



**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**MEME KANSERİ İLE UGT1A10 GEN EKSPRESYONU
ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Mehmet Veli DEMİRTOK
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Fahrettin YILDIZ**

Ağustos-2014

**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**MEME KANSERİ İLE UGT1A10 GEN EKSPRESYONU
ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Mehmet Veli DEMİRTOK
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Fahrettin YILDIZ**

Ağustos-2014

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

MEME KANSERİ İLE UGT1A 10 GEN EXPRESYONU ARASINDAKİ
İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

DR. MEHMET VELİ DEMİRTOK

26.08.2014

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

Prof.Dr. Levent ELBEYLİ
Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. M. Avni GÖKALP
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

Doç. Dr. Fahrettin YILDIZ
Tez Danışmanı

TEZ JÜRİSİ:

1. Prof. Dr. M. Avni GÖKALP
2. Doç. Dr. Fahrettin YILDIZ
3. Yrd. Doç. Dr. Ahmet ŞEKER

Yedek Liste

1. Yrd. Doç. Dr. İlyas BAŞKONUŞ
2. Yrd. Doç. Dr. Ersin BORAZAN

I. ÖNSÖZ

Tezimin planlanmasından tamamlanmasına kadar her aşamasında yardım ve katkıları için değerli hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Fahrettin YILDIZ'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim süresince deneyim, bilgilerini paylaşan ve hoşgörülerini esirgemeyen, Genel Cerrahi A.D. öğretim üyeleri Sn. Prof. Dr. Avni GÖKALP, Sn. Prof. Dr. Necdet AYBASTI, Sn. Prof. Dr. Ahmet A. BALIK, Sn. Prof. Dr. Göktürk MARALCAN, Sn. Doç. Dr. Sacid ÇOBAN, Sn. Yrd. Doç. Dr. İlyas BAŞKONUŞ, Sn. Yrd. Doç. Dr. Ersin BORAZAN hocalarıma teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

İhtisas sürecinde birlikte çalıştığım ve bana destek olan tüm arkadaşlarıma ve klinik çalışanlarına teşekkür ederim.

İyi günde, kötü günde, hastalıkta, sağlıkta, her türlü zorlukta yanımda olmaya söz veren ve sözünü fazlasıyla tutan sevgili eşim Nazlım'a, mutluluk ve huzur kaynaklarım canım evlatlarım Suat ve Serhat'a, hastalığına rağmen hep destek olan anneme, fedakar babama ve kardeşlerime ayrı ayrı sonsuz teşekkür ederim. Ayrıca tez yazım aşamasında bana yardımcı olan Ziraat Yüksek Mühendisi Mustafa Demirtok kardeşime teşekkür ederim.

Dr. Mehmet Veli DEMİRTOK

Gaziantep, 2014

II. İÇİNDEKİLER

I. ÖNSÖZ	I
II. İÇİNDEKİLER	II
III. ÖZET	IV
IV. ABSTRACT	V
V. KISALTMALAR	VI
VI. TABLO LİSTESİ	VII
VII. ŞEKİL LİSTESİ	VIII
VIII. RESİM LİSTESİ	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Meme Anatomisi	2
2.1.1. Memenin Arterleri ve Venleri	5
2.1.2. Memenin Sinirleri	6
2.1.3. Memenin Lenfatik Sistemi ve aksiler lenf nodülleri	7
2.1.4. Meme Fizyolojisi	10
2.2. Meme Kanseri	10
2.2.1. Risk Faktörleri	11
2.2.1.1. Ailesel Faktörler	12
2.2.1.2. Hormonal Faktörler	13
2.2.1.3. Diyet ve Hayat Tarzı	13
2.2.1.4. Radyasyona Maruziyet	13
2.2.1.5. Meme Dansitesi ve Mammografik Özellikler	14
2.2.1.6. Premalign Lezyonlar	14
2.3. Meme Kanseri Tanısı	14
2.4. Meme Kanserinin Patolojik Sınıflandırılması	14
2.4.1. Karsinoma in situ	15
2.4.2. İnvaziv Duktal Karsinom	15

2.4.3. İnvaziv Lobüler Karsinom	15
2.5. Meme Kanserinin Evrelemesi	16
2.5.1. Meme kanseri AJCC Evrelemesi	16
2.5.2. Primer Tümör (T)	16
2.5.3. Rejyonel lenf nodu metastazı (N)	18
2.5.4. Uzak Metastaz (M)	19
2.6. Prognostik Faktörler	21
2.7. Meme Kanseri Tedavisi	23
2.7.1. Onkoplastik Cerrahi	24
2.7.1.1. Onkoplastik meme cerrahisinde uygulanan yöntemler	25
2.7.1.2. Latissimus dorsi kas-deri flebi	25
2.7.1.3. Transversus rektus abdominis flebi	25
2.7.1.4. Sentetik protezler ile yapılan rekonstrüksiyon	25
2.8. Ugt Gen Grubu	27
3.GEREÇ VE YÖNTEM	30
3.1. Meme Kanseri Hastalarından Biyopsi Örneklerinin Toplanması	30
3.2. Meme Kanseri Hastalarından Alınan Biyopsi Örneklerinden mRNA Eldesi	30
3.3. mRNA Örneklerinden Revers Transkriptaz PCR (RT-PCR) Yöntemi ile cDNA Eldesi	31
3.4. Elde Edilen cDNA'lardan Kalite ve Miktar Tayini	32
3.5. UGT1A10 İfade Düzeyi Ölçümü için Eş Zamanlı PCR (qRT-PCR) Yöntemi	32
3.6. İstatistiksel Analiz	35
4.BULGULAR	36
5.TARTIŞMA	40
6.SONUÇ VE ÖNERİLER	48
7.KAYNAKLAR	49

III. ÖZET

MEME KANSERİ İLE UGT1A10 GEN EKSPRESYONU ARASINDA Kİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Mehmet Veli DEMİRTOK
Uzmanlık Tezi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Fahrettin YILDIZ
Ağustos 2014, 61 Sayfa

Meme kanseri kadınlar arasında dünyada en sık görülen ve en çok ölüme neden olan kanserdir. Meme kanserli hastalarda, erken evrelerle ileri evreler arasında 5 yıllık sağkalım oranlarında %93 ten %15'e gerileyen düşüşler mevcuttur. Sağkalım oranlarındaki bu dramatik değişiklikten dolayı moleküler temellerin netleşmesi ile erken tanının daha kolay konabilmesi önemlidir. Bu açıdan moleküler çalışmalara ağırlık verilmelidir.

Daha önce yapılan çalışmalarda UGT1A gen ailesinin kanser oluşumunda koruyucu etkisinin olduğu ortaya konmuştur. Bizde çalışmamızda meme kanseri ile UGT1A10 gen ekspresyonu arasındaki ilişkiyi araştırarak memede kitlesel değişiklik meydana gelmeden gen analizleri ile erken tanı konulabilmesini amaçladık. Bu prospektif çalışma etik kurul onayı ile meme kanserli hastalarda yapıldı. Ameliyatta alınan tümörlü ve sağlam dokularda mRNA ve cDNA seviyeleri çalışıldı. Real Time PCR ile UGT1A10 gen ifadelerinin tespiti yapıldı. 2-ΔCt metodu kullanılarak bu genlerin ifade düzeyleri beta-aktin ifade düzeyleri ile kıyaslandı. Çalışmaya 43 hasta dahil edildi. Yaş ortalaması 43,7 idi. Hastalar patoloji raporlarına göre değerlendirildiğinde, patolojik tip açısından %67.4 ile, en sık invaziv duktal karsinom olduğu görüldü.

UGT1A10 gen ekspresyonu 2-ΔCt değeri normal dokuda 0,0237, tümörlü dokuda 0,0296 olarak ölçüldü. UGT1A10 gen ekspresyon düzeyi tümörlü dokuda minimal artmış olarak saptandı. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. (p>0,05) Sonuç olarak meme kanserli dokunun aynı hastanın sağlıklı meme dokusu ile karşılaştırıldığında, UGT1A10 gen ifade düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmaması, UGT1A gen ailesi ile meme kanseri arasında bir ilişkinin varlığı şüphesinden uzaklaşılmasına neden olmuştur.

Anahtar Kelimeler: UGT1A10 Geni, Gen Ekspresyonu, Meme Kanseri.

IV. ABSTRACT

IDENTIFICATION OF UDP-GLUCURONOSYL TRANSFERASE UGT 1A 10 GENETIC EXPRESSION IN BREAST CANCER

Dr. Mehmet Veli DEMİRTOK

Residency Thesis, Department of General Surgery

Supervisor: Associate Professor. Dr. Fahrettin YILDIZ

August 2014, 61 Pages

Breast cancer is one of the most common malignancies of woman that causes death, in the world. From advanced stages to early stages of this cancer 5 years survival rates, increase from %15 to %93. Because of this dramatic increase of survival rates, it is more important to make its early diagnosis by making its molecular bases clear. So, we need to make more molecular researches. In previous researches, it was shown that UGT 1A gene family has protective effects in cancer development process.

In this study, we searched for the relationship between UGT 1A gene expression and cancer development to be able to make earlier diagnosis of masses in breast with gene analysis. This prospective study was done with ethical committee's and patient's approval.

mRNA and cDNA levels were measured in normal tissues and tumor tissues which were collected peroperatively. Measurement of UGT 1A 10 expression was done with real-time PCR. We measured expression levels of this gene with 2 DCT method and compared it with expression levels of beta actine.

43 patients were included and mean age was 43.7. The most common pathological diagnosis was invasive ductal carcinoma with %67.4 percent. We measured UGT 1A 10 level 0.02377 in the tissue that 2 DCT level was normal and 0.0296 in tumor tissue. UGT 1A 10 expression was minimally increased in tumor tissue. But this increment was not statistically significant.

As a result, there was no statistically significant difference of UGT 1A 10 expression levels between normal and tumor tissues of the same patient. Thus, the relationship between UGT 1A 10 and breast cancer is now more suspicious.

Key Words: Breast Cancer, Genetic Expression, UGT1A10 genes.

V. KISALTMALAR

AJCC	: American Joint Committee on Cancer
BRCA	: Breast Cancer
UDP	: Uridine di-phosphate
UGT	: UDP Glukuronyl Transferase
TP 53	: Tümör Protein 53
PTEN	: Phosphatase and Tensin homolog
DCIS	: Duktal Karsinoma Insitu
LCIS	: Lobuler Karsinoma Insitu
ER	: Östrojen
PR	: Prolaktin
HER-2	: Human Epidermal Growth Faktör Reseptör 2
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PAI	: Plazminojen Aktivatör İnhibitörü

VI. TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 1. Artmış meme kanseri riski ile ilişkili durumlar.	11
Tablo 2. Sporadik, familyal ve herediter meme kanseri insidansları.	12
Tablo 3. Meme kanseri evrelemede Primer tümör boyutu (T).	17
Tablo 4. Meme kanseri AJJJ evrelemede Rejyonel lenf nodu metastazı (N).	18
Tablo 5. Meme kanseri AJJJevrelemede Uzak metastaz (M).	19
Tablo 6. Meme kanserinde evreye göre sağkalım oranları.	19
Tablo 7. Meme kanserinin histolojik (WHO) sınıflaması.	20
Tablo 8. mRNA'dan cDNA elde etmek için uygulanan Revers Transkriptaz PCR reaksiyon karışımının içerikleri.	31
Tablo 9. mRNA'dan cDNA eldesinde revers transkripsiyon için termal döngüleyici ayarları.	32
Tablo 10. UGT1A10 geninin ifade seviyelerinin belirlenmesi için kullanılan primer dizilimleri.	33
Tablo 11. Tasarımı yapılan primerlerin özellikleri.	34
Tablo 12. UGT1A10 ifade düzeyinin ölçüldüğü eş zamanlı PCR reaksiyon karışımının içerikleri.	34
Tablo 13. UGT1A10 ifade düzeyinin ölçüldüğü eş zamanlı PCR ayarları.	35
Tablo 14. Hastaların patoloji raporlarına göre patolojik tipi açısından dağılımı.	36
Tablo 15. UGT1A10 gen ekspresyon düzeyi sonuçları.	37

VII. ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1. Meme kanserinde primer tümör boyutu ve evre.	16
Şekil 2. $2^{-\Delta C_t}$ formülü.	35
Şekil 3. Meme normal hücre ve kanserli hücrelerde UGT1A10 geninin rölatif katsayı değerleri (Fold Change) ($2^{-\Delta C_t}$ metot) (Total).	38
Şekil 4. Normal ve meme kanserli dokuda UGT1A10 ekspresyonunun karşılaştırılması.	38

VII. RESİM LİSTESİ

	Sayfa No
Resim 1. Memenin glanduler yapısı.	2
Resim 2. Memenin sınırları.	3
Resim 3. Meme Dokusu Histolojik Kesit (a)	4
Resim 4. Meme Dokusu Histolojik Kesit (b)	4
Resim 5. Memenin Arterleri.	5
Resim 6. Memenin Venleri.	6
Resim 7. Memenin Sinirleri.	7
Resim 8. Memenin Lenfatikleri ve Aksiler Lenf Nodları.	8

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kadınlarda görülen en yaygın malignite türü meme kanseridir. Meme kanserinde de diğer kanser türlerinde olduğu gibi yaşam süresini etkileyen en önemli faktör tanı zamanıdır. Potansiyel tedavi hedeflerinin belirlenebilmesi ve buna bağlı olarak daha az toksik etki ve daha özgün hedeflerin yok edilebilmesi için meme kanseri genetiğinin ve hastalıkla ilgili moleküler mekanizmaların ortaya çıkartılması hastalığın tamamen ortadan kaldırılmasını sağlayabilecektir.

Sanayileşmiş ülkelerde akciğer kanseriyle birlikte meme kanseri en fazla mortaliteye sahip bir kanser türüdür. Dünyada her yıl 10 milyon kanser olgusunun varlığı bilinmektedir. Bu olguların yaklaşık 1 milyonu meme kanseridir ve bunların da yaklaşık 400.000 kadarı ölümle sonuçlanmaktadır (1).

Meme kanseri görülme sıklığı ve mortalitesi coğrafi bölgeye, kültüre, ırka, etnik kökene ve sosyo-ekonomik duruma göre değişiklik göstermektedir. T.C. Sağlık Bakanlığı'nın 1999 yılı verilerine göre, meme kanseri, kadınlarda görülen kanserler arasında % 24.1 (2390 vaka) oranıyla en sık görülen kanser türüdür ve insidansı giderek artmaktadır (2).

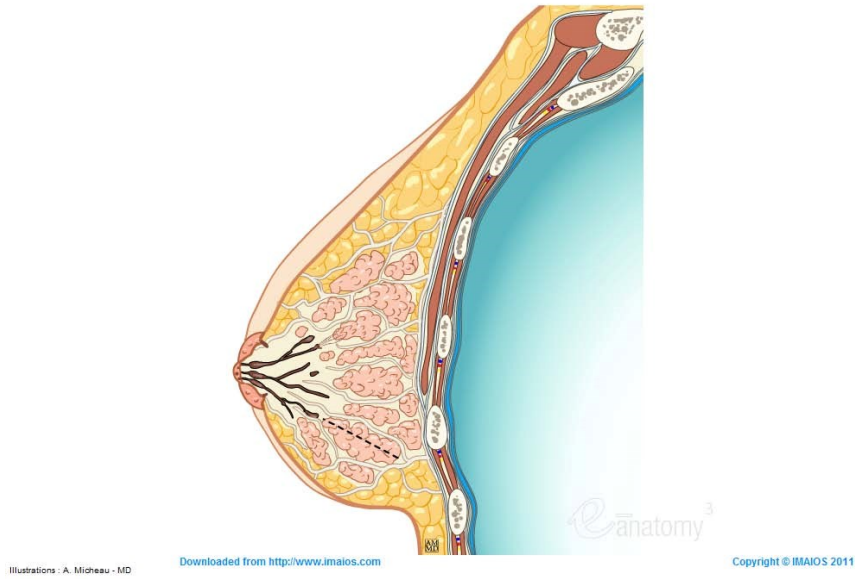
Bu tez çalışmasının amacı, kadınlarda UGT1A10 gen ifade düzeyleri ile meme kanseri arasındaki muhtemel ilişkiyi araştırmaktır. Meme kanseri toplumda çok fazla görülmesi ve ölüm oranının yüksek olması nedeniyle kanser olguları arasında önemli yer tutmaktadır. Kanserlerin çoğunun gelişiminde yaklaşık 10-20 yıllık bir dönem vardır ve bu dönem önleyici sağaltım için yeterli bir süreçtir. Bundan dolayı meme dokusunda kanser hücreleri görülmeden kansere dönüşme riski olan hücrelerin daha önceden gen yapısının tanınması ve bunların kansere dönüşmesinin önlenmesi oldukça önemlidir. UGT1A gen ailesinin kanser oluşumundaki protektif etkisi göz önünde bulundurularak meme dokusu hücrelerinin daha kanserli hücelere dönüşmeden meme kanseri tanısının gen analizleri ile ortaya konulabilmesi ve genetik ilaçlarla kontrol altına alınabilirliği amaçlanmıştır. Araştırmamızda, meme kanserinin genetik özelliklerinin açığa çıkarılmasını ve gen tedavisinin moleküler alt yapısının tanımlanmasına katkıda bulunmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Meme Anatomisi

Erişkin bir kadında meme glandı, genellikle ön göğüs duvarının yüzeysel pektoral fasyasının yüzeysel ve derin tabakaları arasında bulunur. Laktasyonda olmayan bir memenin ağırlığı 150-200 gram, laktasyonda ise 400-500 gram kadardır (3).

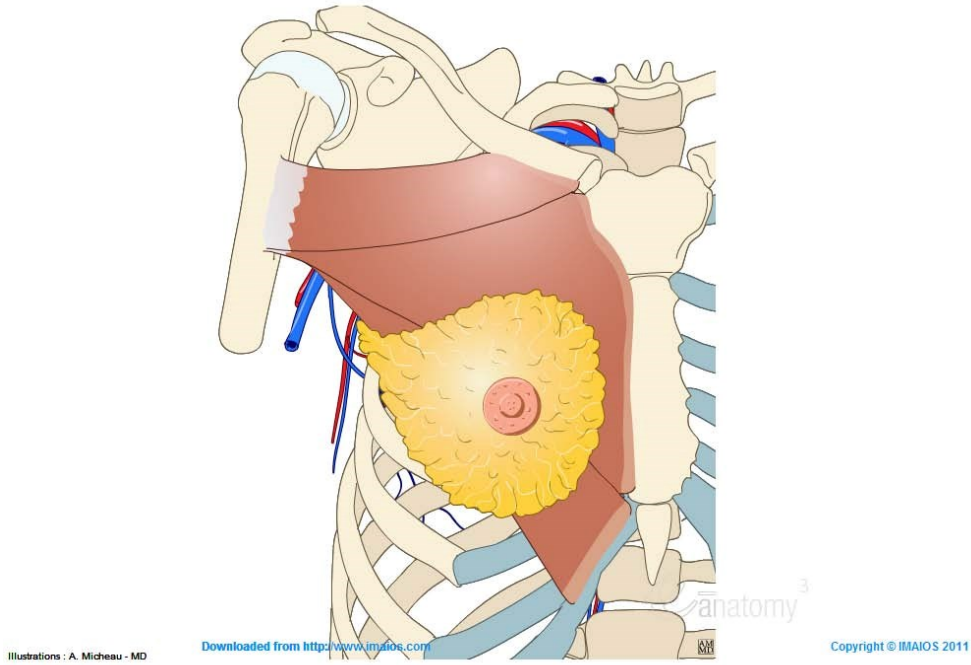
Memeler 2. ile 6-7.kostalar arasında yer alırlar. İçte sternumun kenarından dışta ön ve orta aksiller çizgiye kadar uzanırlar. Memenin gerçek sınırları ise yukarıda klavikula, medialde sternum ortası lateralde latissimus dorsi kasının ön kenarı ve aşağıda arkus kostaryuma kadar uzanabilir. Meme dokusu değişik derecelerde olmak üzere aksillaya doğru da uzanım gösterir.(memenin aksiler kuyruğu)(4)(Resim 1).



