



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

MEME KANSERLERİNDE ERKEN TANI TEDAVİ AKSİLLER
METASTAZ VE PROGNOZDA LNCRNA VE MIRNA ROLÜ

UZMANLIK TEZİ
DR. TAHA YASİN BARAN

DANIŞMAN
DOÇ.DR. SEVDA YILMAZ
DENİZLİ – 2023

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

MEME KANSERLERİNDE ERKEN TANI TEDAVİ AKSİLLER
METASTAZ VE PROGNOZDA LNCRNA VE MIRNA ROLÜ

UZMANLIK TEZİ
DR. TAHA YASİN BARAN

DANIŞMAN
DOÇ.DR. SEVDA YILMAZ
DENİZLİ – 2023

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 28-04-2021 tarih ve 2021TIPF011 nolu kararı ile desteklenmiştir

TEŞEKKÜR

Genel Cerrahi uzmanlık tezi çalışmamda katkılarından dolayı başta tez danışmanım Doç. Dr. Sevdâ YILMAZ'a, tecrübeleri ve desteğinden ötürü Prof. Dr. Ergün Erdem'e, tıbbi biyoloji laboratuvar, istatistik işlemleri ve türlü desteklerinden dolayı Araş. Gör. Dr. Ayşen Buket Er Urgancı'ya, Tıbbi Biyoloji bilim dalındaki çalışmalarımıza desteğinden dolayı Doç. Dr. Selda Şimşek'e, histopatolojik incelemelerinden dolayı Doç. Dr. Yeliz Arman Karakaya'ya teşekkür ederim.

Hasta toplama, veri toplama aşamalarında yardımlarından dolayı Özlem Karaca, Mesut İnanċ Tuyji ye çok teşekkür ederim.

Ayrıca Genel Cerrahide 5 yıllık uzmanlık hayatım boyunca bilgilerinden ve tecrübelerinden faydalandığım Genel Cerrahi Anabilim Dalı hocalarıma, yardımlarını desteklerini esirgemeyen başta Uzm. Dr. Mesut Eker, Araş. Gör. Dr. Ezgi Doğa Yoran, Araş. Gör. Dr. Samet Demirci olmak üzere asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Ayrıca uzmanlık hayatım boyunca yanımda olan her zaman desteğini hissettiğim eşim, hayat arkadaşım Sevinç Baran'a teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca maddi manevi desteklerini esirgemeyen babam Ahmet Baran, annem Nebahat Baran, ağabeyim Mehmet Baran, kardeşim Ömer Faruk Baran'a teşekkür ve minnetlerimi borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

KAPAK SAYFASI.....	I
KAPAK SAYFASI.....	II
ONAY SAYFASI.....	III
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
SİMGELER VE KISALTMALAR	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
TABLolar DİZİNİ	VII
ÖZET.....	VIII
İNGİLİZCE ÖZET	XIII
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER.....	3
I- MEME EMBRİYOLOJİSİ VE ANATOMİSİ.....	3
1- Meme Embriyolojisi.....	3
2- Meme Anatomisi.....	4
II- MEME FİZYOLOJİSİ.....	5
III- MEMENİN BENİGN HASTALIKLARI.....	6
1- Memenin Non Proliferatif Hastalıkları.....	6
2- Memenin Proliferatif Hastalıkları	7
IV- MEME KANSERİ.....	8
1- Meme Kanseri Epidemiyolojisi, risk faktörleri ve tarihçesi.....	8
2- Meme Kanserinde Erken Tanı ve Tarama.....	10
3- Meme Kanserinin Moleküler Sınıflandırılması.....	12
4- Meme Kanserinin Histolojik Sınıflandırılması.....	14
5- Meme Kanseri Evreleme.....	17
6- Meme Kanseri Tedavisi.....	20
V- MİKORNA VE LONG-NON CODİNG RNALAR.....	22
1- MikroRNalar.....	25
2- Long Non Coding RNalar(IncRNA).....	25
GEREÇ VE YÖNTEM.....	26
I- SERUM miRNA İZOLASYONU.....	26
II- cDNA SENTEZİ.....	27
III- İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	28
BULGULAR.....	29
I- HASTALARIN ÖZELLİKLERİ	29
1- Hastaların Sosyodemografik özellikleri.....	29
2- Hastaların İmmunohistopatolojik Özellikleri.....	31
II- EKSPRESYON ANALİZLERİ.....	33

