar verirseniz bu bilgilendirilmiş olur (onay) formunu imzalamanız gerekecektir. Sadece kendi rızanız ile hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın, tedaviniz esnasında doktorunuz tarafından alınacak 7-10 cc.'lik kan örneğiniz ile bu bilimsel çalışmaya katılmış olacaksınız. Kan alma sırasında kan alınan bölgede acı, morarma, kanama ya da diğer rahatsızlıklar meydana gelebilir, fakat bu güçlüklerin en aza indirilmesi için önlemler alınacaktır.

Çalışmaya katılım, gönüllülük esasına dayanmaktadır. Çalışmaya katılmayı kabul eden herhangi bir kişi, çalışma sorumlusu Prof. Dr. Derya Duranyıldız'ı bilgilendirmek suretiyle istediği zaman çalışmadan çıkabilir. Çalışmadan çıkmış olan kişinin tedavi programında herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Çalışma ile ilgili katılımcılardan herhangi bir ücret talep edilmeyeceği gibi, katılımcılara herhangi bir ödeme de yapılmayacaktır. Çalışmaya katılacak kişilere ait veriler çalışma merkezlerinde elektronik ortamda saklanacak, gerektiğinde kimlik bilgileri verilmeden, araştırma amaçlı olarak başka zamanlarda da kullanılabilir.

Gönüllü Beyanı

Sayın Prof. Dr. Derya Duranyıldız tarafından İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü'nde tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki

bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağına bilincindeyim) Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Doç. Dr. Süleyman Bademler’i 0533 2029255 numaralı telefonundan arayabileceğimi biliyorum. Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkime herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm aııklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağınının bir kopyası bana verilecektir.

GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-soyadı/ İmzası/Tarih/ Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Gönüllü Vasisinin (gerekiyorsa) Adı-soyadı/ İmzası/Tarih/ Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

**Araştırma ekibinde yer alan ve yetkin bir araştırmacının
Adı-soyadı/ İmzası/ Tarih**

Gerekiyorsa olur işlemine tanık olan kişinin Adı-soyadı/ İmzası/Tarih/ Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Gerekiyorsa yasal temsilcisinin Adı-soyadı/ İmzası/Tarih/ Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

ETİK KURUL KARARI

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

TRPM4 PROTEİNİNİN MEME KANSERİNDE ROLÜ-2

ORJİNALLİK RAPORU

| | | | |
|-------------------|---------------------|-------------|------------------|
| % 17 | % 15 | % 10 | % 7 |
| BENZERLİK ENDEKSİ | İNTERNET KAYNAKLARI | YAYINLAR | ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ |

BİRİNCİL KAYNAKLAR

| | | |
|----------|--|------------|
| 1 | acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı | % 4 |
| 2 | nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı | % 2 |
| 3 | docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı | % 1 |
| 4 | dspace.baskent.edu.tr İnternet Kaynağı | % 1 |
| 5 | www.researchgate.net İnternet Kaynağı | % 1 |
| 6 | Submitted to Saglik Bilimleri Universitesi Öğrenci Ödevi | % 1 |
| 7 | Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) Öğrenci Ödevi | % 1 |
| 8 | Submitted to Canakkale Onsekiz Mart University Öğrenci Ödevi | % 1 |
| 9 | dulieuphapply.vn | |