Resim 1. Memenin glanduler yapısı.

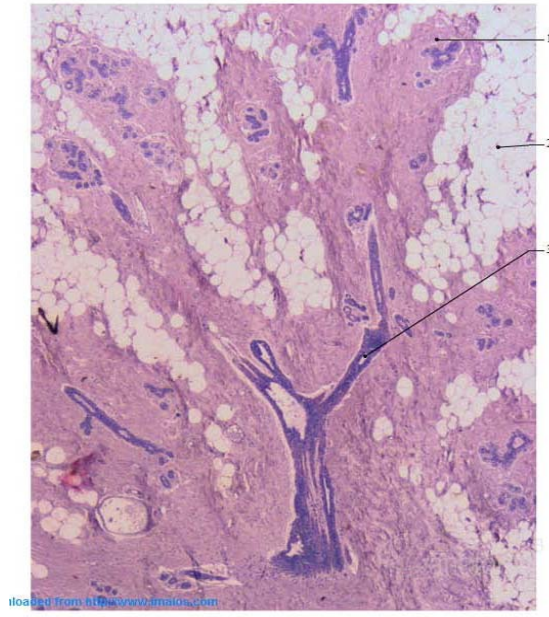
Memenin çapları ve sınırları kadından kadına değişebileceği gibi aynı kadında; gebelik, emzirme, şişmanlama, zayıflama ve yaşlılık nedeniyle farklılık gösterebilir.

Meme dokusu; Epiteliyal parankim, bunların muskuler ve fibröz destek elementleri ile değişken miktarda yağ, kan damarları, sinirler ve lenfatiklerden oluşur (5)(Resim 2).



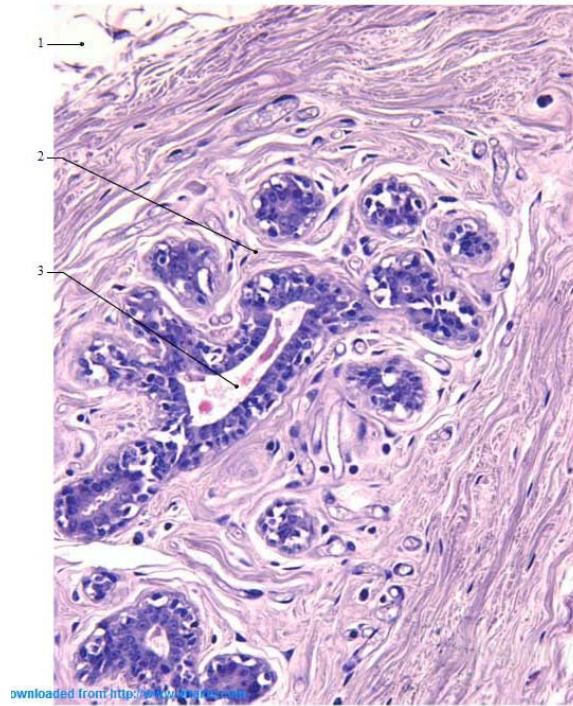
Resim 2. Memenin sınırları.

Epiteliyal parankim, her biri ayrı bir kanal ile meme başına açılan 20 veya daha fazla lobdan ibarettir (6). 10 ile 100 arasındaki sayıda alveolun kanalcığı birleşerek bir lobül oluşturur Bu lobüllerden 20-40 tanesinin kanalı birleşerek giderek büyür ve bir meme lobunu oluşturur. Sayıları 20 civarında olan süt boşaltıcı kanalları areola altında genişleyerek süt sinüslerini oluşturur. Bu süt sinüslerini örten epitelyum çok katlı yassı epiteldir (7,8) (Resim 3-4).



Resim 3. Meme Dokusu Histolojik Kesit (a)

1.Meme Glandı 2.Yağ Dokusu 3.Laktiferöz Duktus



Resim 4. Meme Dokusu Histolojik Kesit (b)

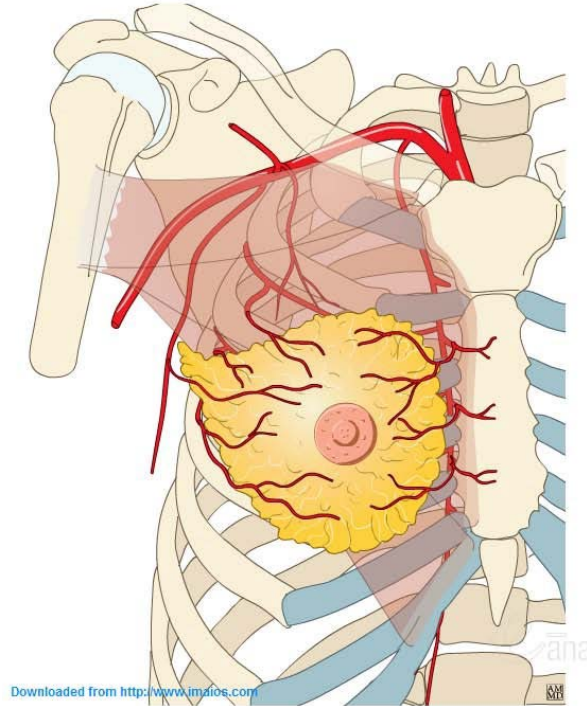
1.Yağ Dokusu 2.Meme Glandı 3.Laktiferöz Duktus

2.1.1. Memenin Arterleri ve Venleri

Memenin ana kan damarları

1. İnternal mamaryan arterin perforan dalları
2. Posterior interkostal arterlerin lateral dalları;
3. Aksiller arterden gelen dallardır.

Yüksek torasik, lateral torasik ve torakoakromial arterin pektoral dalları; İkinci, üçüncü ve dördüncü anterior interkostal perforanlar ve internal mammaryan arterin dalları medial meme arterleri olarak memede dallanır (9). Lateral torasik arter, serratus anteriora, pektoralis major ve minöre ayrıca subskapularis kaslarına dallar verir. Memenin lateral damarları bu arterden kaynaklanır (10) (Resim 5).

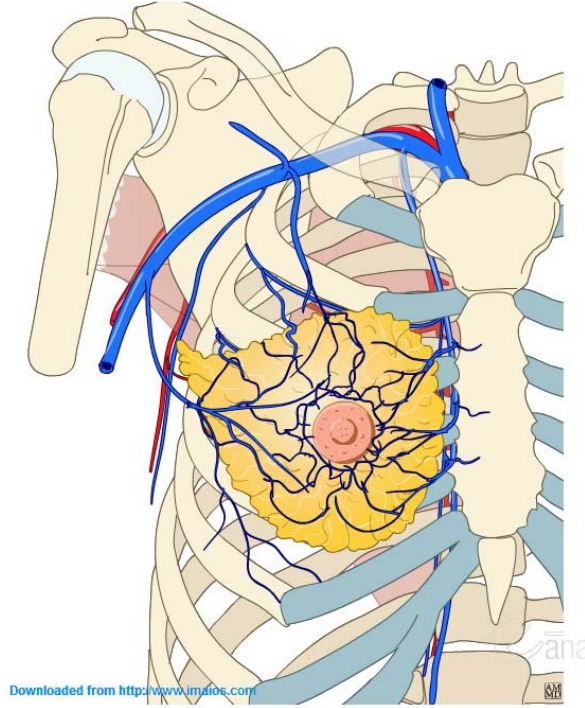


Resim 5. Memenin Arterleri.

Meme ve göğüs duvarının venleri de arterlerin seyrini izler ve venöz drenaj primer olarak aksillaya doğrudur. 3 ana ven grubu;

1. İnternal torasik venin perforan dalları
2. Posterior interkostal venlerin perforan dalları
3. Aksiller venin küçük dalları

Vertebrayı saran ve kafatasının tabanından sakruma doğru uzanan Batson vertebral venöz pleksusu, meme kanserinin vertebra, kafa kemikleri, pelvik kemikler ve merkezi sinir sistemi metastazları için bir yol olabilir (6)(Resim 6).



Resim 6. Memenin Venleri.

2.1.2. Memenin Sinirleri

Memenin ve anterolateral göğüs duvarının duyusal inervasyonu üçten altıya kadar olan interkostal sinirlerin lateral kutanöz dalları tarafından sağlanır. Bu dallar interkostal boşluğa serratus anterior kasının lifleri arasından geçerek girer. İnterkostobrakiyal sinir, ikinci interkostal sinirin lateral kutanöz dalıdır ve aksillanın diseksiyonu sırasında görülebilir. İnterkostobrakiyal sinirin kesilmesi üst kolun medial yüzünde duyu kaybına neden olur (12)(Resim 7).

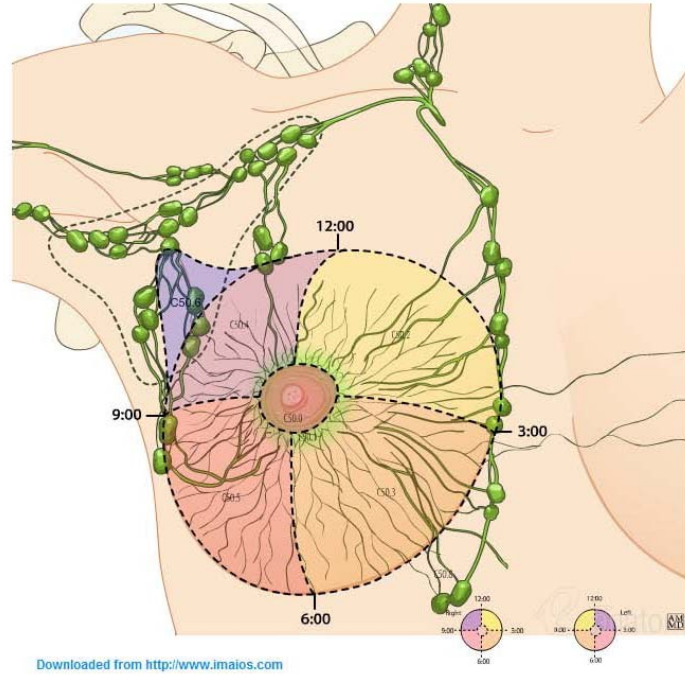


Resim 7. Memenin Sinirleri.

2.1.3.Memenin Lenfatik Sistemi ve aksiler lenf nodülleri:

1. Yüzeyel lenfatikler (Deri lenfatikleri)
2. Derin lenfatikler (Parankimal lenfatikler)
3. Aksiler lenf nodları memeden gelen lenf akımının en önemli çıkış bölgesini oluşturur.

Aksiller lenfatik sistem bir bütün oluşturmasına karşın, tarifi kolaylaştırmak ve meme kanserinin yayılma derecesini belirlemek amacıyla lenf nodları altı gruba ayrılarak incelenebilir (9). Genellikle aksiller lenf nodlarının sayısı 20 ila 40 arasında değişir (3)(Resim 8).



Resim 8. Memenin Lenfatikleri ve Aksiler Lenf Nodları

1. 4-6 lenf nodu içeren, aksiller venin medial ya da posteriorunda (post.) Uzanarak üst ekstremitelerden gelen lenf direnajının büyük kısmını alan aksiller ven grubu (lateral) (12).
2. 5-6 lenf nodunu kapsayan ve lateral torasik damarlara komşu, pektoralis minör kaslarının alt sınırı boyunca uzanıp memenin lateral yüzünden gelen lenf direnajının büyük kısmını alan eksternal mammaryan grup (anterior ya da pektoral grup) (9).
3. 5-7 adet lenf nodu içeren subskapular damarlara komşu skapulanın lateral sınırındaki aksilla posterior duvarı boyunca uzanıp, esas olarak alt posterior boyundan , post. gövde ve post. omuzdan gelen lenf drenajını alan skapular grup (posterior ya da subskapular).

4. 3-4 adet lenf nodu kapsayan ve pektoralis minör kasının hemen posteriorunda uzanan aksillanın yağlarına gömülü olup aksiler ven, dış meme ve skapula lenf nodu gruplarından ve doğrudan memeden gelen lenf direnajını alan santral grup (9).
5. 6-12 adet lenf nodu içeren ve pektoralis minör kaslarının üst sınırının posterior ve superiorunda uzanıp tüm diğer aksiler lenf nodu gruplarından gelen lenf direnajını alan subklaviküler grup (apikal) (12).
6. 1-4 adet lenf nodu içeren pektoralis majör ve pektoralis minör kaslarının arasında yer alarak doğrudan memeden gelen lenf direnajını alan interpektoral grup (Rotter) (12).

Lenf nodu grupları pektoralis minör kasıyla olan ilişkilerine göre düzeylere ayrılırlar.

1. **Düzy Lenf Nodları:** Pektoralis minör kasının lateralinde, yukarıda Aksiler ven, lateralde latissimus dorsi kası ile sınırlanan alanda yerleşen ve aksilla lenf nodlarının büyük çoğunluğunu oluşturan gruptur. Aksiller ven, eksternal mammaryan ve skapular grupları kapsar (9).
2. **Düzy Lenf Nodülleri:** Pektoralis minör kasının arkasında yerleşen nispeten az sayıdaki lenf nodlarıdır. Santral ve interpektoral grupları kapsar.
3. **Düzy Lenf Nodülleri:** Pektoralis minör kasının medialinde yerleşen ve aksiler venin klavikula altına girdiği yere kadar yayılan lenf nodlarıdır. Subklaviküler grubu kapsar.

Aksiller lenf nodları genellikle memenin lenf drenajının %75'inden fazlasını alır. Geri kalanı ise esas olarak memenin medial yüzünden köken alarak internal mammaryan arterin perforan dallarına eşlik eden lenf damarları boyunca ilerleyerek parasternal (internal mammaryan) lenf nodu grubuna direne olurlar.

2.1.4. Meme Fizyolojisi

Memenin gelişimi ve fonksiyonu; östrojen, progesteron, prolaktin, oksitosin, tiroid hormonu, kortizol ve büyüme hormonunun da arasında bulunduğu çeşitli hormonal uyarılarla başlar.

Östrojen'in meme üzerine etkisi sitoplazma ve çekirdekdeki reseptörlere bağlandıktan sonra görülür. Östrojen reseptörlerinin sentezini hem östrojen hem de progesteron uyarır (10).

Progesteron; Prolaktin ile sinerjik etki gösterir. Epitel hücrelerinin diferansiasyonunda, lobülüs ve asinüs gelişiminde etkilidir. Laktasyonu inhibe eder (13).

Prolaktin; hipofizde yapılır. Hamileliğin son döneminde doğumdan hemen sonra yükselir ve doğum sonrası dönemde yüksek kalır. Progesteronla birlikte lobülüs ve asinüs gelişmesini uyarır. Süt sekresyonunu ve süt proteinlerinin sentezini kontrol eder (13).

Gebelik sırasında dolaşımdaki, over ve plasenta kaynaklı, östrojenler ve progestinlerde belirgin artışlar mevcuttur. Bu durum duktal ve lobüler epitel proliferasyonu oldukça memelerin genişlemesine ve aksesuar areolar bezlerin belirgin hale gelmesine neden olur.

Plasentanın doğumdan sonra atılmasıyla dolaşımdaki progesteron ve östrojen düzeyleri düşer ve bu da prolaktinin laktojenik etkisinin tam olarak ortaya çıkmasını sağlar (14).

Menopozla birlikte overlerden östrojen ve progesteron salgılanmasında azalma olur, meme duktus ve alveollerinde involüsyon başlar. Çevredeki fibröz bağ dokusunun yoğunluğu artar ve meme dokularının yerini adipöz dokular alır (14).

2.2. Meme Kanseri

Meme kanseri kadınlarda en sık görülen malignite tipidir. Yaşla birlikte meme kanseri insidansı artmaktadır ve gelişiminde genetik, çevresel, hormonal, sosyobiyolojik ve fizyolojik faktörler suçlanmaktadır. Meme kanseri gelişiminde çeşitli faktörlerin etken olduğu bilinmesine rağmen, olguların %70-80'inde hiç bir risk faktörü saptanamamaktadır.

Yapılan ilk çalışmalarda 1950'li yıllarda meme kanseri etyolojisinde steroid yapıdaki hormonların yeri gösterilmiştir. 1980 yılına kadar büyüme faktörleri hakkında pek fazla bilgi yok iken bu yıllardan itibaren hastalık progresyonu, hücresel adhezyon ile büyüme faktörleri hakkında daha fazla bilgi elde edilmeye başlanmıştır. 90'lı yıllarda ise ailesel meme kanseri olgularına sebep olan genler saptandı. Ayrıca yine aynı dönemde hücre siklusu, DNA tamiri, apoptozis ve apoptozis düzenlenmesi hakkında yeni bilgiler elde edildi.

Yirmi birinci yüzyıl başında ise tedavi başarısızlığının moleküler sebepleri, kemoterapiye direnç mekanizmaları, antiöstrojenler, anjiogenesis, invazyon ve metastaz hakkında ciddi veriler ve yeni tedavi başarıları elde edildi. Hücresel düzeyde kanser gelişimi çok basamaklı bir olaydır. Her basamakta, hücreye, kanser hücresi olma yolunda özellikler kazandıran önemli genetik olayların gerçekleştiği düşünülmektedir (15).

Bu değişiklikler sonucu tümör oluşumuna ya da ilerlemesine neden olan genlerin ekspresyonunda ya da gen ürünlerinin fonksiyonunda değişiklik meydana gelebilir. Reseptörlerin veya sinyal aktarıcı proteinlerin mutasyonları veya aşırı üretimleri; hücrelerin, büyüme faktörlerinden veya diğer mitotik faktörlerden bağımsız hale gelmesine ve böylece kontrolsüz hücre bölünmesine neden olur. Bu gen anormallikleri genellikle dominanttır. Kısaca anormal hücre ile hibritlenen bir normal hücre fenotipik olarak malign hale gelir. Tümör baskılayıcı genlerdeki herhangi bir anormallik neticesinde organizma genetik olarak anormal hücreleri yok edemediğinden kanser gelişir (15).

2.2.1. Risk Faktörleri

Artmış meme kanseri riski ile ilişkili durumlar (Tablo 1).