III- HASTA DEĞİŞKENLERİNİN VE EKSPRESYON ANALİZLERİNİN KORELASYONLARI.....	37
---	-----------

TARTIŞMA.....	38
SONUÇ.....	50

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADH: Atipik duktal hiperplazi
AJCC: American Joint Committee on Cancer
ALND: Aksiller Lenf Nodu Disseksiyonu
ALH: Atipik lobüler hiperplazi
BI-RADS: Breast Imaging Reporting and Data Systems
BCL-2: B-cell lymphoma 2
BLACAT-1: Bladder cancer associated transcript 1
BRCA: Breast cancer gen
CCR-2: C-C kemokin reseptörü tip 2
DCIS: Duktal karsinoma in situ
DM: Dijital Mamografi
DMT: Dijital Tomosentez
DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü
ER: Östrojen reseptörü
FISH: Floresan In Situ Hibridizasyon
GLOBOCAN: Küresel Kanser Gözlem Verisi
HER-2: İnsan epidermal büyüme faktörü 2
HR: Hormon Reseptörü
HRT: Hormon replasman tedavisi
IDK: invaziv duktal karsinoma
IIAB: İnce İğne Aspirasyon Biyopsisi
İK: İnflamatuvar Karsinom
ILK: invaziv lobüler karsinoma
KİB: Kalın İğne Biyopsisi
LKIS: Lobüler karsinoma in situ
LncRNA: Long-Non coding RNA
MG: Mammografi
MiRNA/miR: MikroRNA

MKC: Meme Koruyucu Cerrahi
MRG: manyetik rezonans görüntüleme
MRM: Modifiye Radikal Mastektomi
NCCN: National Comprehensive Cancer Network
PAS: Periyodik Asitle reaktif Schiff
PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PET: Pozitron Emisyon Tomografisi
PirimiRNA: Primer Transkript Mikro Ribonucleic acid
PiRNA: Piwi interacting Ribonucleic acid
PR: Progesteron reseptörü
RR: Rölatif risk
RNA: Ribonucleic Acid
RT: Radyoterapi
RT-PCR: Reverse transkriptaz/polimeraz zincir reaksiyonu
SiRNA: Small İnterfering Ribonucleic acid
SLNB: Sentinel Lenf Nodu Biyopsisi
TF: Transkripsiyon Faktörü
US: Ultrason
WHO: World Health Organization
VYB: Vakum Yardımlı Biyopsi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Normal meme embriyolojik gelişimi Jesinger et al. Breast anatomy for the interventionalist 'den alınmıştır.	3
Şekil 2. Kadınlarda süt hatları	4
Şekil 3. Aksiller lenf nodu grupları	5
Şekil 4. Türkiye’de Meme kanseri ve diğer kanserlerin verileri GLOBOCAN’dan alınmıştır.....	8

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. BI-RADS(Breast Imaging Reporting and Data Systems) sınıflaması.....	6
Tablo 2. Benign Meme Hastalıkları Sınıflandırması.....	7
Tablo 3. Benign Meme hastalıklarında rölatif kanser riski.....	7
Tablo 4. Meme Kanserinde risk faktörleri	9
Tablo 5. Meme Kanseri Moleküler Sınıflandırma biyomarkerlar ve istatistikler.....	14
Tablo 6. TNM tanımları.....	18
Tablo 7. Klinik anatomik evreleme.....	18
Tablo 8. Meme Kanseri Patolojik Evreleme.....	19
Tablo 9. cDNA sentezi için hazırlanan reaksiyon karışımı.....	27
Tablo 10. Real-Time PCR reaksiyon karışımı.....	27
Tablo 11. Hastaların sosyodemografik özellikleri	30
Tablo 12. Hastaların Patolojik Evrelerine Göre Dağılımı	31
Tablo 13. Hastaların Histolojik Gradelere Göre Dağılımı	31
Tablo 14. Hastaların Histolojik Tiplerine Göre Dağılımı	32
Tablo 15. Hastaların Östrojen Reseptörlerine Göre Dağılımı	32

Tablo 16. Hastaların Progesteron Reseptörlerine Göre Dağılımı	33
Tablo 17. Hastaların Moleküler Sınıflandırılmasına Göre Dağılımı	33
Tablo 18. Sentinel Lenf Noduna göre ekspresyon değişimleri	34
Tablo 19. Moleküler sınıflandırmaya göre ekspresyon kat değişimleri.....	35
Tablo 20. 50 yaş ve altı ve 50 yaş üstü hastalara göre ekspresyon analizleri.....	35
Tablo 21. Aile öyküsü olmayan ve aile öyküsü olan hastalara göre ekspresyon analizleri.....	36
Tablo 22. ki-67 %20'nin altı ve ki-67 %20 hastalara göre ekspresyon analizleri.....	37

ÖZET

Meme kanserinde erken tanı, tedavi, prognoz ve aksiller metastazda lncRNA ve miRNA rolü

Dr. Taha Yasin BARAN

Meme kanseri dünyada kadınlarda en sık görülen kanser türüdür. Ayrıca kadınlarda kanser mortalitesinde ilk sırada yer almaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) GLOBOCAN 2020 verilerine göre yaklaşık 2,3 milyon yeni vaka ve %11,7 oranı ile tüm kanserler arasında en sık görülen kanser türüdür (1).

Meme kanserinin tanı, tedavi ve prognozunda aksiller metastaz varlığı önemli bir kriterdir. Meme kanserlerinde aksiller metastaz varlığı araştırmasında Sentinel Lenf Nodu Biyopsisi (SLNB) altın standarttır. Ancak SLNB operasyon süresini uzatan invaziv bir yöntemdir. Son yıllarda alternatif aksiller metastaz tespit yöntemleri araştırılmaktadır (2).

Günümüzde kanser hastalarında long non coding RNA (lncRNA), mikro RNA (miRNA/miR) çalışmaları popülerlik kazanmaya başlamış ve bu çalışmalarda anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Son zamanlarda çeşitli miRNA'ların meme kanseri patogenezi üzerinde hayati bir etki yaptığı ortaya konmuştur. lncRNA'lar meme kanseri dahil çeşitli kanser türlerinde önemli roller oynar. lncRNA'ların anormal ekspresyonu meme kanserinde kanserin başlamasına ve ilerlemesine önemli ölçüde katkıda bulunur (3, 4).

Biz bu çalışmada Pamukkale Üniversitesi Genel Cerrahi Kliniğinde son 2 yılda tedavi edilen erken evre meme kanseri olan hastalarda; ameliyat öncesi alınan kan örneklerinden serum miR150-5p ve miR503-5p, lncRNA BLACAT1, bir kemokin reseptör proteini olan Ccr2, bir apoptoz regülatörü olan Bcl-2'yi çalıştık. Böylece bu çalışmada; meme kanserinde aksiller metastaz varlığını sadece doku örneklerinden değil de serum örnekleri üzerinden de tespit edebilmenin mümkün olup olmadığını araştırdık.

Operasyon sırasında meme kanserinde aksiller metastaz doğrulaması için SLNB frozen çalışması yapıldı. Ayrıca operasyon sonrası parafinli patoloji örneklerinde aksiller metastaz varlığı kontrol edildi.

Çalışmamızda yaş ortalaması $53,15 \pm 12,82$ olan 57 hasta yer aldı. Çalışmamızın sonuçlarına göre; Hastaların Sentinel lenf nodu frozen sonuçlarıyla ekspresyon analizleri yapıldığında sadece miR-503-5p ekspresyonu en az bir adet malign sentinel lenf nodu olan hastalarda sentinel lenf nodu tamamı benign olan hastalara göre aşağı yönde 2,33 kat oranında ekspresyon gösterdi diğer markerlarda anlamlı fark bulunamadı.

Ekspresyon analizleri tedavi açısından önemli olan kriterlere göre de değerlendirildi. Moleküler sınıflamalarına göre incelendiklerinde lncRNA BLACAT 1 ekspresyonu Luminal B tümörlerde diğer moleküler subtiplere göre 3,04 kat yükselme ve HER2 tümörlerde 26,65 kat yükselmeye anlamlı bulunmuştur. miR-503-5p Luminal B tümörlerde diğerlerine oranla 2,12 kat yüksek, Her 2 tümörlerde 82,33 kat yüksek eksprese edilerek anlamlı bulunmuştur. miR-150-5p Luminal B tümörlerde diğerlerine oranla 2,93 kat yüksek eksprese edilerek anlamlı bulunmuştur.