Tablo 1. Artmış meme kanseri riski ile ilişkili durumlar.

İrk	Beyaz
Yaş	İleri yaş
Aile hikayesi	Anne, kız ve kızkardeşte meme kanseri olması (özellikle bilateral meme kanseri veya premenopozal dönemde meme kanseri olması)
Genetik	BRCA1 veya BRCA2 mutasyonu
Özgeçmiş	Endometrial kanser Fibrokistik hastalığın proliferatif formu Diğer memede kanser
Menstrüel durum	Erken menarş (12 yaşından önce) Geç menopoz (50 yaşından sonra)
Reprodüktif öykü	Hiç doğum yapmamak veya ilk doğum yaşının geç olması

2.2.1.1. Ailesel Faktörler

Özellikle BRCA1 (17q21), BRCA2 (13q14) ve TP53 gen mutasyonlarının varlığı ile meme kanseri riski artmaktadır. Ailevi meme kanseri olgularının çoğunda BRCA1 ve BRCA2 gen mutasyonları saptanmıştır. TP53 ve PTEN mutasyonları ise ailevi meme kanseri olgularının %1'inden daha az kısmından sorumludur (16) (Tablo 2).

Tablo 2. Sporadik, familial ve herediter meme kanseri insidansları

Sporadik meme kanseri	65–75%
Ailesel meme kanseri	20–30%
Herediter meme kanseri	5–10%
BRCA1^a	45%
BRCA2	35%
p53^a (Li-Fraumeni sendromu)	1%
STK11/LKB1a (Peutz-Jeghers sendromu)	<1%
PTENa (Cowden hastalığı)	<1%
MSH2/MLH1a (Muir-Torre sendromu)	<1%
ATMa (Ataksi telenjektazi)	<1%
Bilinmeyen	20%

2.2.1.2. Hormonal Faktörler

Meme kanseri gelişiminde risk faktörlerinden birisi de, intrauterin hayat dahil olmak üzere kadının uzun süre östrojen gibi üreme hormonlarına maruz kalmasıdır (17). Menarşın ileri yaşta başlaması, doğurganlık sayısının yüksekliği ve menopoz meme kanseri riskini azaltmaktadır.

İlk doğum yaşı ile meme kanseri gelişme riski arasında da ilişki gözlenmiştir. Örneğin ilk canlı doğumunu 30 yaşından sonra yapmış bir kadında meme kanseri gelişme riski, ilk doğumunu 18 yaş ve öncesinde yapmış bir kadına göre 2-5 kat daha fazla saptanmıştır (18). Postmenopozal dönemde hormon tedavisi kullananlarda meme kanseri riski kullanmayanlara göre artmaktadır. Özellikle ailede meme kanseri öyküsü olan kadınlarda oral kontraseptif kullanımı, meme kanseri için risk faktörüdür (19).

2.2.1.3. Diyet ve Hayat Tarzı

Yüksek yağ içerikli diyetle meme kanseri riskinin arttığı düşünülmektedir. Sebze tüketiminin meme kanserine karşı hafif bir koruyucu etkisi olabilir. Bununla birlikte özellikle tüketilen miktara bağlı olarak alkol kullanımı ile meme kanseri riski arasında anlamlı pozitif ilişki vardır (20). Tüm dünyada meme kanseri vakalarının %25'inin aşırı kilo, obezite ve sedanter hayat tarzına bağlı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca postmenopozal obez kadınlarda seks-hormonu bağlayıcı globulin oranı daha düşüktür ve bunun sonucunda dokularda estrone oranı daha yüksektir. Yine, hiperinsülinemi ve yüksek düzeyde insulin-like growth factor-1 salınımı olan kişilerde, overlerde androjen üretimi artar ve bunun sonucunda yağ dokularında aromatzasyon ile östrojen düzeyi artabilir (21). Bazı çalışmalarda egzersiz ile meme kanseri riskinde azalma gözlenmiştir (22).

2.2.1.4. Radyasyona Maruziyet

Özellikle 40 yaşından önce, nükleer patlama, medikal tanı veya tedavi amaçlı iyonize radyasyon maruziyeti ile meme kanseri riski artmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde meme kanseri olgularının yaklaşık %1'inin tanı amaçlı mammografiye bağlı geliştiği düşünülmektedir (23). Hodgkin lenfoma tanısı ile 15 yaşından önce kemoterapi ile kombine olarak mantle radyoterapi uygulanan genç kızlarda, meme kanseri riski belirgin olarak artmaktadır ve sıkı takip gerekmektedir (24).

2.2.1.5. Meme Dansitesi ve Mammografik Özellikler

Mammografik parankimal özellik ile meme kanseri riski arasında ilişki vardır (25). Mammografide radyodens meme dokusu oranı yüksek olan kadınlarda, radyolusent meme dokusu oranı yüksek olan kadınlara göre meme kanseri riski daha fazladır.

2.2.1.6. Premalign Lezyonlar

Benign meme lezyonları, proliferatif ve non-proliferatif lezyonlar olarak ikiye ayrılır. Non-proliferatif lezyonlar genellikle meme kanseri riskinde artışa sebep olmazlar. Proliferatif lezyonlardan atipi içerenlerinde meme kanseri riski 4-5 kat, atipi içermeyenlerinde ise bu risk 2 kat artmıştır. Özellikle proliferatif, atipi içeren lezyonu olan ve birinci derece akrabada meme kanseri öyküsü olan kadınlarda bu risk 11 kat artmıştır (26).

2.3. Meme Kanseri Tanısı

Memede muayene veya görüntüleme yöntemleri ile saptanan şüpheli bir lezyondan, tanı için biyopsi yapılmalıdır. Biyopsi palpabl lezyonlarda ince iğne aspirasyon biyopsisi (İİAB) veya eksizyonel biyopsi ile yapılabilir. Palpabl olmayan lezyonlarda ultrason (USG) eşliğinde İİAB, biyopsi veya eksizyonel biyopsi yöntemleri ile tanıya ulaşılabilir. Bunun dışında memede saptanan mikrokalsifikasyonlarda, stereotaktik biyopsi veya lezyonun radyolojik tespiti sonrası eksizyonel biyopsi yöntemleri uygulanabilir. USG yetersiz kalırsa lezyon lokalizasyonu için meme manyetik rezonans görüntüleme (MRI) yöntemi kullanılabilir.

2.4. Meme Kanserinin Patolojik Sınıflandırılması

Meme kanserinin patolojik sınıflaması sıklıkla patolojik spesimenin hematoksilen-eosin ile boyanması ve ışık mikroskopu ile incelenmesi ile yapılır. Tümör tipinin belirlenmesi tedavi planı yapılmasında çok önemlidir. Meme kanseri konvansiyonel olarak 2 büyük gruba ayrılır: Duktal (meme kanseri vakalarının %85'ini oluşturur) ve lobüler (meme kanseri vakalarının yaklaşık %15'ini oluşturur) patern.

2.4.1. Karsinoma in situ

Karsinoma in situ tanımında duktulus ve lobüller, asiner malign epitel hücre proliferasyonu ile doludur ancak malign hücreler bazal membranı invaze etmemiştir. Karsinoma in situ, duktal karsinoma in situ (DCIS) ve lobüler karsinoma in situ (LCIS) olmak üzere iki gruba ayrılır. DCIS, genellikle mammografide mikrokalsifikasyonlar şeklinde bulgu verir ve fizik muayenede çoğunlukla ele gelen kitle saptanmaz. Buna karşılık LCIS’ da ise mammografide patolojik bulguya nadiren rastlanır ve tanı genellikle başka sebeple yapılan biyopsi sonucu tesadüfi(insidental) olarak konur. LCIS, artmış meme kanseri riski için bir belirteç kabul edilir.

2.4.2. İnvaziv Duktal Karsinom

İnvaziv duktal karsinom, tüm meme kanserlerinin yaklaşık %65-80’lik kısmını oluşturur ve hemen her zaman DCIS komponenti de içerir. Prognoz için önemli olan patolojik özellikleri, tümör boyutu, aksiller lenf nodu tutulumu, evre ve lenfatik-vasküler invazyondur. Tümör evresi(grad) üçe ayrılır: Evre 1 (iyi differansiye), Evre 2 (orta derecede differansiye) ve Evre 3 (kötü differansiye). Evre tanımı Bloom-Richardson Sisteminin Nottingham modifikasyonu ile yapılır.

2.4.3. İnvaziv Lobüler Karsinom

İnvaziv lobüler karsinom, tüm meme kanserlerinin %5-10 kısmını oluşturur. Mammografi ve fizik muayenede kitle veya asimetrik dansite olarak saptanırlar ve genellikle mikrokalsifikasyon özelliği göstermezler. Tümör genellikle diffüz ve infiltratif özellik gösterdiğinden, operasyon sonrası tümör boyutu genellikle beklenenden büyük saptılır. Onun için invaziv lobüler karsinomda lumpektomi ile güvenli cerrahi sınır elde etmek invaziv duktal karsinoma göre daha zordur. Operasyon öncesi dönemde, tümör boyutlarını daha doğru saptayabilmek için MRI tetkiki kullanılabilir. İnvaziv lobüler karsinomda bilateral tümör riski daha yüksektir. Metastazlarını daha çok meningeal ve peritoneal yüzeyler gibi metastaz sıklığı düşük olan bölgelere yapar.

2.5. Meme Kanserinin Evrelemesi

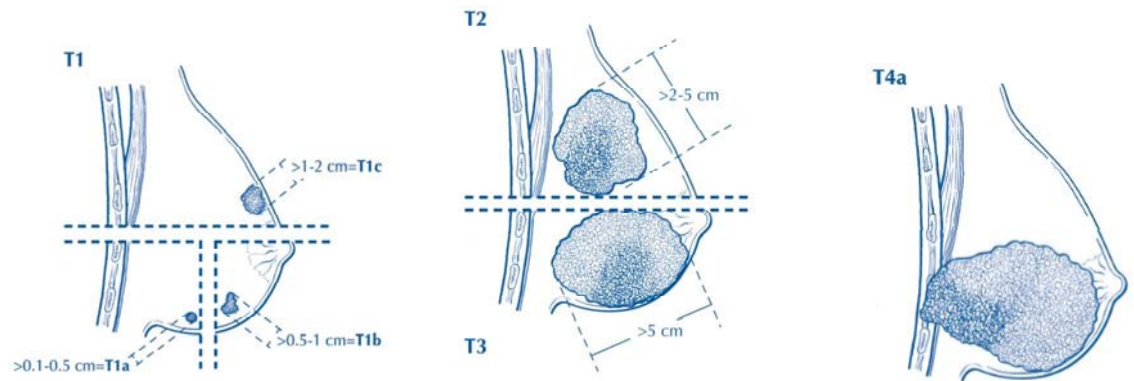
Meme kanseri evrelemesi hem patolojik hem de klinik bulgulara göre yapılabilir ve en sık kullanılan evreleme yöntemi “American Joint Committee on Cancer” (AJCC) kuruluşunun önerdiği evreleme sistemidir. Bu sistemde TNM evrelemesi kullanılır (T; Tümör, N; Lenf nodu, M; Metastaz).

2.5.1. Meme kanseri AJCC Evrelemesi

Klinik evreleme; fizik muayene, meme derisinin dikkatli inspeksiyonu ve palpasyonu, memeglandları ,aksiller, servikal ve supraklaviküler lenf nodlarının muayenesi; görüntüleme yöntemleri; meme veya diğer organlardan elde edilen biyopsi materyallerinin patolojik incelemesi ile yapılır. Patolojik evrelemede ise klinik evrelemede kullanılan yöntemlere ek olarak, meme, lenf nodları veya metastazlardan elde edilen cerrahi eksizyon preparatlarının patolojik incelemesi ile yapılır.

2.5.2. Primer Tümör (T)

American Joint Committee on Cancer tarafından tanımlanan meme kanseri evreleminde primer tümör boyutu, reyonel lenf nodu metastazı ve uzak metastaz mevcudiyeti kullanılmaktadır. Bu evrelemenin detayları Şekil 1 ile Tablo 3, 4 ve 5 te gösterilmiştir.



Şekil 1. Meme kanserinde primer tümör boyutu ve evre.

Tablo 3. Meme kanseri evrelemesinde Primer tümör boyutu (T).

T_x	Ortaya konmuş kitle yok	T1	$T_m < 1\text{mm}$	T4	Göğüs duvarı invazyonu ve/veya ülsere cilt nodülleri varlığı
T₀	Primer tümöre ait bulgu yok	T1mi	$T_m < 1\text{mm}$	T4a	Göğüs duvarının pektoral kas korunarak invazyonu
Tis	İnsitu karsinom	T1a	$1\text{mm} < T_m < 5\text{mm}$	T4b	İpsilateral satellit nodüller ve/veya meme cildinde ödem (Peaud' orange dahil)
Tis(DCIS)	Duktal karsinoma insitu	T1b	$5\text{mm} < T_m < 10\text{mm}$	T4c	T4a ve T4b
Tis(LCIS)	Lobüler karsinoma İnsitu	T1c	$10\text{mm} < T_m < 20\text{mm}$	T4d	İnflamatuvar meme kanseri
Tis(Paget's)	Memenin Paget's hastalığı	T2	$20\text{mm} < T_m < 50\text{mm}$		
		T3	$50\text{mm} < T_m$		

2.5.3. Rejyonel lenf nodu metastazı (N)

Tablo 4. Meme kanseri AJJJ evrelemesinde Rejyonel lenf nodu metastazı (N).

Nx	Lenf nodu metastazı yok	N3	İpsilateral İnfraklaviküler lenf nodu (Level III) metastazı olması (beraberinde level I,II aksiler lenf nodu metastazı olabilir) veya internal mammari lenf nodu metastazı ile birlikte level I,II aksiler lenf nodu metastazı olması veya ipsilateral supraklaviküler lenf nodu metastazı olması (aksiler ve internal mammari lenf nodu tutulumu eşlik edebilir.)
No	Lenf nodu metastazına ait bulgu yok	N3a	İpsilateral infraklaviküler lenf nodu metastazı
N1	İpsilateral aksillada level I,II lenf nodu metastazı	N3b	İpsilateral internal mammari ve aksiler lenf nodu metastazı
N2	İpsilateral aksillada level I,II fikse lenf nodu metastazı veya aksiler lenf nodu metastazı olmadan internal mammari lenf nodu metastazı olması	N3c	İpsilateral supraklaviküler lenf nodu metastazı
N2a	İpsilateral aksillada level I,II fikse lenf nodu metastazı		
N2b	Aksiler lenf nodu metastazı olmadan internal mammari lenf nodu metastazı olması		

2.5.4. Uzak Metastaz (M)

Tablo 5. Meme kanseri AJJevrelemesinde Uzak metastaz (M).

MO	Klinik ve radyolojik olarak ortaya konabilmiş uzak metastaz olmaması
cM0(1+)	Klinik ve radyolojik olarak ortaya konabilmiş uzak metastaz bulgusu yokken; kan, kemik iliği, rejyonel olmayan lenf nodlarında, 0.2mm den büyük olmayan moleküler veya mikroskopik depozit saptanması
M1	Klasik klinik ve radyografik yöntemlerle ortaya konmuş uzak metastaz varlığı ve/veya histopatolojik olarak kanıtlanmış 2mm den büyük depozit bulunması

Tablo 6. Meme kanserinde evreye göre sağkalım oranları (American Cancer Society, 2011).

EVRE	5 YILLIK SAĞKALIM ORANLARI
0	93%
I	88%
IIA	81%
IIB	74%
IIIA	67%
IIIB	41%
IV	15%

Tablo 6 da gösterildiği üzere, artan evre ile 5 yıllık sağkalım oranının %%93 den %15 e kadar gerilemesi de meme kanserinde erken tanının önemini ortaya koymaktadır. Çalışmamızda, meme kanserinin erken tanısının konabilmesi ve yaşam süresinin arttırılabilmesini sağlayabilmesi düşünülmüştür. Memenin medüller kanseri hariç, tüm invaziv meme kanserlerinde histolojik evre belirtilmelidir. Histolojik evre için önerilen yöntem, “Elston-Ellis modification of Scharff-Bloom-Richardson grading system” yöntemidir (27) (Tablo 6).

Meme kanserinin histolojik evrelemesi tümörün tubul formasyonu, nükleer polimorfizm ve mitoz sayısı gibi morfolojik özelliklerine göre yapılır (Tablo 7).

Tablo 7. Meme kanserinin histolojik (WHO) sınıflaması.

1. İnsitu karsinom	
- İnsitu duktal karsinom	
- İnsitu lobuler karsinom	
2. İnvaziv karsinom	
-İnvaziv duktal karsinom	%70 – 80
-İnvaziv lobuler karsinom	% 5 - 15
-Tubuler karsinom	
-İnvaziv kribriform karsinom	
-Medülller karsinom	% 1 - 5
-Müsinöz karsinom	% 1 – 6
-İnvaziv papiller karsinom	
-İnvaziv mikropapiller karsinom	% 1 - 2
-Apokrin karsinom	
-Sekretuar (juvenil) karsinom	
-Adenoid kistik karsinom	
-Metaplastik karsinom	
-Nöroendokrin karsinom	% 2 – 5
-İnflamatuar karsinom	

2.6. Prognostik Faktörler

Meme kanserinin ileri dönemlerinde sistemik hastalık gelişim riski için enönemli gösterge, lenf nodu tutulumunun boyutudur (28). Lenf nodu metastazı, bölgesel lenf nodlarında metastaz geliştiğini gösterir. Hastalık seyri hakkında önemli ikinci faktör ise tümör boyutudur. Prognostik göstergelerden üçüncüsü tümörün histolojik evresidir. Evre 1 meme kanserlerinde, genellikle uzak metastaz ve meme kanserine bağlı ölüm olayı düşük oranda beklenir. Hastanın yaşı da bağımsız bir prognostik faktördür. Çok genç yaştaki meme kanseri hastalarında prognoz, yaşlı hastalara göre daha kötüdür. Östrojen (ER) ve progesteron(PR) reseptörlerinin gen ifade seviyeleri (ekspresyon), meme kanseri tedavi planlamasında en önemli prediktif faktörlerdir. ER ve PR gen ifadesi olmayan invaziv meme kanserleri hormonal tedavilere yanıt vermezler. DCIS tanısı konan hastalardan, ancak hormon reseptör pozitif olanlar tamoksifen tedavisinden fayda görürler. Patoloji raporlarında, ER ve PR durumları (+) veya (-) şeklinde değil de yüzde oran olarak ifade edilmelidir. Sonuç olarak ER ve PR pozitifliği hormonal tedaviye yanıtın en önemli belirleyici faktörüdür. HER2/neu durumu: HER2, “epidermal growth factor receptor” (EGFR) ailesinin bir üyesidir ve bu aile HER1, HER2, HER3 ve HER4’den oluşur. HER2 geni, 17q21’de yerleşiktir ve aktivasyonu ile 185-kD proteininin sentezi olur. Bu protein zarlararası geçişi olan(transmembran), hücre içi ve hücre dışı stoplazmik kısımlara sahip bir proteindir. Stoplazmik kısmı tirozin kinaz işlevine sahiptir. Bu proteinin, hücre dışı kısmına bağlanan uyarıcı (aktivatör), HER2 reseptörünün homo ve/veya heteromerik yapı oluşturmaya ve tirozin kinaz yolağının işlevsek özellik kazanmasına neden olur. HER2 dimer yapı ile işlevsel hale gelen HER2 almaçları; hücre çoğalması, farklılaşması ve hücre göçünü düzenler (29).