Prognoz açısından önemli olan yaş ile korelasyon değerlendirildiğinde; BLACAT1' in 50 yaş altı hastalara göre 50 yaş üstü hastalarda 2,48 kat aşağı yönde eksprese olduğu gözlemlenip anlamlı olarak bulunmuştur. Mir-150-5p'nin 50 yaş altı hastalara göre 50 yaş üstü hastalarda 2,50 kat artış yönünde eksprese olduğu gözlenerek anlamlı olarak değerlendirildi.

Erken tanı için önemli olan aile öyküsü ile korelasyon değerlendirildiğinde; BLACAT1'in ailesinde meme kanseri öyküsü olan hastalarda ailesinde meme kanseri öyküsü olmayan hastalara göre 5,37 kat aşağı yönde anlamlı olarak eksprese oldukları gözlemlenmiştir. miR-503-5p'nin ailesinde meme kanseri öyküsü olan hastalarda ailesinde meme kanseri öyküsü olmayan hastalara göre 6,41 kat yukarı yönde anlamlı olarak eksprese oldukları gözlemlenmiştir. mir-150-5p'nin ailesinde meme kanseri öyküsü olan hastalarda ailesinde meme kanseri öyküsü olmayan hastalara göre 2,29 kat yukarı yönde anlamlı olarak eksprese oldukları gözlemlenmiştir.

Tanı, tedavi ve prognozda önemli olan Ki-67 ile korelasyon değerlendirildiğinde, çalışmamızda mir-503-5p ekspresyonu Ki-67 %20'den fazla sentezlenen hastalarda Ki-67 %20'den daha az sentezlenen hastalara göre 3,52 kat artış göstererek anlamlı olarak değerlendirilmiştir. mir-150-5p ekspresyonu Ki-67 %20'den fazla sentezlenen hastalarda Ki-67 %20'den daha az sentezlenen hastalara göre 3,54 artış göstererek anlamlı olarak değerlendirilmiştir.

Sonuç olarak çalışmamızda erken evre meme kanseri tanısı alan, herhangi bir ek kanseri olmayan, neoadjuvan kemoterapi almayan hastalarda meme kanseri ile ilişkilendirilen miRNAlar (miR-503-5p, miR150-5p) lncRNA BLACAT1, bcl2, ccr2'nin operasyon öncesi serum örneklerindeki ekspresyon seviyeleri incelenmiştir. Bu parametrelerin operasyon öncesi serum örneklerinde değişiklikleri gösterilmiştir.

Çalışmamıza göre serum mir 503-5p ekspresyonunun aksiller metastaz tespiti için kullanılan SLNB ye göre daha az invaziv ek bir yöntem olarak kullanılabileceği düşünülmüştür.

Erken tanı, tedavi ve prognoz için önemli olan faktörlerle değerlendirildiğinde, lncRNA BLACAT1, miR 503-5p ve miR150-5p'nin erken evre meme kanserli, neoadjuvan kemoterapi almamış hastaların serum örneklerinden bakılarak tanı, tedavi ve prognoz açısından fikir sunabileceği düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: miR150-5p,miR503-5p, BLACAT1, moleküler sınıflandırma, sentinel lenf nodu

SUMMARY The role of lncRNA and miRNA in early diagnosis, treatment, prognosis and axillary metastasis in breast cancer Dr. Taha Yasin BARAN

Breast cancer is the most common type of cancer in women worldwide. It also ranks first in cancer mortality in women. According to the World Health Organization (WHO) GLOBOCAN 2020 data, it is the most common cancer type among all cancers with approximately 2.3 million new cases and 11.7% rate (1).

The presence of axillary metastases is an important criterion in the diagnosis, treatment and prognosis of breast cancer. Sentinel Lymph Node Biopsy (SLNB) is the gold standard in the investigation of axillary metastases in breast cancers. However, SLNB is an invasive method that prolongs the operation time. In recent years, alternative axillary metastasis detection methods have been investigated (2).

Nowadays; lncRNA and miRNA studies in cancer patients have started to gain popularity and significant results have been obtained in these studies. It has also been demonstrated that various miRNAs have a vital effect on the pathogenesis of breast cancer. Long ncRNAs play a crucial role in various types of cancer, including breast cancer. Abnormal expression of lncRNAs contributes significantly to cancer initiation and progression in breast cancer (3, 4).

In this study, in patients with early stage breast cancer treated in Pamukkale University General Surgery Clinic in the last 2 years; we studied serum miR150-5p

and miR503-5p, lncRNA BLACAT1, a chemokine receptor protein Ccr2 and an apoptosis regulator Bcl-2 in preoperative blood samples. Thus, in this study; we investigated whether it is possible to detect the presence of axillary metastases in breast cancer not only from tissue samples but also from serum samples.

We performed SLNB frozen study to confirm axillary metastases in breast cancer during the operation. In addition, we checked the presence of axillary metastases in the pathology samples with paraffin after the operation.

Our study included 57 patients with a mean age of $53,15 \pm 12,82$ years. According to the results of our study; When expression analyzes performed with the correlation of frozen sentinel lymph node results of the patients, only miR-503-5p expression showed 2,33-fold expression in patients with at least one malignant sentinel lymph node compared to patients with all benign sentinel lymph nodes. We found no significant difference in other markers.

We also evaluated expression analyzes according to criteria important for treatment. When we analyzed according to their molecular classification, lncRNA BLACAT 1 expression was found to be significant with a 3,04-fold increase in Luminal B tumors and a 26,65-fold increase in HER2 tumors compared to other molecular subtypes. miR -150-5p was found to be significant by being expressed 2,93 times higher in Luminal B tumors compared to the others.

We evaluated these markers correlation with age (which is important for prognosis), We observed that BLACAT1 was expressed 2,48 times downstream in patients over 50 years of age compared to patients under 50 years of age. We observed that mir-150-5p was expressed in the direction of a 2,50-fold increase in patients over 50 years of age compared to patients under 50 years of age, and it was evaluated as significant.

When the correlation with family history, which is important for early diagnosis evaluated. We observed that BLACAT1 was significantly expressed 5,37 times downstream in patients with a family history of breast cancer compared to patients without a family history of breast cancer. We observed that miR-503-5p was significantly expressed 6,41 times upstream in patients with a family history of breast cancer compared to patients without a family history of breast cancer. We observed that mir-150-5p was significantly expressed 2,29 times upstream in patients with a

family history of breast cancer compared to patients without a family history of breast cancer.

Considering the correlation with Ki-67, which is important in diagnosis, treatment and prognosis; we found the expression of mir-503-5p to be significant in patients with Ki-67 synthesized more than 20%, showing an increase of 3,52 times compared to patients with Ki-67 expression less than 20%. In the expression of mir150-5p, we evaluated as significant by showing an increase of 3,54 in patients with Ki-67 expressed more than 20% compared to the patients with Ki-67 expression less than 20%.

As a result, in our study; We investigated the expression levels of breast cancer associated miRNAs (miR-503-5p, miR150-5p) lncRNA BLACAT1, bcl2, ccr2 in preoperative serum samples in patients diagnosed with early stage breast cancer, without any additional cancer, and not received neoadjuvant chemotherapy. The changes of these parameters in preoperative serum samples are shown.

According to our study, we thought that serum mir 503-5p expression could be used as a less invasive additional method compared to SLNB used for axillary metastasis detection.

When evaluated with factors that are important for early diagnosis, treatment and prognosis, we thought that lncRNA BLACAT1, miR 503-5p and miR150-5p could provide an idea in terms of diagnosis, treatment and prognosis by looking at the serum samples of patients with early stage breast cancer who did not receive neoadjuvant chemotherapy.

Keywords: miR150-5p, miR503-5p, BLACAT1, molecular classification, sentinel lymph nod



GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri dünyada kadınlarda en sık görülen kanser türüdür. Ayrıca kadınlarda kanser mortalitesinde ilk sırada yer almaktadır. World Health Organization (WHO) GLOBOCAN 2020 verilerine göre yaklaşık 2,3 milyon yeni vaka ve %11,7 oranı ile tüm kanserler arasında en sık görülen kanser türüdür (1).

Kanser mortalitesinde meme kanseri yaklaşık 685.000 ölümle dünya çapında beşinci sırada yer almaktadır. Kadınlarda dünyada her dört kanser vakasından biri meme kanseridir. Kadınlarda kanser nedenli ölümlerde her altı kanser nedenli ölümden biri meme kanseri nedenlidir (1).

Meme kanseri hastalarının sınıflandırmalarında gen ekspresyon profili oluşturma gibi moleküler tekniklerin gelişmesiyle birlikte “meme kanserinde heterojenlik” kavramı artık genel olarak kabul görmüştür. Böylece geleneksel eski moda “morfolojik” sınıflandırmasındansa “Moleküler Sınıflandırma” kullanılmaya başlandı. Bu sınıflandırmanın uygulanması ile hedefe yönelik tedaviler ve daha da önemlisi kişiye özel tedavi programları mümkün hale gelmiştir.