Böylece gereğinden fazla ifade edilen HER2 gen ürünleri tümörün kontrolsüz çoğalması ve büyümesi gerçekleşir (30,31,32). Tüm meme kanserlerinin yaklaşık %20’sinde HER2 gen amplifikasyonu vardır ve transmembran glikoproteinini aşırı ekspresyonuna yol açar. HER2 amplifikasyonu ve aşırı ekspresyonu, yüksek tümör evresi, ER negatifliği, artmış tümör proliferasyon oranı ve kötü prognoz ile ilişkilidir (33,34). HER2 pozitifliği ile kemoterapiye yanıt arasında da ilişki saptanmıştır. Örneğin HER2(+) meme kanserleri antrasiklin içeren protokollere, antrasiklin içermeyen protokollere göre daha iyi yanıt verirler (35).

Lenfovasküler İnvazyon: Lenfatik damar invazyonu, lenf nodu metastazı ile ilişkilidir. Lenfovasküler invazyon, hem lenf nodu tutulumu pozitif hem de lenf nodu tutulumu negatif meme kanserli hastalar için bağımsız bir prognostik faktördür (36).

Proliferasyon Oranı: Çok sayıda çalışmada, ploidi (tümör hücresindeki DNA miktarı), S fazındaki tümör hücresi sayısı, tümör hücrelerinin mitotik indeksi, vb. tümör proliferasyon indeksleri ile prognoz ve tedaviye yanıt arasındaki ilişki araştırılmıştır. Çoğu çalışmada ploidi ile prognoz arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır, ancak S fazındaki artmış tümör hücresi sayısı ile azalmış yaşam süresi arasındaki ilişki gösterilmiştir (37,38). Yüksek proliferasyon göstergeleri ile yüksek tümör evresi, genç yaş, ER/PR gen ifade düzeyi yokluğu ve HER2 pozitifliği arasında güçlü şekilde ilişki saptanmıştır. Bununla birlikte, yüksek proliferasyon göstergeleri olan meme kanserli hastalar kemoterapiye daha iyi yanıt veren hasta grubunu oluşturmaktadır (39).

Plazminojen aktivatör sistem: Urokinaz plazminojen aktivatör (u-PA) ve plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) konsantrasyonlarının güçlü birer prognostik faktör oldukları gösterilmiştir (40). Kanser hücreleri yüksek oranda u-PA ve PAI-1 eksprese eden meme kanserli hastalarda, adjuvan kemoterapi sonrası nüks oranı, düşük oranda u-PA ve PAI-1 eksprese eden hastalara göre daha düşük saptanmıştır (41). Urokinaz plazminojen aktivatör ve PAI-1 analizleri taze dokudan yapılması gereken analizler olduğundan, rutin uygulamada yapılamamaktadır.

Diğer prognostik faktörler: Meme kanserinde bunlar dışında, başka prognostik ve prediktif faktörler de değerlendirilmiştir. Tümör dokusundaki kapiller damarlar sayılarak tümör anjiogenezi değerlendirilmiş ve yüksek tümör anjiogenezi olan hastalarda, düşük tümör anjiogenezi olan hastalara göre daha yüksek oranda nüks geliştiği gözlenmiştir.

Malignitelerde p53 gen mutasyonuna sıklıkla rastlanır ve yapılan çalışmalarda, p53 gen mutasyonunun da prognostik ve prediktif faktör olarak kullanılabileceği belirtilmektedir. Bunun yanında bir çalışmada, siklin D1'in Western Blot yöntemi ile ölçülen düşük molekül ağırlıklı formunun artmış ekspresyonu ile nüksüz sağkalım ve genel sağkalım oranlarının düştüğü bildirilmiştir (42), ancak bu sonucu destekleyecek ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.7. Meme Kanseri Tedavisi

Meme kanseri tedavisi hastalık evresine göre planlanır. Tedavi planlaması yapılırken hastanın yaşı, menopoz durumu, patoloji sonuçları, ER, PR, HER2 durumları da dikkate alınır. Tedavi seçenekleri cerrahi, kemoterapi, radyoterapi ve hormonoterapiden oluşan multidisipliner tedavidir.

Meme kanserinde cerrahi girişim küratif veya palyatif amaçlarla yapılır. Küratif cerrahide radikal mastektomi, modifiye radikal mastektomi, meme koruyucu cerrahi ve aksiller diseksiyon operasyonları uygulanır. Bunun dışında, metastatik meme kanserinde semptomatik amaçla palyatif cerrahi girişimler de uygulanabilir.

Günümüzde meme kanseri tedavisinde birinci seçenek cerrahidir. Ancak ilk olarak 1882 yılında William Stewart Halsted tarafından başarıyla uygulanan meme ameliyatı, 125 yılı geçen süre içerisinde çok değişiklik ve gelişme göstermiştir.

Halsted'in uyguladığı, memenin ve göğüs duvarının bir kısmının koltuk altı lenf bezleriyle birlikte tamamen alındığı “radikal mastektomi” ameliyatı, uzun yıllar meme cerrahisinde altın standart olarak yerini korumuştur. Ancak tedavi yöntemleri uygulanırken sürdürülen bilimsel çalışma ve araştırmalar, bir süre sonra ameliyatın bu kadar geniş yapılmasına aslında gerek olmadığını ve hastaya fazladan fayda sağlamadığını göstermiş, bunun sonucunda da ameliyat “modifiye radikal mastektomi” şeklini almıştır. Yakın zamana kadar tek seçenek olarak kullanılan bu yöntem, günümüzde de hala tercih edilmektedir. Bu operasyonda; meme dokusu; medialde sternuma, lateralde orta aksiler çizgi hizasında m.latissimus dorsi kasına, süperiorda clavicula'ya, inferiorda m.rectus abdominis kası hizasına kadar oluşturulan cilt fleplerinin içinden, m.pectoralis major üzerinden sıyrılır. İnterpektoral bölge lenf nodları disseke edildikten sonra tercihen m.pectoralis minör spesmene dahil edilir, ardından aksiller ve santral bölge lenf nodlarının diseksiyonu ile spesmen tek parça olarak çıkarılır.

125 yıllık meme cerrahisi tarihinde en hızlı gelişme son çeyrekte yaşanmıştır. Radyoterapi (ışın tedavisi) seçeneklerinin çoğalması, radyoterapi cihazlarının modernleşmesi ve kullanımlarının yaygınlaşması, yapılacak ameliyatın boyutunun küçültülmesine katkıda bulunmuştur.

Çok ilerlememiş olgularda memenin tamamının alınmasıyla, sadece tümörün alınması ve sonra kalan memeye radyasyon verilmesi arasında fark olmadığı ortaya çıkmış, böylece “meme koruyucu cerrahi” kavramı yerleşmiş ve cerrahlar artık mecbur olmadıkça memenin tamamını almamaya başlamışlardır.

Daha yakın dönemde ise, meme ameliyatı olan hastaların bazılarının yaşadığı kol şişmesi, uyuşması gibi yakınmaların sebeplerinden birisi olan aksiller diseksiyon (koltuk altı lenf bezlerinin alınması) yerine, sentinel lenf nodu(bekçi düğüm) biyopsisi uygulamasının yeterli olduğu saptanmıştır. Bu yöntem sayesinde hastaya aksiler diseksiyonun gerekli olup olmadığı ortaya çıkmakta, eğer gerekmiyorsa diseksiyon yapılmayarak hasta bu işlemin rahatsızlıklarından korunmaktadır. Bu tekniğin uygulanması için gerekli donanım ve deneyimin konuyla ilgili cerrahlar arasında yayılmasıyla birlikte artık hastalar koltuk altı ve kollarıyla ilgili yaşadıkları sorunlardan uzak kalmaktadır. Resim 2’de gösterilen aksiler lenf disseksiyonu sonrasında lenfatik kanallardaki cerrahi hasarlara bağlı olarak lenf akımı bozulabilmekte ve hastalar; kol ödemi, koltukaltında şişlik gibi şikayetler yaşayabilmektedirler.

2.7.1. Onkoplastik Cerrahi

Yeni cerrahi tekniklerden bir diğeri ise “Onkoplastik Cerrahi” kavramıdır. Onkoplastik meme cerrahisi tanımı, meme kanseri nedeniyle yapılacak cerrahi bir girişim ile birlikte memede daha iyi bir estetik sonuç yaratacak kozmetik girişimin beraber planlanması demektir. Onkolojik cerrahi ve plastik cerrahi prensiplerinin birleştirilmesiyle uygulanmaya başlayan bu yöntemlerde, daha önceden meme kanseri nedeniyle memesini kaybetmiş kadınların yeniden bir memeye kavuşmaları sağlanmıştır.

Daha yakın zamanda ise yapılan meme kanseri ameliyatlarında, memenin tamamının alınması gereken durumlarda, aynı ameliyatta memenin alınıp, yerine yeni bir meme oluşturulması, böylece meme ameliyatı için uyutulan hastanın uyandığında memesini yerinde görmesi sağlanmıştır. Böylece meme kanseri hastalığının en önemli sorunlarından birisi olan beden bütünlüğünün bozulması ve benlik algısının zedelenmesi, daha ortaya çıkmadan bertaraf edilmiştir. Ameliyat sonrası dönemde yapılacak uygulamalar eş zamanlı rekonstrüksiyona engel olacaksa, yeniden memenin oluşturulması daha sonraki bir seansa da bırakılabilir.

Bu uygulamalar sayesinde, kanser nedeniyle bir meme ameliyat edilirken örneğin aşırı büyük olan ve hastaya rahatsızlık veren karşı meme de küçültülebilmekte, böylece meme kanseri nedeniyle ameliyat olan hasta, bir memesini kaybetmek yerine sağlıklı ve iyi görünümlü iki meme ile ameliyattan çıkarak moral bulmaktadır.

2.7.1.1. Onkoplastik meme cerrahisinde uygulanan yöntemler

Sadece protez ile yapılan rekonstrüksiyon işlemlerinden elde edilen başarısızlıklar ve silikona karşı duyulan korku, son yıllarda hastanın kendi dokuları ile meme rekonstrüksiyonunu daha popüler hale getirmiştir. Ancak son yıllarda kullanılan hazır protezlerin de çok değiştiğini ve eski endişeleri ortadan kaldırdığını da vurgulamak gerekir.

Yeni memeyi oluşturmak için hastanın kendi dokularından yararlanmak istenirse latissimus dorsi kas-deri flebi (LD flep – sırt kası) ve transversus rektus abdominis flebi (TRAM flep – karın ön duvarı kas ve yağ dokusu) kullanılmaktadır.

2.7.1.2. Latissimus dorsi kas-deri flebi

İlk kez 19. yüzyılda kullanılmaya başlayan bu yöntem, meme rekonstrüksiyonu amacıyla 1976 yılında kullanılmaya başlanmıştır. Orta büyüklükte memeleri olan hastalarda latissimus dorsi kas-deri flebi rekonstrüksiyon için uygun bir tercihtir. Gerekğinde flebin altına bir protez koyarak uygun simetri ve görünüm sağlanabilir.

2.7.1.3. Transversus rektus abdominis flebi

Karşı meme ile uygun bir simetri yakalamak için daha fazla dokuya ihtiyaç duyulan hastalarda tercih edilir. Damarların korunarak yapıldığı veya damarların yeniden ağzlaştırıldığı yöntemlerle yapılan iki tipi vardır. Daha önceden karın bölgesi operasyonu geçirmiş olan hastalar için uygun bir tercih değildir.

2.7.1.4. Sentetik protezler ile yapılan rekonstrüksiyon

Geciği bir süreliğine yerleştirilen doku genişleticiler ve kalıcı sabit hacimli meme implantları olmak üzere iki tip protez kullanılır. Doku genişleticiler kalıcı protezin yerleştirilmesinden önce meme derisine esneklik kazandırmak amacıyla kullanılırlar.

İçerisindeki hazneye giderek artan miktarlarda tuzlu su enjekte edilerek şişirilirler. Zamanı geldiğinde çıkartılarak oluşan boşluğa kalıcı implant yerleştirilir. Bazı özel tip doku genişleticileri kalıcı implant gibi yerinde bırakmak mümkündür. Sabit hacimli kalıcı implantlar, genellikle silikon bazlı ürünlerdir. Son yıllarda yapılan çalışmalar bu amaçla silikon kullanımının güvenli olduğunu ortaya koymuştur. İmplantlar daha çok estetik meme cerrahisinde (meme büyütülmesi gibi) kullanılmaktadır. Rekonstrüksiyon amacıyla sentetik implant kullanımı, sadece hastanın kendi dokularının kullanılamadığı, operasyonun kısa sürede tamamlanması gereken ve sırtında veya karnında ameliyat yapılmasını istemeyen hastalar tarafından tercih edilir.

Göğüs duvarına radyoterapi almış veya operasyon sonrası radyoterapi yapılma olasılığı yüksek olanlarda sentetik implantlar ile rekonstrüksiyon iyi bir seçenek değildir. Diğer memesi küçük ve orta hacimli bayanlarda daha iyi bir kozmetik sonuç sağlar. Gerek doku genişletici gerekse de kalıcı implant ile yapılan rekonstrüksiyon işlemlerinde protez genellikle göğüs ön duvarı kaslarının altına yerleştirilir.

Onkoplastik cerrahi uygulamaları günümüzde, yüksek riskli hastalarda daha kanser ortaya çıkmadan meme dokusunun alınarak yerine bir protez veya hastanın kendi dokularından bir meme oluşturulması için de kullanılmaktadır. Bu şekilde her iki memenin alınmasıyla kanser riski tamamen ortadan kalkmamakta, ama %90 oranında azalmaktadır. Ancak bu uygulamanın hastalar ve cerrahlar tarafından suistimal edilmesinin engellenmesi için endikasyonun çok doğru olarak konulması şarttır. Çünkü küçük ya da büyük her ameliyat bir risk taşımaktadır. Ayrıca günümüzdeki modern yöntemler ve tanı araçları sayesinde kanserli memeyi bile almaya gerek kalmamışken sadece mevcut risk nedeniyle her iki memenin birden alınması için çok akla yakın ve bilimsel gerekçeler olmak zorundadır.

Kemoterapi protokolleri hastalık evresine göre planlanıp uygulanır. Erken evre meme kanserlerinde adjuvan olarak genellikle çok ajanlı kemoterapi protokolleri uygulanır. Kombine kemoterapilere örnek olarak AC (Adriamisin, siklofosfamid), CAF (Siklofosfamid, adriamisin, 5-fluorourasil), CMF (Siklofosfamid, metotreksat, 5-fluorourasil), TAC (Doksetel, adriamisin, siklofosfamid), A-CMF (Adriamisin, siklofosfamid, metotreksat, 5-fluorourasil) gibi protokoller örnek olarak verilebilir.

HER-2 durumuna göre tedaviye trastuzumab eklenebilir. Ayrıca adjuvan tedavide dosetaksel ve paklitaksel gibi ajanlar tedavi planına göre tek başlarına da uygulanabilir.

Metastatik evrede ise tedavi palyatif amaçla uygulanır ve kombine kemoterapiler yanında monoterapi protokolleri de uygulanır. Kombine kemoterapilere örnek olarak TAC, CAF, kapesitabin+dosetaksel, vinorelbin+trastuzumab, karboplatin+dosetaksel veya paklitaksel+trastuzumab, gemesitabin+paklitaksel gibi protokoller verilebilir. Aynı şekilde paklitaksel, dosetaksel, kapesitabin, trastuzumab gibi ajanlar monoterapi şeklinde de uygulanabilir.

Meme kanserinde hormonoterapide ilaç seçimi hastanın menopoz ve ER, PR durumuna göre yapılır. Tamoksifen, toremifen, anastrozol, letrozol, eksemestan, fulvestrant, megestrol, fluoksimesteron, aminoglutetimid gibi ajanlar ve leuprolid asetat, goserelin gibi LH-RH analogları kullanılabilir.

Radyoterapi adjuvan veya palyatif amaçlarla uygulanabilir. Meme kanserinde adjuvan radyoterapi; cerrahi girişim sonrası evre T3, T4 veya lenf nodu pozitif hastalarda, meme koruyucu cerrahi girişim yapılmış hastalarda, yüksek riskli DCIS hastalarında mastektomi sonrası uygulanır. Metastatik evrede radyoterapi, özellikle kemik ve beyin metastazı olan hastalarda palyatif amaçla planlanır.

2.8. UGT Gen Grubu

Kanserlerin çoğunun gelişiminde yaklaşık 10-20 yıllık bir dönem vardır ve bu dönem önleyici sağaltım için yeterli bir süreçtir. Güncel olarak bazı çalışmalarda kanserlerle UGT1A gen ailesi ekspresyonu arasındaki ilişki araştırılmıştır. Örneğin; UGT1A7 gen aleli ekspresyonunun kolorektal kanserlerde azalmış aktivitesi saptanmış ve bu nedenle sporadik kolon kanserli vakalarda potansiyel yeni bir risk faktörü olabileceği vurgulanmış (43), viral orjinli siroz zemininde gelişen hepatocellüler kanserle pozitif, alkolik siroz zemininde gelişen hepatocellüler kanserle negatif ilişkisi olduğu ortaya konmuştur (44). UGT1A10 ve UGT2B7 gen alelleri ekspresyonunun meme kanserli dokularda normal dokulara göre azalmış olduğu tespit edilmiş (45). UGT1A7'nin gen ekspresyonu insan pankreasında predominant ksenobiyotik metabolize edici UGT olduğu tanımlanmıştır. Düşük mutajen detoksifikasyon yeteneği olan UGT1A7 geninin pankreas kanseri için bir faktörü olduğu düşünülmektedir.

UGTler tarafından katalizlenen glukuronidasyon reaksiyonu bir çok endojen bileşimin, çeşitli ilaçların, xenobiyotiklerin detoksifikasyonunda önemli bir süreçtir. Glukuronidasyon inaktif hidrofilik glukuronidlerin idrar ve safra yolu ile vücuttan eliminasyonunu kolaylaştırır (46,47). Glukuronidasyonun genel olarak, toksisite yaptığı veya kanserojen olduğu gösterilmiş bir çok endojenin, besinsel maddelerin, klinik olarak uygulanan ilaçların ve tabii ki bir çok çevresel kimyasalın aktivitelerinin azaltılması veya sonlandırılması şeklinde koruyucu yahut inaktive edici bir fonksiyona sahip olduğu düşünülmektedir (47). Bununla birlikte glukuronidasyon, biyoaktif ve hatta östrojen, morfin, retinoidler, safra asitleri ve heterosiklik aromatik aminleri gibi toksik bileşiklerin bile oluşması ile de sonuçlanabilir (48,49).

UGTler primer aminoasit sekanslarının benzerliğine göre iki aile olarak sınıflandırılmıştır, UGT1 ve UGT2. İnsanlarda UGT1 geni, 2-q37 kromozomu üzerindeki gen lokusu tarafından kodlanan RNA transkripsiyonu kodlar (50,51). UGTler hidrofobik substratların renal veya safra yoluyla kolaylıkla elemine edilebilen inaktif hidrofobik β -D-glukopiranosiduronik asitlere (glukuronidler) dönüşümü katalizlerler. Glukuronidasyon için hedef substratlar üriner yan ürünlerin, steroid ve bilirubin gibi endojen metabolitlerin, bir çok terapötik ilacın ve polisiklik ve heterosiklik aromatik hidrokarbonlarla heterosiklik aminler gibi bir çok çevresel mutajenlerin bileşimlerinden meydana gelir (51). Bu enzimler hücrel savunmada kritik bir rol oynarlar ve hücrel detoksifikasyon ile ilgili proteinlerin major grubunu oluşturdukları düşünülmektedir.

İnsanlarda, UGT1A lokus geninin dokuya özel ürünlerin ekspresyonu ispatlanmıştır (52,53). UGT1A7, UGT1A8 ve UGT1A10 karaciğer dokusunda sentezlenmezler ve farklı olarak özofagus (54), mide (52), ince barsaklar (55) ve kolon (56) gibi intestinal sistem organlarınca düzenlendikleri gösterilmiştir. Ek olarak, UGT1A genlerinin regülasyonu ve fonksiyonları gastrointestinal karsinogenezis ile ilişkilendirilmiştir (14,54,55,57). İnsan kanserlerinin analizleri tümör dokularında UGT ekspresyonunun farklı düzenlemelerini göstermiştir (55,57). Gastrik mukozada, bireyler arasında UGT aktivitesinde varyasyonlara yol açan UGT1A regülasyonu bir kanser risk faktörü olarak belirtilmiş iken (55) özofagus kanserinde UGT1A7 transkripsiyonunun baskılanması tüm özofageal benzo(α)piren metabolit glukuronidasyonunda düşüş ile koreledir (54).

UGT1A7'nin klonlanması veya karakterize edilmesi, onun polisiklik aromatik hidrokarbonların ve tabii ki üriner heterosiklik aminlerin glukuronidasyonundaki kapasitesini göstermiştir ki her ikisi de kanserojen olarak bilinmektedirler. Bu bulgular bizim, UGT1A10 geninin ekspresyonundaki veya fonksiyonel özelliklerindeki oynamaların potansiyel kanser riski için gösterge olabileceğinden şüphelenmemize neden olmuştur.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Meme Kanseri Hastalarından Biyopsi Örneklerinin Toplanması

Bu çalışmada kullanılan doku örnekleri Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Şahinbey Araştırma ve Uygulama Hastanesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalına gelen meme kanseri hastalarından alınmıştır.

Çalışma, Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu kararlarıyla uygun bulunmuştur. Meme kanseri tanısı konulmuş hastalardan ameliyat sırasında sağlıklı ve tümörlü dokularından örnek alınmıştır. Çalışmaya, 2010-2013 yılları arası Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Bölümü'ne gelen 18-85 yaş arası toplam 43 hasta dahil edilmiştir. Kontrol dokusu olarak aynı kişilerin tümörsüz dokuları kullanılmıştır. Çalışmaya dâhil edilen hastalar ayrıca yaş, meme kanseri evresi ve histopatolojisi ve hormon alıcı durumu bakımından değerlendirilmiştir.

3.2. Meme Kanseri Hastalarından Alınan Biyopsi Örneklerinden mRNA Eldesi

Cerrahi operasyonla alınan normal ve tümörlü dokular, sıvı azota daldırılmıştır. Örnekler çalışma için yeterli sayıya ulaşınca kadar -80°C'de saklanmıştır. Daha sonra çalışma öncesinde -80°C'de toplanan doku örnekleri çıkartılıp çözünmesi sağlanmıştır. Toplanan dokulardan mRNA izolasyonu için RNeasy Mini Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Almanya) kullanılmıştır. Kitin çalışma prosedürü şu şekilde işlemiştir:

1. Hastalardan alınan dokulardan yaklaşık 25 mg ağırlığında parçalar kesilerek 200 µl'lik tüplere konuldu. Dokuyu parçalamak için üzerine 400 µl Qiazol (Qiagen GmbH, Hilden, Almanya) eklendi.
2. Homojenizatör kullanılarak doku iyice parçalanıp karışım homojen ve küçük parçalı hale getirildi.
3. Homojen hale gelen doku filtreli tüplere alınıp en yüksek devirde 3 dk santrifüj edildi.

4. Filtreler atılıp alttaki tüpün üstüne % 70 'lik etil alkol eklendi.
5. Elde edilen karışım fitreli tüplere alınıp 12000 rpm'de 15 sn santrifüj edildi. Alttaki tüpler atılıp filtreler başka tüplere yerleştirildi.
6. Üzerine 700 µl tampon RW-1 konulup 12000 rpm'de 15 sn santrifüj edildi. Yine alttaki tüpler atılıp filtreler yeni tüplere konuldu.
7. 300 µl tampon RPE eklenip 12000 rpm'de 15 sn santrifüj edildi. Alttaki tüpler atılıp filtreler başka tüplere yerleştirildi.
8. 500 µl tampon RPE eklendi ve 12000 rpm'de 15 sn santrifüj edildi. Alttaki tüpler atılıp filtreler başka tüplere yerleştirildi.
9. Boş olarak 1 dk en yüksek devirde santrifüj edildi.
10. Filtreler 1.5 ml'lik eppendorf tüplere alınarak üzerine 30-50 µl RNAaz içermeyen distile su eklenip 12000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi. Toplama tüpündeki birikinti total mRNA'yı içermekteydi.

3.3. mRNA Örneklerinden Revers Transkriptaz PCR (RT-PCR) Yöntemi ile cDNA Eldesi

Elde edilen total RNA içindeki mRNA'yı cDNA'ya çevirmek için Ipsogen RT Kit (Qiagen, GmbH, Hilden, Almanya) kullanıldı. Test edilecek (10 µl) her bir RNA örneğinin 1 µg'ı 65°C'de 5 dakika süreyle inkübe edildi. Hemen 5 dakika buzda bekleterek soğutuldu. Tüpün altındaki sıvıyı toplamak için kısa süreli santrifüj edildi. Revers Transkriptaz ön karışımı buzda hazırlandı ve buzda tutuldu (Tablo 8).

Tablo 8. mRNA'dan cDNA elde etmek için uygulanan Revers Transkriptaz PCR reaksiyon karışımının içerikleri.

Bileşenler	Örnek başına hacim (µl)
5x Revers Transkriptaz tamponu	5
dNTP	2
Random primer (100 µM)	5,25
RNaz İnhibitörü (40 U/µl)	0,5
Ters transkriptaz (200 U/µl)	1
DTT	1,25
RNaz içermeyen su	0,5
Örnek başına RT ön karışım hacmi	15,5

Ön karışım dikkatlice karıştırıldı, kısa süreli santrifüj edildi ve her bir RNA örneğinin 10 µl'si için (40 ng/µl için) ön karışımdan 15 µl eklendi. Her bir tüp dikkatlice karıştırıldı ve kısa süreli santrifüj edildi. Veriti™ Dx 96-Well Thermal Cycler (Applied Biosystem, Foster City, CA, USA) cihazındaki kayıtlı revers transkripsiyon programı çalıştırıldı (Tablo 9). Tüpün altındaki cDNA'yı toplamak için kısa süreli santrifüj edildi ve qPCR gerçekleştirene kadar -20°C'de saklandı.

Tablo 9. mRNA'dan cDNA eldesinde revers transkripsiyon için termal döngüleyici ayarları.

Süre (dakika)	Sıcaklık (°C)
10	25
60	50
5	85
∞	4

Tepkime tamamlandıktan sonra elde edilen tek sarmal cDNA örneklerinin dondurulup çözülerek oluşan kaybı önlemek için 0,2 ml'lik PCR tüplerine 2 µl eşit miktarlarda dağıtıldı. Eşit miktarlarda bölme işlemi yapıldıktan sonra cDNA'ların kullanım ömrünü uzatmak için -80°C'de muhafaza edildi.

3.4. Elde Edilen cDNA'lardan Kalite ve Miktar Tayini

İfade analizi deneyleri öncesi elde edilen cDNA örneklerinin miktarlarını ve kalitesini belirlenmek amacıyla ve tüm örnekleri aynı yoğunlukta reaksiyona tabi tutmak amacıyla spektrofotometrik yöntem kullanıldı. Kalite ve miktar tayini Epoch Micro-Volume Spectrophotometer System (BioTek, Winooski, United States) kullanılarak yapıldı. İfade analizi deneyleri öncesi örneklerden elde edilen cDNA miktarları mRNA cDNA'sı için 50 ng/µl'e çekildi.

3.5. UGT1A10 İfade Düzeyi Ölçümü için Eş Zamanlı PCR (qRT-PCR) Yöntemi

Eş zamanlı PCR reaksiyonu DNA bağlayan boyaların kullanımı ile amplifikasyonun eş zamanlı olarak takibine olanak sağlar. SYBR Green bu amaçla sıklıkla kullanılan boyalardan biridir.

Çift iplikli DNA molekülüne bağlanarak floresan ışımaya verir. Primerin bağlanmasını takiben gerçekleştirilen uzama aşamasında, hedef DNA'nın çift sarmal hale gelmesiyle DNA'ya bağlanan SYBR Green miktarı artmakta ve buna bağlı olarak yayılan floresans miktarında artış gözlenmektedir. SYBR Green boyasından alınan ışımaya sınır değeri aştığı noktaya Ct yada Cp değeri adı verilmektedir. Bu noktada DNA amplifiye olmuş ve DNA'ya bağlanan boyanın verdiği ışımaya sınır değeri aşmıştır. Işımanın sınır değeri aştığı anda amplifikasyondan emin olunur ancak doğru amplikonun takibinin yapıldığının belirlenebilmesi için erime eğrisinin incelenmesi gerekmektedir. Çünkü SYBR Green belirli bir DNA molekülüne bağlanan spesifik bir boya değil, tüm çift iplikli DNA moleküllerine bağlanan bir boyadır.

Primer Seçimi: Gen ifadesi primerleri; genin ifade edilip edilmediğini anlamak için kodlanan bölgelerin herhangi bir yerinde olabilir. Fakat kodlanan bir RNA ürünü söz konusu olduğu için ilgili RNA ürününden başka bir kirliliği çoğaltmamak için primer dizayn ederken primerlerden bir ya da her ikisinin ekzon-ekzon kesişim bölgesini içermesine dikkat edilmelidir. Aksi takdirde çoğalan ürünün ortamı kirleten DNA ürününden mi kaynaklı olup olmadığını bilemeyiz. Bu bağlamda UGT1A10 primerleri, NCBI veritabanında yer alan “Gene” arayüzü (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primerblast/>) kullanılarak tasarlandı. Kullanılan primerlerin ileri ve geri primer dizilimleri Tablo 10’da gösterilmiştir. Hamarat (housekeeping) gen olarak BETA-ACTIN geni kullanıldı.

Tablo 10. UGT1A10 geninin ifade seviyelerinin belirlenmesi için kullanılan primer dizilimleri.

Primer Adı	İleri Dizi (F)	Geri Dizi (R)
<i>UGT1A10</i>	GGATCCTTTTGATACCTGTGGC	GGGCATTCTAAAAAGATACTGGC
<i>BETA-ACTIN</i>	CTGGAACGGTGAAGGTGACA	AAGGGACTTCCTGTAACAATGCA

Tasarımı yapılan primerlerin % GC oranı, Tm değerleri, ürün uzunlukları ve primer uzunlukları gibi primer özellikleri Tablo 11’de gösterilmiştir.

Tablo 11. Tasarımı yapılan primerlerin özellikleri.

Primer Adı	Ürün boyutu (bç)	Tm (°C)	% GC	Primer uzunluğu (bç)
UGT1A10	242	F	59,05	50,00
		R	58,41	41,67
BETA-ACTIN	140	F	59,89	55,00
		R	60,18	43,48

PCR bileşenleri: Eş zamanlı PCR reaksiyonu Rotor Gene 6000 Real-Time PCR Machine (Qiagen GmbH, Hilden, Almanya) cihazı kullanılmıştır. UGT1A10 ifade analizi için hazırlanan ön karışımda RT² SYBR Green ROX FAST Mastermix (Qiagen GmbH, Hilden, Almanya) kullanıldı.

UGT1A10 ifade düzeyi ölçümü için PCR bileşenleri

Tablo 12'ye göre eş zamanlı PCR ön karışımı buzda hazırlandı. Karıştırıldı ve buza koyuldu. Eş zamanlı PCR ön karışımı cDNA haricinde ifade analizi reaksiyonu için gerekli olan her şeye sahipti.

Tablo 12. UGT1A10 ifade düzeyinin ölçüldüğü eş zamanlı PCR reaksiyon karışımının içerikleri.

Bileşenler	Hacim (µl)
RT ² SYBR Green ROX FAST Mastermix	12,5
F Primer (10 µM)	0,5
R Primer (10 µM)	0,5
Rnaz/Dnaz içermeyen su	10,5
cDNA (50 ng)	1
Total	25

Her örneğe ait cDNA, eş zamanlı PCR ön karışımı içeren her tüpe eklendi. Yavaşça karıştırıldı, kısa bir şekilde sentrifüze edildi ve buza tekrar konuldu. Rotor Gene 6000 Real-Time PCR Machine (Qiagen GmbH, Hilden, Almanya) cihazındaki kayıtlı programı çalıştırıldı (Tablo 13).

Tablo 13. UGT1A10 ifade düzeyinin ölçüldüğü eş zamanlı PCR ayarları.

	Sıcaklık (°C)	Süre(sn)	
Enzim aktivasyonu	95	10 dak	
Denaturasyon	95	15	40 döngü
Primer bağlanması/uzama	60	60	
Erime eğrisi	65	1	
	95	Devamlı	

3.6. İstatistiksel Analiz

UGT1A10 ifade düzeylerinin kıyaslanmasında SPSS 21 programı (IBM software, Pointe Claire, Quebec, Kanada) kullanılmıştır. Sonuçlar istatistiksel olarak, ikili karşılaştırmalar Student's t testi, ikiden fazla karşılaştırmalar ise tek yönlü varyans (One Way ANOVA) testi uygulanarak karşılaştırıldı. İstatistiksel çözümlemelerde $p < 0,05$ değeri anlamlı kabul edilerek, 0,95 güven aralığında değerlendirme yapıldı.

Kısmi miktarlara dayalı yöntemde ölçümü yapılan UGT1A10 geninin ölçüm değerleri BETA-ACTIN geni ile normalize edilmiştir. Referans olarak alınan BETA-ACTIN geni belirli şartlar altında ifade düzeyi değişmeyen, her doku ya da hücrede bazal düzeyde ve hücreler arası varyasyon göstermeden ifade edilen hamarat genlerdir.

qRT-PCR yönteminde C_p (Crossing points) değerleri elde edilmiştir. qRT-PCR sonuçlarında ilgili genin referans gene göre kıyaslaması için $2^{-\Delta C_t}$ formülü kullanılmıştır (Şekil 2). Bu değer bize o genin referans gene göre hangi oranda ifade düzeyinin değiştiğini gösterir; yani, göreceli ifade bilgisi edinilir.

$$2^{-\Delta C_t} = 2^{-\Delta(\text{Gen } C_t - \text{Referans } C_t)}$$

Şekil 2. $2^{-\Delta C_t}$ formülü.

4. BULGULAR

Çalışmaya Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalında meme kanseri tanısı ile opere edilen 43 hasta dahil edildi. Meme kanseri tanısı olan grubun yaş ortalaması 43,7 dir. Çalışmaya dahil edilen 43 hasta patoloji raporlarına göre değerlendirildiğinde, patolojik tip açısından% 67.4 ile, en sık invazivduktal karsinom olduğu görüldü (Tablo 14).

Tablo 14. Hastaların patoloji raporlarına göre patolojik tipi açısından dağılımı.

Patolojik Tanı	Sayı	%
İnvazivduktal CA	29	67.4
İnvazivlobuler CA	7	16.2
Malignepityalya CA	2	4.6
Metaplastikkarsinom	2	4.6
Mikroinvaziv CA	2	4.6
apokrinkarsinom	1	2.3

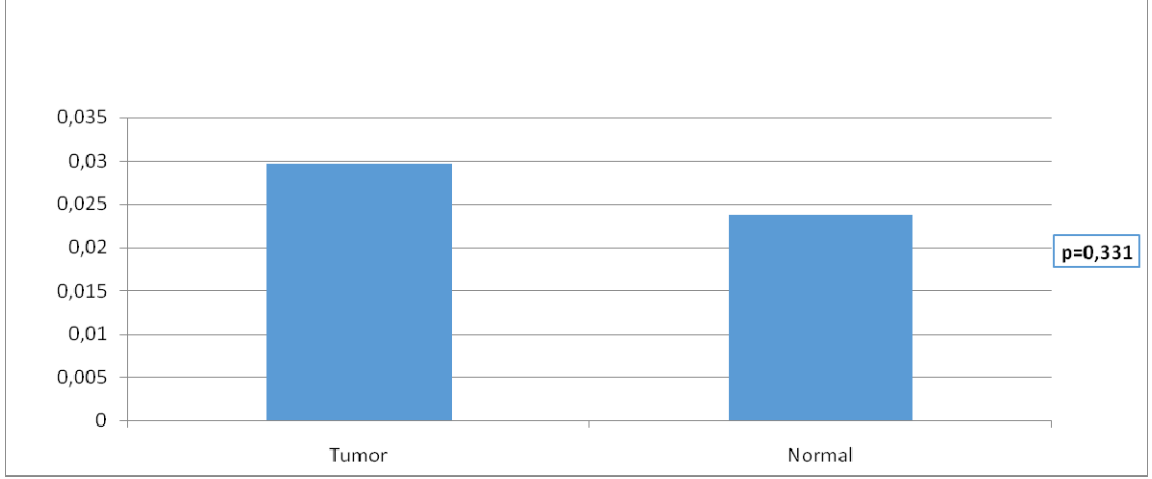
Hasta cDNA'ları üzerinden UGT1A10 geninin ifade düzeyleri Ct değerleri üzerinden yorumlandı. Normalizasyon için beta-aktin kullanıldı. 2-ΔCt metodu kullanılarak normal ve tümörlü doku gruplarında UGT1A10 geninin ifade düzeyleri beta-aktin ifade düzeyi ile kıyaslanarak bu genler için rölatif katsayı (fold change) değeri elde edildi.

Çalışmaya dahil ettiğimiz 43 hastanın, operasyon sırasında çıkarılan materyalinden alınan normal ve tümörlü dokulardan UGT1A10, B-Aktin, ekspresyon düzeyleri ve bu genlerin ifade düzeyleri olan Ct değerleri ve formülle standardize edilen 2-ΔCt değerleri çalışıldı. İlk önce UGT1A10 gen ekspresyon düzeyi sonuçları değerlendirildi. Bu değerler Tablo 15’de şema tize edildi.