Günümüzde hastalar moleküler sınıflamaya göre luminal A, luminal B (Her2 pozitif ve negatif grup), Her2 ve üçlü negatif olarak 4 gruba ayrılmaktadır (5).

Şu anda histopatolojik olarak meme kanserinin 20 ana tipi ve 18 minör alt tipi tanımlanmış ve yakın zamanda yayınlanan WHO sınıflandırmasına dahil edilmiştir (6).

Mikro ribonükleik asitler (miRNA'lar) tek sarmallı, 20-24 nt uzunluğunda kodlanmayan RNA'lardır ve ökaryot hücrelerde bulunurlar. miRNA'lar spesifik genlere bağlanarak post-transkripsiyonel seviyede çeşitli genlerin ekspresyonunu düzenleyebilir ve böylece hücre proliferasyonu, farklılaşması ve apoptoz gibi fizyolojik aktiviteler üzerinde çok önemli etkiler yaratabilirler (7).

Son zamanlarda, çeşitli miRNA'ların meme kanseri patogenezi üzerinde hayati bir etki yaptığı ortaya konmuştur. miRNA'lar kanser üzerindeki etkilerini tümör supresör veya onkogen veya hem tümör supresör hem onkogen olarak gösterirler (7).

Uzun kodlamayan RNA'lar (lncRNA'lar) 200'den fazla nükleotid uzunluğundadır ve memeli genomundan dokuya özgü ve gelişimsel olarak düzenlenmiş bir modelde kopyalanır. lncRNA'ların insanlarda ve hayvan modellerinde toksikolojik tepkilerin yeni biyobelirteçleri ve/veya kilit düzenleyicileri olduklarına dair artan bir anlayış vardır.

Protein kodlama kapasitesinden yoksun olan sayısız lncRNA türü, cis ve trans gen ekspresyonu, transkripsiyon faktörü aktivitesi, kromatin yeniden modelleme, baskılama ve güçlendirici yukarı düzenlemeyi içeren sayısız transkripsiyonel düzenleyici fonksiyona sahiptir.

lncRNA'lar ayrıca mRNA işlemeyi, transkripsiyon sonrası düzenlemeyi ve protein metabolizmasını da etkiler. lncRNA'ların düzensizliği, çeşitli kanserler, Alzheimer hastalığı gibi insan sağlığı sorunlarında rol oynar (8).

2019 yılında Xiaopeng Hu ve ark. yaptıkları çalışmada BLACAT1'in meme kanseri hücrelerinde CCR2'yi hedefleyen miR-150-5p yoluyla hücre sağ kalımını ve metastazı hızlandırmadaki rolünü göstermiştir (9).

2020 Mart ayında Rongfeng Qu ve ark. tarafından yapılan başka bir çalışmada BLACAT1 in miR-503-5p/Bcl-2 yolağı ile meme kanserlerinde tamoksifen direncini indüklediğini gösterdi (10).

Meme kanserinde erken tanıda mamografi, ultrasonografi gibi görüntüleme yöntemleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak kullanılan görüntüleme yöntemlerine rağmen kanser prognozunda önemli bir yeri olan aksiller metastazın tespiti açısından ameliyat öncesi kullanılabilecek etkin bir yöntem bulunmamaktadır.

Literatürde meme kanseri hastalarında dokudan ve serumdan lncRNA ve miRNA çalışmaları mevcuttur. Özellikle lncRNA BLACAT1, miR-150-5p, miR-503-5p, CCR2, Bcl-2 kanserli hastalarda serum örneklerinde gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda bu lncRNA ve miRNAların kanserli hastalarda varlığı araştırılsa da ameliyat öncesi erken tanıda kullanılabilirliği ve aksiller metastaz varlığının erken tespiti açısından çalışma bulunamamıştır.

Biz bu çalışmada meme kanserinin erken tanısında aksiller metastaz varlığının ve çeşitli prognostik belirteçlerin sadece serum örneklerinden miR150-5p ve miR5035p, lncRNA BLACAT1, Ccr2 ve Bcl-2 üzerinden ve bu faktörlerin birbirleriyle ilişkileri üzerinden tespitinin mümkün olup olmadığını araştırdık.