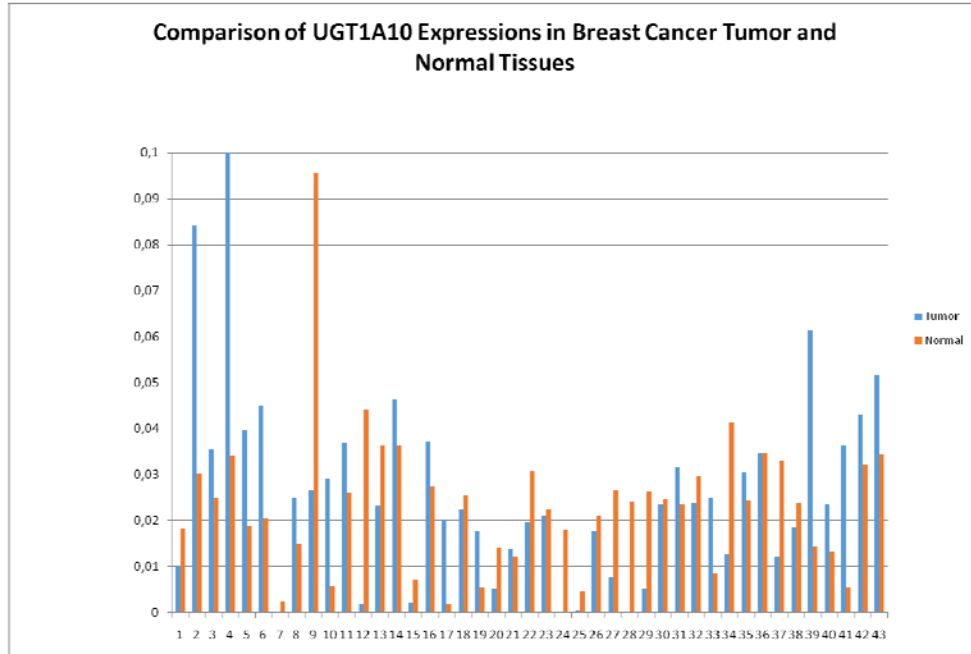
Tablo 15. UGT1A10 gen ekspresyon düzeyi sonuçları.

	T		N		Tumor Normal			
Hasta	UGT1A10	B-Actin	UGT1A10	B-Actin	?T	?N	2 ⁻ Ct	2 ⁻ Ct
1.HASTA	26,78	20,17	25,73	19,95	6,61	5,78	0,0102	0,0182
2.HASTA	28,15	24,58	25,18	20,13	3,57	5,05	0,0842	0,0302
3.HASTA	23,84	19,02	25,05	19,73	4,82	5,32	0,0354	0,025
4.HASTA	29,98	27,99	23,35	18,48	1,99	4,87	0,2517	0,0342
5.HASTA	27,44	22,78	26,25	20,52	4,66	5,73	0,0396	0,0188
6.HASTA	28,07	23,6	24,36	18,76	4,47	5,6	0,0451	0,0206
7.HASTA	40	23,32	29,11	20,39	16,68	8,72	1E-05	0,0024
8.HASTA	26,97	21,65	23,71	17,64	5,32	6,07	0,025	0,0149
9.HASTA	22,93	17,69	24,72	21,33	5,24	3,39	0,0265	0,0954
10.HASTA	24,69	19,58	26,58	19,16	5,11	7,42	0,029	0,0058
11.HASTA	21,31	16,55	24,41	19,15	4,76	5,26	0,0369	0,0261
12.HASTA	40	30,96	23,85	19,35	9,04	4,5	0,0019	0,0442
13.HASTA	31,51	26,09	23,33	18,55	5,42	4,78	0,0234	0,0364
14.HASTA	23,31	18,88	23,41	18,63	4,43	4,78	0,0464	0,0364
15.HASTA	33,88	24,98	25,39	18,27	8,9	7,12	0,0021	0,0072
16.HASTA	23,66	18,91	23,81	18,63	4,75	5,18	0,0372	0,0276
17.HASTA	25,93	20,3	29,23	20,18	5,63	9,05	0,0202	0,0019
18.HASTA	24,5	19,02	23,27	17,98	5,48	5,29	0,0224	0,0256
19.HASTA	27,92	22,09	26,59	19,1	5,83	7,49	0,0176	0,0056
20.HASTA	27,28	19,7	23,07	16,93	7,58	6,14	0,0052	0,0142
21.HASTA	28,39	22,21	36,63	30,27	6,18	6,36	0,0138	0,0122
22.HASTA	40	34,34	22,42	17,4	5,66	5,02	0,0198	0,0308
23.HASTA	22,88	17,31	21,75	16,27	5,57	5,48	0,0211	0,0224
24.HASTA	39,75	25,22	24,86	19,06	14,53	5,8	4E-05	0,0179
25.HASTA	33,64	22,17	24,79	17,03	11,47	7,76	0,0004	0,0046
26.HASTA	25,69	19,86	23,79	18,23	5,83	5,56	0,0176	0,0212
27.HASTA	32,77	25,76	28,47	23,23	7,01	5,24	0,0078	0,0265
28.HASTA	33,53	21,73	23,31	17,94	11,8	5,37	0,0003	0,0242
29.HASTA	33,06	25,48	22,88	17,63	7,58	5,25	0,0052	0,0263
30.HASTA	26,12	20,72	21,8	16,45	5,4	5,35	0,0237	0,0245
31.HASTA	40	35,01	25,32	19,92	4,99	5,4	0,0315	0,0237
32.HASTA	24,05	18,66	23,25	18,17	5,39	5,08	0,0238	0,0296
33.HASTA	31,46	26,14	25,87	18,99	5,32	6,88	0,025	0,0085
34.HASTA	29,66	23,36	22,68	18,08	6,3	4,6	0,0127	0,0412
35.HASTA	26,54	21,51	23,78	18,42	5,03	5,36	0,0306	0,0243
36.HASTA	24,61	19,76	22,75	17,9	4,85	4,85	0,0347	0,0347
37.HASTA	29,84	23,47	22,52	17,6	6,37	4,92	0,0121	0,033
38.HASTA	29,63	23,88	24,3	18,91	5,75	5,39	0,0186	0,0238
39.HASTA	32,16	28,13	27,54	21,41	4,03	6,13	0,0612	0,0143
40.HASTA	23,75	18,35	34,57	28,35	5,4	6,22	0,0237	0,0134
41.HASTA	27,19	22,4	31,13	23,59	4,79	7,54	0,0361	0,0054
42.HASTA	27,7	23,16	24,12	19,16	4,54	4,96	0,043	0,0321
43.HASTA	25,07	20,79	23,41	18,55	4,28	4,86	0,0515	0,0344
						Mean	0,0296	0,0237

Bu değerler sayısal olarak değerlendirildiğinde $2-\Delta Ct$ 'nin normal dokudaki değeri 0,0237, $2-\Delta Ct$ 'nin tümörlü dokudaki değeri 0,0296 olarak ölçülmüştür (Şekil 3-4). Bu durumda UGT1A10 gen ekspresyon düzeyi tümörlü dokuda minimal artmış olarak saptandı.



Şekil 3. Meme normal hücre ve kanserli hücrelerde UGT1A10 geninin rölatif katsayı değerleri (Fold Change) ($2-\Delta Ct$ metot) (Total).



Şekil 4. Normal ve meme kanserli dokuda UGT1A10 ekspresyonunun karşılaştırılması.

Normal ve tümörlü dokudaki UGT1A10 ekspresyonundaki değerler Student's T Testi kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi. Bu değerlendirmede normal dokudaki $2-\Delta Ct$ değeri ile tümörlü dokudaki $2-\Delta Ct$ değerleri karşılaştırıldı. $p=0,331$ olarak bulundu (Tablo 15). Bu değerlere göre UGT1A10 un ekspresyonunun tümörlü dokuda normal dokuya göre minimal oranda yüksek olduğu görüldü. Tümörlü dokudaki UGT1A10 gen ekspresyonundaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,331$).

5. TARTIŞMA

Kadınlarda görülen en yaygın malignite türü meme kanseridir. Avrupa’da kadınlarda bütün kanser vakalarının %13.5’ini meme kanseri oluşturmaktadır (58). Meme kanserinde de diğer kanser türlerinde olduğu gibi yaşam süresini etkileyen en önemli faktör tanı zamanıdır. Potansiyel tedavi hedeflerinin belirlenebilmesi ve buna bağlı olarak daha az toksik etki ve daha özgün hedeflerin yok edilebilmesi için meme kanseri genetiğinin ve hastalıkla ilgili moleküler mekanizmaların ortaya çıkartılması hastalığın tamamen ortadan kaldırılmasını sağlayabilecektir. Meme kanserinde bir çok faktör yanında yaş faktöründe mortalite ve prognozu etkileyebilmektedir. Meme kanseri postmenopozal dönemin hastalığıdır ve insidansı yaşla birlikte artar. Pik yaşı ortalama 61 olarak bildirilmektedir. Çalışmamıza katılan hastaların yaş ortalaması 43,7 olarak saptandı. İnvaziv meme kanserlerinin %67.4’ü invaziv duktal karsinom; %16.2 si invaziv lobüler karsinomdur. Çalışmaya alınan hastaların 29 tanesinin patolojik tanısı invazif duktal karsinom, 7 tanesi invazif lobüler karsinom, 2 tanesi metaplastik karsinoma, 2 tanesi mikroinvazivkarsinom ,2 tanesi malignepitelyalkarsinom, 1 tanesi apokrin karsinom olarak rapor edilmiş olup bu oranlar literatürle benzerlik göstermektedir (Tablo 14).

UGTler primer aminoasit sekanslarının benzerliğine göre iki aile olarak sınıflandırılmıştır, UGT1 ve UGT2. İnsanlarda UGT1A geni, 2-q37 kromozumu üzerindeki gen lokusu tarafından kodlanan RNA transkripsiyonu kodlar (50,51). UGTler hidrofobik subsratların renal veya safra yoluyla kolaylıkla elemine edilebilen inaktif hidrofobik β -D-glukopiranosiduronik asitlere (glukuronidler) dönüşümü katalizlerler. Glukuronidasyon için hedef subsratlar üriner yan ürünlerin, steroid ve bilürubin gibi endojen metabolitlerin, bir çok terapötik ilacın ve polisiklik ve heterosiklik aromatik hidrokarbonlarla heterosiklik aminler gibi bir çok çevresel mutajenlerin bileşimlerinden meydana gelir (51). Bu enzimler hücrel savunmada kritik bir rol oynarlar ve hücrel detoksifikasyon ile ilgili proteinlerin major grubunu oluşturdukları düşünülmektedir. İnsanlarda, UGT1A lokus geninin dokuya özel ürünlerin ekspresyonu ispatlanmıştır (52,53).

UGT1A7, UGT1A8 ve UGT1A10 karaciğer dokusunda sentezlenmezler ve farklı olarak özofagus (54), mide (52), ince barsaklar (55) ve kolon (56) gibi intestinal sistem organlarınca düzenlendikleri gösterilmiştir. Ek olarak, UGT1A genlerinin regülasyonu ve fonksiyonları gastrointestinal karsinogenezis ile ilişkilendirilmiştir (51,54,55,57). İnsan kanserlerinin analizleri tümör dokularında UGT ekspresyonunun farklı düzenlemelerini göstermiştir (55,57). Gastrik mukozada, bireyler arasında UGT aktivitesinde varyasyonlara yol açan UGT1A regülasyonu bir kanser risk faktörü olarak belirtilmiş iken (55) özefagus kanserinde UGT1A7 transkripsiyonunun down regülasyonu tüm özofageal benzo(α)piren metabolit glukuronidasyonunda düşüş ile koreledir (54). UGT1A7'nin klonlanması veya karakterize edilmesi, onun polisiklik aromatik hidrokarbonların ve tabii ki üriner heterosiklik aminlerin glukuronidasyonundaki kapasitesini göstermiştir ki her ikisi de kanserojen olarak bilinmektedirler. Bu bulgular bizim, UGT1A10 geninin ekspresyonundaki veya fonksiyonel özelliklerindeki oynamaların potansiyel kanser riski için gösterge olabileceğinden şüphelenmemize neden olmuştur. Bundan dolayı, meme kanseri ile ilişkisini incelemek amacı ile hedef genler olarak belirlenmiştir.

Meme kanserleri mortalite oranlarının yüksek olması nedeniyle önemli yer teşkil etmektedir. Bu yüzden ki bu dokularda kanser hücresi görülmeden tespit edilmesi ve kansere dönüşecek hücrelerin daha önceden tanı alması ve koruyucu genetik faktörlerin bulunması oldukça önemlidir. Araştırmamızda meme kanserlerine ait hücrelerin UGT1A gen ailesinin ifade düzeyleri incelenmesi ile meme kanserlerinde gen tedavisinin moleküler temellerinin ortaya konması, meme kanserlerinin erken tanısının bu dokularda henüz kitlesel değişiklikler meydana gelmemişken gen analizleri ile konabilmesi amaçlanmaktadır.

UDP-glukuronozil transferazlar (UGT) bilirubin ve steroid hormonlar gibi birçok lipofilik endojen substratların ve de karsinojenler ve ilaçlar gibi ksenobiyotiklerin glukuronizasyonunu katalizler (51,61). Birçok vakada UDP aracılı metabolizma, metabolik eliminasyonu artırır ve bazı vakalarda biyoaktivasyon gösterilmesine rağmen substratların biyolojik yararlanımını azaltır (61,62). UGTler bu yüzden önemli bir detoksifikasyon sistemi olarak sayılır.

Azalmış enzim aktivitesi sonucu oluşan UGT'lerin genetik polimorfizmi; kolorektal kanser, meme kanseri, akciğer kanseri, sindirim kanalının proksimal kanserleri, hepatosellüler kanser ve prostat kanserleriyle ilişkilendirilmiştir (63). Diğer yandan, anti-kanser tedavide çok önemli rol oynayan UGT'lerin, geliştirilmiş enzim aktiviteleri; irinotekan, metotreksat, epirubisin ve tamoksifen gibi UGT'lerin substratı olan birçok ilacın terapötik direncine katkıda bulunmaktadır (64). UGT'ler her ne kadar karşılık gelen normal dokulara göre çok daha az olsa da bir çok tümör hücresinde salgılanmaktadır (45,61). UGT'ler kemoterapötik direncin en önemli nedenlerinden biri olarak gösterilmesine rağmen, çok azı ilaçların hedef kanser hücrelerindeki hücre içi birikimi ve kemoterapötik yararlanımına ilişkin direkt etkisini bilmektedir.

Tansiyonin IIA (TSA), kardiyovasküler ve serebrovasküler yararları iyi bilinen antikanser bir ajandır (65). UGT'nin katalizlediği bir dizi reaksiyonla elimine edilir ve apoptotik rol oynar (61,66). UGT1A'nın kolon kanser hücrelerinde TSA'ya bağlı apoptoza etkisi UGT1A ve UGT1A9'un apoptotik ölüm üzerindeki rolü test edilmiştir. Bir çalışmada (61), UGT1A ve UGT1A9'un eksepresyon seviyelerinin kolon kanser hücrelerinde TSA'nın apoptotik etkileri ve hücre içi birikiminde önemli bir faktör olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak, kolon kanser hücrelerinde TSA'nın antikanser etkisi ve hücre içi birikiminde UGT1A ekspresyonu ve aktivitesinin rolü gözlemlenmiştir (61). Glukuronizasyon eksikliği, TSA redüksiyon döngüsü ve oto-oksidasyon ile hücre içi ROS üretimine ve hücrenin apoptotik ölümüne yol açar. Aksine UGT1A'nın aktivasyonu ve özellikle UGT1A9'un aktivasyonu bu döngüyü kırabilir ve TSA'nın metabolik eliminasyonuna neden olabilir. Ayrıca kanser hücrelerinde UGT1A daha az eksprese edildiği için TSAya bağlı sitotoksitenin arttığı görülmüş (61).

Geçtiğimiz yıllar boyunca, genotipleme ve verinin sekanslanması promotor lokalizasyondaki ve UGT1A genlerinin sekansını kodlayan 100'den fazla varyantın keşfedilmesine yol açmıştır. Dikkate değer şekilde, varyantların çoğu, genel popülasyonda %40-50'ye kadar alel çeşitliliği gösterirler; bu durumun bir dengesizlikle bağlantısı olduğu bulunmuştur fakat az sayıda varyantın genel popülasyonda polimorfizm olarak sınıflandırılabilmesi için yeterli frekansları vardır (67,96). Polimorfizm en iyi, 113 UGT1A alel genotip varyantı içerdiği bilinen, UGT1A geni ile gösterilir (UGT1A1*1-UGT1A1*113).

UGT1A1 genlerinin çoğu yüksek alel frekansı göstermektedir (68,80). UGT1A3 (69), UGT1A4 (70), UGT1A6 (71), (72), UGT1A8 (70) ve UGT1A9 (73)'da da genetik polimorfizm bulunmuştur. Polimorfizm, UGT'lerin aktivitesini azaltıp etkilenmiş bireylerin patolojisiyle sonuçlanabilen değişik derecelerde transkripsiyonel olduğu kadar fonksiyonel değişikliklere neden olur. Vaka-kontrollü bir çalışmanın analizi UGT1A1*6 ve UGT1A7*3 varyantlarını taşıyan bireylerde kolorektal kanser gelişmesi riskinin artmış olduğunu açığa çıkarmıştır (74,80). UGT1A3 genlerinin (UGT1A3*2, UGT1A3*3) genetik polimorfizmlerinin analizi hem salınan UGT1A3 proteinin aktivite seviyesinin değiştiğini hem de değişik substratlar için spesifitenin de etkilendiğini göstermiştir (75,80). UGT1A7 gen varyantları üzerine yoğun çalışmalar yapılmıştır. Düşük karsinojen metabolizan aktivitesi ile birlikte, UGT1A7 geni Çinli (OR:3.06) (76), Fransız (OR:3.4) (77), Japon (OR:2.33) (78) ve Korelilerde (OR:1.45) (79) hepatosellüler karsinoma (HCC) gelişmesi için bir risk faktörüdür. Ek olarak, alelik asosiasyon çalışmalarında, UGT1A4*2 ve UGT1A4*3'ün de HCC için risk faktörü olduğu düşünülmüştür (67,80).

UGT1A8*3 (C277Y) ve UGT1A9*3 (M33T) allozimlerinin mikofenolik asit üzerinden katalitik etkinlikleri büyük ölçüde düşmüştür (73). Birçok UGT lokusundan birindeki alel varyasyonu ilaç metabolizması potansiyelinde belirgin biyokimyasal değişimlere yol açabilir. Bu UGT enzimler indirgeyici karsinojenler olarak bilinir; fonksiyon eksikliği, kolorektal kanser gibi bir karsinojenik durumun etyolojisinde önemli bir rol oynar.

Gastrointestinal sistemde UGT1A'nın rolünü daha iyi anlayabilmek için bir çalışma (80) gastrointestinal sistemdeki UGT1A8 üzerine yoğunlaşmıştır. Önceki raporlar ışığında (80,81), UGT1A8'in ekspresyon ve fonksiyonundaki değişikliklerin kolorektal kanser için risk oluşturacağı fark edilmiş ve çalışmada, UGT1A genlerinin polimorfik ekspresyonu çalışılmıştır. Kolorektal kanser hastalarında UGT1A8 genotipini test edilmiş ve UGT1A8 gen polimorfizmi ile kolorektal kanser arasındaki ilişki araştırılmış ve şu sonuçlar elde edilmiştir: Kolorektal kanser hastalarında, çevreleyen sağlıklı dokular ile karşılaştırıldığında patolojik dokularda UGT1A mRNA ekspresyonu belirgin azalmış, kolorektal kanser hastalarından alınan sağlıklı dokuda UGT1A mRNA, normal kontrollerden alınan sağlıklı kolonik dokudakilerden belirgin daha düşük olarak saptanmıştır (80).

Çevre normal mukoza ile karşılaştırıldığında kanseröz dokularda UGT1A1, 1A3, 1A4, 1A6 ve 1A9 mRNA seviyeleri farklı olarak down-regüle saptanmış ($P<0.01$) fakat UGT1A8 ve UGT1A10 mRNA seviyeleri up-regüle olarak bulunmuştur ($P<0.01$) (164). Ek olarak, UGT1A8'in doku-spesifik ekspresyonunun tanımlanmamış regülatuar mekanizmaların evrimsel gelişimin belirteci olabileceğini ve biyolojik temelin kanser riskinde bireysel farklılıkların belirleyicisi olduğu ifade edilmektedir (80).

Başka bir çalışmada (99) UGT1A geni ile meme kanseri arasındaki bağlantı araştırılmış olup, UGT1A10 mRNA ekspresyonu normal spesmenlerle karşılaştırıldığında meme kanserlerinde neredeyse 4 kat daha az olarak bulunmuştur ($p:0.043$). Aynı zamanda çalışılan çoğu normal meme spesmenlerinin, genotoksik 4OEHI'i glukuronize etme kabiliyeti memede UGT yolağının biyolojik ve koruyucu bir rolü olduğunu destekler. Memede UGT1A10 ekspresyonunun bireysel farklılıklar göstermesi ile sonuçlanan moleküler mekanizmaların tanımlanması ile UGT'lerin memeyi östrojenlerin karsinojenik etkilerine karşı koruyucu olduğuna dair yeni bir iç bakış sağlamıştır (99). Küçük örnek sayısı ve UGT1A10 için spesifik antikorun olmayışı gibi bu çalışmanın bazı limitasyonları olsa da, bu çalışma yine de memede UGT1A10 mRNA ekspresyon ve glukuronidasyon aktivitesinin istatistiksel önemini göstermiştir (99).

UGT1A sınıfı, selüler detoksifikasyon ve aromatik aminlerin atılımını düzenleyen UGT ailesini kodlar. Aromatik aminlerin biyoaktivite formları sigara kullananlarda bulunmuştur ve endüstriyel kimyasallar mesane kanseri için temel risk faktörüdür. Yine bir çalışmada (81) UGT1A6 proteini ile kanserojenlerin mesaneden atılmasını arttırarak mesane kanserinden koruyabileceği öne sürülmüştür. Çalışmada mesane kanseri gibi kompleks bir insan hastalığında yaygın olmayan bir koruyucu genetik varyantın genetik ve fonksiyonel rolüne bir örnek gösterilmiştir (81).

Mesane kanseri ailesel kalıtım ve ikiz çalışmalarında genetik faktörlerin etyolojide rolünün olduğu öne sürülmüştür (81). Özellikle, detoksifikasyon sistemindeki değişiklikler çevresel maruziyetlere bireysel yanıtı belirler. Faz II detoksifikasyon genleri NAT2 ve GSTM1'nin mesane kanseri için risk faktörleri olduğu önceden tanımlanmıştır (81). Kromozom 2q37.1 üzerindeki UGT1A gen sınıfının mesane kanseri şüphesi ile ilişkilendirilmesi şaşırtıcı değildir (81).

Bu bulgular insanlarda hücrel detoksifikasyonun birkaç farklı yola ile düzenlendiğini öne sürmektedir ve bu yollardaki farklılıklar mesane kanser riskini etkileyebilir. Endüstriyel kimyasallar ve sigara dumanında bulunan aromatik aminlere maruziyetin artmış mesane kanseri riski ile oldukça ilişkili olduğu bulunmuştur. UGT1A6'in mesane kanserinden korunmayla ilişkili olduğu gösterilmiştir (81). UGT1A6'nın sigara ve kimyasallara maruz kalan mesane epitelinde artmış olması, bunlara maruz kalmayanlarda ise normal seviyede olması, UGT1A6'nın mesane epitelini korumada önemli bir faktör olduğunu göstermiştir (81). Sigara içimi akciğer kanseri ile bağlantılıdır (82) ve sigara içenlerde 60'tan fazla karsinom tanımlanmıştır (83). Bunlardan benzo(a)piren (BaP) ve 4-(Metilnitrozamino)-1-(3-piridil)-1-butanon (NNK) en çok çalışılmış olanlardır. Sitokrom P450 enzimleri tarafından BaP ve NNK'nın aktivasyonu DNA'ya kovalent bağlanabilen daha reaktif metabolitlerin ortaya çıkmasına yol açar, bu akciğer kanseri indüksiyonunun önemli bir basamağıdır (84). UGT'ler birçok endobiyotik ve ksenobiyotiklerin detoksifikasyonundan sorumlu olan bir enzimler ailesinin üyesidir (85). UGT'ler BaP ve NNK detoksifikasyonundan sorumludur (85). Düşük glukuronidasyon aktivitesinin akciğer kanser riskini arttırdığı düşünülmektedir (86). Ek olarak, UGT'lerde genetik polimorfizm akciğer kanseri dahil farklı kanserlerin risk ve insidansı ile ilişkilidir (85,87). Tüm UGT1A izoformlarından akciğer dokusunda üretildiği gösterilen tek UGT1A izoformunun UGT1A6 olduğu gösterilmiştir (88). Yine bir çalışmada (85); bu 5 SNP 100 çin akciğer kanseri hastası ve eşitlenmemiş 100 kontrolde oluşan ikinci kohortta daha ileri araştırılmış. UGT1A6 19T>G 541A>G ve 552A>C artmış akciğer kanseri riski ile ilişkili olmaya devam etmiş ve UGT1A6 105C>T ve IVS1+130G>T de belirgin olarak azalmış akciğer kanseri riski ile ilişkili olmaya devam etmiştir (85). UGT1A6*2 (haplotip 2 ve 6) taşıyan bireylerde akciğer kanseri riskinin artmış olduğu gösterilmiştir (85). Sonuç olarak, bu çalışmada (85) UGT1A6 polimorfizmlerinin akciğer kanser riskini değiştirebileceği kanaatine varılmıştır. UGT1A6 105C>T'nin mRNA stabilitesini arttırdığı, bu şekilde akciğer kanseri riskini nasıl azalttığı gösterilmiştir. UGT1A6 genotiplemesinin şüpheli popülasyonlarda akciğer kanseri tarama stratejisini tamamlayabileceği öne sürülmüştür (85).

Stücker ve ark. (89) UGT1A7 polimorfizminin HCC riskini arttırıp arttırmadığını, HCC'ler sirotik karaciğer zemininde geliştiği için, bu polimorfizmlerin sirozdan karsinomaya transformasyon için risk faktörleri olup olmadığını araştırmışlardır. Viral zeminli karaciğer karsinogenezin detoksifikasyonunun UGT1A7 seviyesinden etkilendiği fakat alkolik zeminli karaciğer karsinogenezin etkilenmediği bulunmuştur (89). UGT1A7 polimorfizmleri kolon, pankreas, ağız ve larinks kanserleri gibi diğer kanser riskleriyle ilişkili gibi görünmüştür (89), ancak bu kanserlerden hiçbirinin bilinen bir viral zemini olmadığından daha ileri çalışmalar yapılmalıdır.

Epidemiyolojik çalışmalarda pankreasın hem inflamasyon hem de kanserinin çevresel ve yaşam tarzı ile ilişkili toksin maruziyeti kadar tam açıklanmamış genetik predispozisyon ile ilişkili olduğu işaret edilse de, pankreatik hastalıkların nedeni netliğe kavuşturulamamıştır. Tütün tüketimi pankreatik kanser için bir risk faktörü olarak tanımlanmıştır, aynı zamanda pankreatik kanser kimyasal (90), petrokimyasal ve kauçuk endüstrisinde çalışan işçilerde daha yüksek insidans göstermektedir (91). Mevcut kanıtlara göre, oksidatif hücresel hasar pankreatik inflamasyonu arttıran önemli bir mekanizmadır ve genotoksikite ve kansere sebep olabilir (92). Oksidatif hasarın modülasyonuna yol açan genetik bir predispozisyon aynı zamanda pankreatik hastalıkların gelişimini etkileyebilen dikkat çekici bir mekanizmadır (92). UGT'ler hücrel savunma ve detoksifikasyonunun major biyokimyasal faktörleri olduğu düşünülen bir protein süper ailesidir. Bu, yalnızca diyetle alınan ürünler ve bilirubinler gibi endojen metabolitleri değil, aynı zamanda birçok terapötik ilaçlar, insan mutajenleri olarak bilinen heterosiklik ve polisiklik hidrokarbonlar, ve heterojenik aminleri de glikuronize etme yeteneklerindendir (93). UGT1A7 gen ürününün klonlanması ve karakterizasyonu ile sigara dumanı karsinojenleri gibi bilinen karsinojenlerin glikuronidasyonu gösterilmiştir. UGT1A7 geninin, 3 polimorfik UGT1A7 alelini (UGT1A7*2, UGT1A7*3, UGT1A7*4) tanımlayan 5 tek nükleotid polimorfizmi gösterilmiştir (43). UGT1A7*3 kodlanan proteinin katalitik aktivitesini büyük ölçüde azalttığı (43,72) karaciğer (94) ve kolon (43) kanseri ile ilişkisi bulunmuştur. Bütün bunlar düşünüldüğünde, UGT1A7, genetik polimorfizmlerinin pankreas hastalıkları ile ilişkisi açısından önemli bir gen olduğu düşünülmüştür, çünkü fonksiyonel özelliklerinin değişikliği ile oksidatif hasarın ve aynı zamanda kronik inflamasyon ve kanser başlangıcı riskini etkiler (95).

Bu, insan pankreası inflamasyonu ve karsinogenezi için risk faktörü olabilir. UGT1A7'nin gen ekspresyonu insan pankreasında predominant xenobiyotik metabolize edici UGT olduğu tanımlanmıştır.

Ockenga ve ark. (96) normal pankreatik dokuda ve kanserli dokuda yüksek seviyelerde UGT1A7 mRNA transkripti olduğunu tespit etmişlerdir (96). Pankreatik dokudaki bu yüksek derecede selektif insan UGT1A7 ekspresyon paterni, bunun hücrel korunmada rolü olduğunu desteklemektedir. Normal pankreatik dokuda düşük seviyelerde UGT1A3, UGT1A4, pankreatik adenokarsinomda UGT1A7 ve UGT1A4 mRNA'ları tespit edilmiştir (96). Pankreatik UGT ekspresyonu şimdiye kadar tanımlanan gastrointestinal ekspresyonun tam tersidir (96). Pankreatik adenokarsinomda, hastalıkla ilişkili olarak UGT1A7*3 gen aleli tespit edilmiştir. Düşük mutajen detoksifikasyon yeteneği olan UGT1A7*3 aleli pankreas kanseri için risk faktörü olarak tanımlanmıştır (96). Bu sonuçlar UGT1A7*3 aleli ile hepatosellüler karsinoma (94), oral kanser (96), ve kolorektal kanser (43) arasında ilişki olduğunu söyleyen erken bir bulguyu doğrular ve UGT1A7*3'un gastrointestinal kanserler için genel bir predispozan faktör olduğunu öngörmektedir.

Piepoli ve ark. (97) UGT1A7 ve UGT1A9 gen polimorfizmlerinin genetik dağılımında normal doku ile pankreas kanserli doku arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulmuşlardır. Ayrıca Japonya'da bir çalışmada (97); UGT1A9 genetik polimorfizminin de pankreas kanserli doku ile normal dokularda benzer olduğu saptanmıştır. Yukarıda örneklediğimiz çalışmalardan da anlaşıldığı üzere UGT1A gen ailesindeki azalmış detoksifikasyon aktivitesinin kansere yatkınlık oluşturduğundan bahsetmiştik. Bizim çalışmamızda UGT1A10 gen ekspresyonunun tümörlü dokuda minimal oranda arttığı bulundu fakat detoksifikasyonun azalmasından dolayı gen ekspresyonunun arttığı ayrı bir tartışma konusudur. Bu çalışmada meme kanserinde UGT1A10 gen ekspresyon düzeylerini doğrudan doğruya tümör dokusunda ve sağlıklı meme dokusunda araştırdık. Başka bir çalışmada (8) UGT1A geni ile meme kanseri arasındaki bağlantı araştırılmış olup, UGT1A10 mRNA ekspresyonu normal spesmenlerle karşılaştırıldığında meme kanserlerinde neredeyse 4 kat daha az olarak bulunmuş ancak bizim araştırmamızın sonucunda meme kanserli dokunun kendisi ile normal meme dokusundaki UGT1A10 gen ifade düzeyleri arasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Meme kanserli hastalarda, erken evrelerle ileri evreler arasında 5 yıllık sağkalım oranlarında %93 ten %15 egerileyen düşüşler mevcuttur. Sağkalım oranlarındaki bu dramatik değişiklikten dolayı moleküler temellerin netleşmesi ile erken tanının daha kolay konabilmesi önemlidir. Bu açıdan moleküler çalışmalara ağırlık verilmelidir.

Bu çalışmamızda 43 meme kanserli hastanın normal ve tümörlü dokularından UGT1A10 gen ekspresyon çalışması yapılmıştır. UGT1A10 gen ekspresyonunun normal dokudaki $2-\Delta Ct$ değeri ile tümörlü dokudaki $2-\Delta Ct$ değerleri karşılaştırıldı. Elde edilen sonuçlara göre UGT1A10'un ekspresyonunun tümörlü dokuda normal dokuya göre minimal daha fazla olduğu görüldü. Ancak tümörlü dokudaki UGT1A10 gen ekspresyonundaki bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

Çalışmamızda tümörlü dokularda normal dokulara göre UGT 1A 10 düzeylerinde minimalde olsa artış görülmesine rağmen daha önce yapılan meme ve meme dışı diğer organ çalışmalarında UGT1A gen ailesi ekspresyonunun genellikle kanserli dokularda azalmış olduğu bulunmuştur. Bu nedenle; Diğer kanser türlerinde olduğu gibi meme kanserlerinde de ekspresyon çalışmalarının sayısının artırılması ve UGT1A gen ailesinin polimorfizm çalışmalarıyla desteklenmesi önerilmektedir.

7. KAYNAKLAR

- 1.Gürtunç E. Meme Kanserli Hastalarda CYP19 Geni Kodon 39 Trp/Arg Polimorfizminin ve Genotip Dağılımının Araştırılması. 2007.
- 2.Yıldız Y. Meme Kanserli Hastalarda TNF ile İlişkili Apoptoz Uyarıcı Ligand ve Bcl-2 ile İlişkili X-Protein Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması. 2008.
- 3.Spratt JS, Tabin GR. Gross anatomy of the breast. In: Donegan WL, Spratt JS,eds.Cancer of the breast, 4th edition. Philedelphia. London: W.B.Saunders, 1995:22-42.
- 4.Cooper sir AP. The anatomy and disease of the breast. Philedelphia: Lea and Blanchard, 1999:1845.
- 5.Anson BJ, Wright RR:Blood supplly of the mammary gland. Surg Gynec Obst. 1993;69;468.
- 6.Batson OV. The role of the vertebral veins in metastatic process of the breast cancer. Ann Int Med. 1942:16-38.
- 7.Miller MR, Kasahara M. Cutaneous innervation of the human breasts. Anat Rec. 1959;135:153-67.
- 8.Halsell JT, et al. Lymphatic drainage of the breast demonstrated by vital dye staining and radiography. Ann Surg. 1963;162:221-6.
- 9.Rouviere H. Anatomic des lymphatiques de l'hamme. Paris: Mason, 1932:16-22.
- 10.Kirby IB, Coppeland EM. Breast. In: Seymour IS, Shires GT, Spencer FC, Husser WC. Principles of surgery, vol 1, 6th edition. New York: Mc Graw Hill, 1994:531-93.

- 11.Kirby IB, Coppeland EM. Breast. Physiologic considerations in normal, benign and neoplastic states. In: Thomas AM, CoEd. Brian JR. Physiologic basis of modern surgical care. USA: Mosby, 1998:1019-56.
- 12.Brunicardi FC, Andersen DK, Billiar TR, Dunn DL, Hunter JG, Matthews JB, Schwartz's Principles of Surgery, 9th Edition chapter 2009:17:550-600.
- 13.Rosenbloom AL. Breast physiology: Normal and abnormal development and function. In: Kirby IB, Coppeland EM. The breast.Comprehensive management of benign and malignant disease, Vol 1, second edition. USA: W.B.Saunders,1988:1;38-50.
- 14.Romrell LJ,Bland KI:Anatomy of the breast,axilla,chest wall,and related metastatic sites in Bland KI,Copeland EM III (eds) : The breast : Comprehensive Management of Benign Malignant Diseases.Philadelphia:WB Saunders,1998,p19.
- 15.Arslan S.,2011.Meme Kanseri Hücrelerinde Rock I ve Rock II Gen İfade Düzeylerinin Belirlenmesi.
- 16.Fackenthal J, Marsh DJ, Richardson AL, Cummings SA, Eng C, Robinson BG, et al. Male breast cancer in Cowden syndrome patients with germline PTEN mutations. J Med Genet. 2001;38:159-64.
- 17.Ekbom A, Hsieh CC, Lipworth L, Adami HQ, Trichopoulos D. Intrauterine environment and breast cancer risk in women: a population-based study. J Natl Cancer Inst. 1997;89:71-6.
- 18.Melbye M, Wohlfahrt J, Olsen JH, Frisch M, Westergaard T, Helweg-Larsen K, et al. Induced abortion and the risk of breast cancer. N Engl J Med. 1997;336:81-5.

- 19.Grabrick DM, Hartmann LC, Cerhan JR, Vierkant RA, Therneau TM, Vachon CM, et al. Risk of breast cancer with oral contraceptive use in women with a family history of breast cancer. *JAMA*. 2000;284:1791-8.
- 20.Singletary KW, Gapstur SM. Alcohol and breast cancer: review of epidemiologic and experimental evidence and potential mechanisms. *JAMA*. 2001;286:2143-51.
- 21.Hankinson SE, Willett WC, Colditz GA, Hunter DJ, Michaud DS, Deroo B, et al. Circulating concentrations of insulinlike growth factor-I and risk of breast cancer. *Lancet*. 1998;351:1393-6.
- 22.Thune I, Furberg AS. Physical activity and cancer risk: dose-response and cancer, all sites and site-specific. *Med Sci Sports Exerc* 2001; 33(6 Suppl), S530-50, discussion S609-10.
- 23.Evans JS, Wennberg JE, McNeil BJ. The influence of diagnostic radiography on the incidence of breast cancer and leukemia. *N Engl J Med*. 1986;315:810-5.
- 24.Bhatia S, Yasui Y, Robison LL, Birch JM, Bogue MK, Diller L, et al. High risk of subsequent neoplasms continues with extended follow-up of childhood Hodgkin's disease: report from the Late Effects Study Group. *J Clin Oncol*. 2003;21:4386-94.
- 25.Boyd NF, Dite GS, Stone J, Gunasekara A, English DR, McCredie MR, et al. Heritability of mammographic density, a risk factor for breast cancer. *N Engl J Med*. 2002;347:886-94.
- 26.Page DL, Salhany KE, Jensen RA, Dupont WD. Subsequent breast carcinoma risk after biopsy with atypia in a breast papilloma. *Cancer*. 1996;78:258-66.
- 27.Weiss MC, Fowble BL, Solin LJ. Outcome of conservative therapy for invasive breast cancer by histologic subtype. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1992;23:941-7.

- 28.Henderson IC, Patek AJ. The relationship between prognostic and predictive factors in the management of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 1998;52:261-88.
- 29.Kathleen Aertgeerts, Robert Skene, Jason Yano, Bi-Ching Sang, Hua Zou, Gyorgy Snell, Andy Jennings, Keiji Iwamoto, Noriyuki Habuka, Aki Hirokawa, Tomoyasu Ishikawa, Toshimasa Tanaka, Hiroshi Miki, Yoshikazu Ohta, and Satoshi Sogabe. Structural analysis the mechanism of the inhibition and allosteric activation of the kinase domain of HER 2. March 2011. San Diego.
- 30.Caroline J Witton. Structure of HER receptors and intracellular localisation of downstream effector elements gives insight into mechanism of tumour growth promotion. *Breast Cancer Res.* 2003;5:206-207.
- 31.Yukio NISHIMURA, Kazuyuki ITOH,Kiyoko YOSHIOKA, Kazuo TOKUDAI, Masaru HIMENO. Overexpression of ROCK in Human Breast Cancer CellsEvidence that ROCK Activity Mediates Intracellular Membrane Traffic of Lysosomes. 2003;4:3-2.
- 32.Takeshi Matsui, Mutsuki Amano, Takaharu Yamamoto, Kazuyasu Chihara, Masato Nakafuku et al. Rho-associated kinase, a novel serine/threonine kinase, as a putative target for the small GTP binding protein Rho. 1996;41:213-54.
- 33.Slamon DJ, Clark GM, Wong SG. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science.* 1987;235:177-82.
- 34.Yamauchi H, Stearns V, Hayes DF. When is a tumor marker ready for prime time? A case study of c-erbB-2 as a predictive factor in breast cancer. *J Clin Oncol.* 2001;19:2334-56.
- 35.Ravdin PM. Is Her2 of value in identifying patients who particularly benefit from anthracyclines during adjuvanttherapy? A qualified yes. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2001;(30):80-4.23.

36. Demascarel I, Bonichon F, Durand M, Mauriac L, MacGrogan G, Soubeyran I, et al. Obvious peritumoral emboli: an elusive prognostic factor reappraised. *Eur J Cancer*. 1998;34:58-65.
37. Clark GM. Interpreting and integrating risk factors for patients with primary breast cancer. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2001;30:17-21.
38. Bryant J, Fisher B, Gündüz N, Costantion JP, Emir B. S-phase fraction combined with other patient and tumor characteristics for the prognosis of node-negative, estrogen-receptor-positive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 1998;51:239-53.
39. Clark GM, Dressler LG, Owens MA, Pounds G, Oldaker T, McGuire WL. Prediction of relapse or survival in patients with node-negative breast cancer by DNA flow cytometry. *N Engl J Med*. 1989;320:627-33.
40. Look MP, van Putten WL, Duffy MJ, Harbeck N, Christensen IJ, Thomssen C, et al. Pooled analysis of prognostic impact of urokinase-type plasminogen activator and its inhibitor PAI-1 in 8377 breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst*. 2002;94:116-28.
41. Harbeck N, Look MP, Meijer-Van Gelder ME, Klijn JG, Krüger A, Kiechle M, et al. Enhanced benefit from adjuvant chemotherapy in breast cancer patients classified high-risk according to urokinase-type plasminogen activator (uPA) and plasminogen activator inhibitor type 1 (n = 3424). *Cancer Res*. 2002;62:4617-22.
42. Keyomarsi K, Tucker SL, Buchholz TA, Callister M, Ding Y, Hortobagyi GN, et al. Cyclin E and survival in patients with breast cancer. *N Engl J Med*. 2002;347:1566-75.
43. C P Strassburg, A Vogel, S Kneip, R H Tukey, M P Manns; Polymorphisms of the human UDPglucuronosyltransferase (UGT) 1A7 gene in colorectal cancer, *Gut* 2002;50:851–856.

44. I Stücker, MA Lorient, G N'Koutchou, S Cénée, L Bodin, C Mulot, M Gelu-Simeon, L Pelletier, JP Bronowicki, F Degos, P Beaune, P Laurent-Puig, D Hémon, JC Trinchet and G Pelletier; UDP-glucuronosyltransferase UGT1A7 genetic polymorphisms in hepatocellular carcinoma: a differential impact according to seropositivity of HBV or HCV markers? *BMC Cancer* 2007, 7: 214 doi: 10.1186/1471-2407-7-214.
45. Athena Starlard-Davenport, Beverly Lyn-Cook, and Anna Radominska-Pandya; Identification Of UDP-Glucuronosyltransferase 1A10 in non-malignant and malignant human breast tissues, *Steroids*. 2008;73(6):611–620.
46. Dutton, GJ. *Glucuronidation of Drugs and Other Compounds*. Boca Raton, FL: CRC Press Inc; 1980.
47. Bock KW, Lilienblum W, Fischer G, et al. The role of conjugation reactions in detoxication. *Arch Toxicol*. 1987;60(1-3):22-29.
48. Mojarrabi B, Mackenzie PI. Characterization of two UDP glucuronosyltransferases that are predominantly expressed in human colon. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;247(3):704–709.
49. Cavalieri EL, Stack DE, Devanesan PD, et al. Molecular origin of cancer: catechol estrogen-3,4-quinones as endogenous tumor initiators. *Proc Natl Acad Sci*. 1997;94(20):10937–10942.
50. Harding D, Jeremiah SJ, Povey S, Burchell B. Chromosomal mapping of a human phenol UDPglucuronosyltransferase, GNT1. *Ann Hum Genet*. 1990;54(1):17–21.
51. Tukey RH, Strassburg CP. Human UDP-glucuronosyltransferases: metabolism, expression, and disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2000;40:581–616.

52. Strassburg CP, Manns MP, Tukey RH. Expression of the UDP-glucuronosyltransferase 1A locus in human colon. Identification and characterization of the novel extrahepatic UGT1A8. *J Biol Chem* 1998; 273: 8719–26.
53. Strassburg CP, Kneip S, Topp J, et al. Polymorphic gene expression and interindividual variation of UDP-glucuronosyltransferase activity in human small intestine. *J Biol Chem* 2000;275:36164–71.
54. Strassburg CP, Nguyen N, Manns MP, Tukey RH. Polymorphic expression of the UDPglucuronosyltransferase UGT1A gene locus in human gastric epithelium. *Mol Pharmacol.* 1998;54(4):647–654.
55. Strassburg CP, Nguyen N, Manns MP, et al. Polymorphic expression of the UDP-glucuronosyltransferase UGT1A gene locus in human gastric epithelium. *Mol Pharmacol.* 1998;54:647–54.
56. Strassburg CP, Nguyen N, Manns MP. UDP-glucuronosyltransferase activity in human liver and colon. *Gastroenterology.* 1999;116:149–60.
57. Strassburg CP, Manns MP, Tukey RH. Differential down-regulation of the UDP-glucuronosyltransferase 1A locus is an early event in human liver and biliary cancer. *Cancer Res.* 1997;57:2979–85
58. Ferlay J, Autier P, Boniol M, Heanue M, Colombet M, Boyle P. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Ann Oncol.* 2007;18:581-92.
59. Elghazi L, Weiss A.J, Barker D.J, Callaghan J, Staloch L, Sandgren EP, et al. Regulation of pancreas plasticity and malignant transformation by akt signaling. *Gastroenterology* 2009;136(3):1091-1103.

- 60.Liu M, Wang Q, Liu F, Cheng X, Wu X, et al. UDP-Glucuronosyltransferase 1A Compromises Intracellular Accumulation and Anti-Cancer Effect of Tanshinone IIA in Human Colon Cancer Cells. *Plos One*, 2013;8(11):72-79. doi:10.1371/journal.pone.0079172.
- 61.145 Tang Y, LeMaster DM, Nauwelaers G, Gu D, Langouet S, et al. UDPglucuronosyltransferase- mediated metabolic activation of the tobacco carcinogen 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole. *J Biol Chem*, 2012;287:14960–14972.
- 62.Desai AA, Innocenti F, Ratain MJ UGT pharmacogenomics: implications for cancer risk and cancer therapeutics. *Pharmacogenetics*, 2003;13:517–523.
- 63.Cummings J Glucuronidation as a Mechanism of Intrinsic Drug Resistance in Human Colon Cancer: Reversal of Resistance by Food Additives. *Cancer Res*, 2003;63:8443–8450.
- 64.Lu Q, Zhang P, Zhang X, Chen J Experimental study of the anti-cancer mechanism of tanshinone IIA against human breast cancer. *Int J Mol Med*, 2009;24:773–780.
- 65.Hao H, Wang G, Cui N, Li J, Xie L, et al. Identification of a novel intestinal first pass metabolic pathway: NQO1 mediated quinone reduction and subsequent glucuronidation. *Curr Drug Metab*, 2007;8:137–149.
- 66.Maitland ML, Grimsley C, Kuttub-Boulos H, Witonsky D, Kasza KE, et al. Comparative genomics analysis of human sequence variation in the UGT1A gene cluster. *Pharmacogenomics J*, 2006;6:52–62.
- 67.Sai K, Seaki M, Saito Y, Katori N, Jinno H, et al. UGT1A1 haplotypes associated with reduced glucuronidation and increased serum bilirubin in irinotecan-administered Japanese patients with cancer. *Clin Pharmacol Ther*, 2004;75:501–515.

- 68.Caillier B, Lepine J, Tojcic J, Menard V, Perusse L, et al. A pharmacogenomics study of the human estrogen glucuronosyltransferase UGT1A3. *Pharmacogenet Genomics*, 2007;17:481–495.
- 69.Ehmer U, Vogel A, Schutte JK, Krone B, Manns MP, et al. Variation of hepatic glucuronidation: Novel functional polymorphisms of the UDPglucuronosyltransferase UGT1A4. *Hepatology*, 2004;39:970–977.
- 70.Lampe JW, Bigler J, Horner NK, Potter JD UDP-glucuronosyltransferase (UGT1A1*28 and UGT1A6*2) polymorphisms in Caucasians and Asians: relationships to serum bilirubin concentrations. *Pharmacogenetics*, 1999;9:341–349.
- 71.Guillemette C, Ritter JK, Auyeung DJ, Kessler FK, Housman DE Structural heterogeneity at the UDP-glucuronosyltransferase 1 locus: functional consequences of three novel missense mutations in the human UGT1A7 gene. *Pharmacogenetics*, 2000;10:629–644.
- 72.Mojarrabi B, Mackenzie PI Characterization of two UDP glucuronosyltransferases that are predominantly expressed in human colon. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998; 247:704–709.
- 73.Tang KS, Chiu HF, Chen HH, Eng HL, Tsai CJ, et al. Link between colorectal cancer and polymorphisms in the uridine-diphosphoglucuronosyltransferase 1A7 and 1A1 genes. *World J Gastroenterol*, 2005;11:3250–3254.
- 74.Iwai M, Maruo Y, Ito M, Yamamoto K, Sato H, et al. Six novel UDPglucuronosyltransferase (UGT1A3) polymorphisms with varying activity. *J Hum Genet*, 2004;49:123–128.
- 75.Tseng CS, Tang KS, Lo HW, Ker CG, Teng HC, et al. UDPglucuronosyltransferase 1A7 genetic polymorphisms are associated with hepatocellular carcinoma risk and onset age. *Am J Gastroenterol*, 2005;100:1758–1763.

76. Stucker I, Lloriot MA, N'kotchou G, Cenee S, Bodin L, et al. UDP glucuronosyltransferase UGT1A7 genetic polymorphisms in hepatocellular carcinoma: a differential impact according to seropositivity of HBV or HCV markers? *BMC Cancer*, 2007;7:214.
77. Wang Y, Kato N, Hoshida Y, Otsuka M, Taniguchi H, et al. UDPglucuronosyltransferase 1A7 genetic polymorphisms are associated with hepatocellular carcinoma in Japanese patients with hepatitis C virus infection. *Clin Cancer Res*, 2004;10:2441–2446.
78. Kong SY, Ki CS, Yoo BC, Kim JW. UGT1A7 haplotype is associated with an increased risk of hepatocellular carcinoma in hepatitis B carriers. *Cancer Sci*, 2008;99:340–344.
79. Wang M, Sun D-F, Wang S, Qing Y, Chen S, et al. Polymorphic Expression of UDP-Glucuronosyltransferase UGT1A Gene in Human Colorectal Cancer. *PLoS ONE*, 2013;8(2):e57045. doi:10.1371.
80. Min Wang, Yanqing Li, Defeng Sun, Zhimin Wang, Xiaoqun Xu, et al. Polymorphic expression of UDP-glucuronosyltransferase UGT1A gene locus in human colorectal epithelium. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2005;21(7):1315–1320.
81. Wei Tang, Yi-Ping Fu, Jonine D. Figueroa, Nuria Malats, Montserrat Garcia-Closas; Mapping of the UGT1A locus identifies an uncommon coding variant that affects mRNA expression and protects from bladder cancer; *Human Molecular Genetics*, 2012;21(8):130-138. doi: 10.1093/hmg/ddr619.
82. Auerbach O, Forman JB, Gere JB, Kassouny DY, Muehsam GE, et al. Changes in the bronchial epithelium in relation to smoking and cancer of the lung; a report of progress. *N Engl J Med*, 1957;256:97–104.

- 83.Hoffmann D, Adams JD, Lisk D, Fisenne I, Brunnemann KD Toxic and carcinogenic agents in dry and moist snuff. *J Natl Cancer Inst*, 1987;79:1281–1286.
- 84.Denissenko MF, Pao A, Tang M, Pfeifer GP Preferential formation of benzo[a]pyrene adducts at lung cancer mutational hotspots in P53. *Science*. 1996;274:430-432.
- 85.Kua L-F, Ross S, Lee S-C, Mimura K, Kono K, et al. UGT1A6 Polymorphisms Modulated Lung Cancer Risk in a Chinese Population. *Plos one*, 2012;7(8):e42873. doi:10.1371/journal.pone. 0042873.
- 86.Richie JP Jr, Carmella SG, Muscat JE, Scott DG, Akerkar SA, et al. Differences in the urinary metabolites of the tobacco-specific lung carcinogen 4- (methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone in black and white smokers. *Cancer Epidemiol Biomarkers*. 2011;6:783–790.
- 87.Araki J, Kobayashi Y, Iwasa M, Urawa N, Gabazza EC, et al. Polymorphism of UDP-glucuronosyltransferase 1A7 gene: a possible new risk factor for lung cancer. *Eur J Cancer*, 2005;41:2360–2365.
- 88.Zhang W, Liu W, Innocenti F, Ratain MJ Searching for tissue-specific expression pattern-linked nucleotides of UGT1A isoforms. *PLoS One*. 2007;2:396.
- 89.I Stücker, MA Lorient, G N'Koutchou, S Cénée, L Bodin, CMulot, M Gelu-Simeon, L Pelletier, JP Bronowicki, F Degos, P Beaune, P Laurent-Puig, D Hémon, JC Trinchet and G Pelletier; UDP-glucuronosyltransferase UGT1A7 genetic polymorphisms in hepatocellular carcinoma: a differential impact according to seropositivity of HBV or HCV markers?; *BMC Cancer*, 2007; 7:214.
- 90.Lowenfels AB, Maisonneuve P, Whitcomb DC, Lerch MM, Di-Magno EP. Cigarette smoking as a risk factor for pancreatic cancer in patients with hereditary pancreatitis. *JAMA*, 2001;286:169–170.

- 91.DiMagno EP, Reber HA, Tempero MA. AGA technical review on the epidemiology, diagnosis, and treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Gastroenterology*, 1999;117:1464–1484.
- 92.Braganza JM. Towards a novel treatment strategy for acute pancreatitis. 1. Reappraisal of the evidence on aetiology. *Digestion*, 2001;63:69–91.
- 93.Strassburg CP, Barut A, Obermayer-Straub P, Li Q, Nguyen N, Tukey RH, Manns MP. Identification of cyclosporine A and tacrolimus glucuronidation in human liver and the extrahepatic gastrointestinal tract by a differentially expressed UDP-glucuronosyltransferase: UGT2B7. *J Hepatol*, 2001;34:865–872.
- 94.Vogel A, Kneip S, Barut S, Ehmer U, Tukey RH, Manns MP, Strassburg CP. Genetic link of hepatocellular carcinoma with polymorphisms of the UDP-glucuronosyltransferase UGT1A7 gene. *Gastroenterology*, 2001;121:1136–1144.
- 95.Tukey RH, Strassburg CP. Genetic multiplicity of the human UDPglucuronosyltransferases and regulation in the gastrointestinal tract. *Mol Pharmacol*, 2001; 59: 405–414.
- 96.Johann Ockenga, Arndt Vogel,* Niels Teich, Volker Keim, Micheal P. Manns, and Christian P. Strassburg; UDP Glucuronosyltransferase (UGT1A7) Gene Polymorphisms Increase the Risk of Chronic Pancreatitis and Pancreatic Cancer. *Gastroenterology*, 2003;124:1802–1808.
- 97.Ada Piepoli, Annamaria Gentile, Maria Rosa Valvano, Daniela Barana, Cristina Oliani, Rosa Cotugno, Michele Quitadamo, Angelo Andriulli, Francesco Perri; Lack of association between UGT1A7, UGT1A9, ARP, SPINK1 and CFTR gene polymorphisms and pancreatic cancer in Italian patients. *World J Gastroenterol*. 2006;12(39):6343-6348.

98.Yılmaz L, 2014. Pankreas Kanseri ile UGT1A3 ve UGT1A7 Gen Ekspresyonları Arasındaki İlişkinin Araştırılması. S:12-19. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Uzmanlık Tezi.

99.Athena Starlard-Davenport, Beverly Lyn-Cook, and Anna Radomska-Pandya; Identification Of UDP-Glucuronosyltransferase 1A10 in non-malignant and malignant human breast tissues, Steroids. 2008;73(6):611–620.