GENEL BİLGİLER

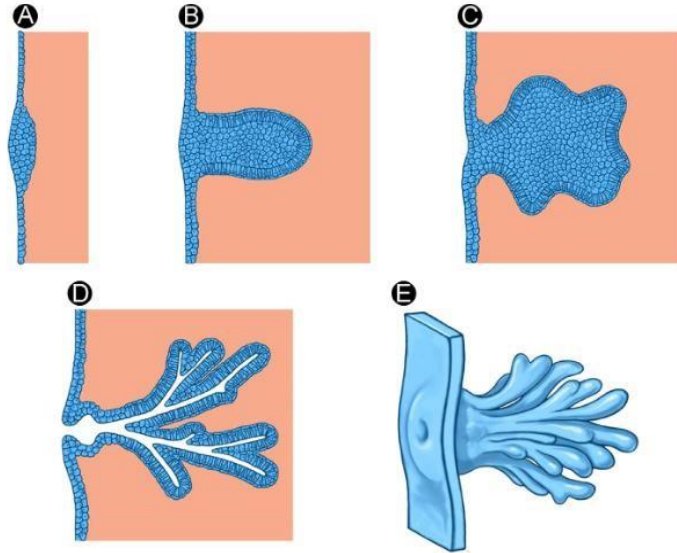
I- MEME EMBRİYOLOJİSİ VE ANATOMİSİ

1- Meme embriyolojisi

Meme bezleri, embriyonik ektodermin özelleşmeleri olarak ortaya çıkar. Embriyolojik olarak meme, dördüncü ile on ikinci gebelik haftaları boyunca cilt öncü hücrelerinden genetik ve hormonal etki altında gelişir.

Fetal gelişimin beşinci veya altıncı haftasında, embriyoda iki ventral kalınlaşmış ektoderm bandı (meme sırtları, süt hatları) belirgindir. Ektodermal kalınlaşmalar (meme sırtları olarak adlandırılır) insanlarda göğüste dördüncü interkostal boşluk seviyesinde gelişir ve beşinci gebelik haftasında bir meme tomurcuğu oluşturur (Şekil 1).

Çoğu memelide, ön ayak tabanından (gelecekteki aksilla) arka uzuv bölgesine (kasık bölgesi) uzanan hatlar boyunca çift meme gelişir. Bu çıkıntılar insan embriyosunda belirgin değildir ve pektoral bölgede kalabilen küçük kısımlar dışında kısa bir süre sonra kaybolur. Normal gelişimde başarısızlık meydana gelirse süt hattı boyunca aksesuar memeler (polimasti) veya aksesuar meme uçları (politeli) oluşabilir (Şekil 2) (11, 12).



Şekil 1. Normal meme embriyolojik gelişimi (A) Gebeliğin beşinci haftasında görülen meme tomurcuğu. (B) Beşinci gebelik haftasından sonra meme tomurcuğunun göğüs içine doğru büyümesi. (C) Gebeliğin beşinci ve on ikinci haftaları arasında ikincil tomurcukların oluşumu. (D) Gebeliğin on ikinci haftasında meme lobüllerinin oluşumu. (E) Gelişmekte olan (ters) meme ucunu birbirine bağlayan radyal olarak düzenlenmiş meme kanallarından oluşan karmaşık bir ağda kanalların uzaması ve dallanmasıyla birlikte, gebeliğin on ikinci haftasından sonra meme lobüllerinin devam eden büyümesi. Jesinger et al. Breast anatomy for the interventionalist 'den alınmıştır (12)'



Şekil 2. Kadınlarda süt hatları (13).

2- Meme Anatomisi

İnsan memesi, deri ve deri altı dokusu, meme parankimi (kanallar ve lobüller), karmaşık bir bağ doku, sinir, damar ve lenfatikler ağına yerleştirilmiş yağ dahil olmak üzere destekleyici stromadan oluşan kutanöz ekzokrin bir bezdir.

Memenin posterioru, üstte pektoralis majör kasına, lateralde serratus anterior kasına ve altta eksternal oblik kasları ve rektus kılıfının üst kısmına denk gelir. Hem erkek hem de kadınlarda memenin sınırları tipik olarak üstte ikinci veya üçüncü kaburga seviyesinden altta altıncı veya yedinci kaburgadaki meme altı kıvrımına kadar uzanır. Sternumun lateral sınırı memenin medialini oluşturur, Lateralde de midaksiller çizgiye çapraz olarak uzanır (13).

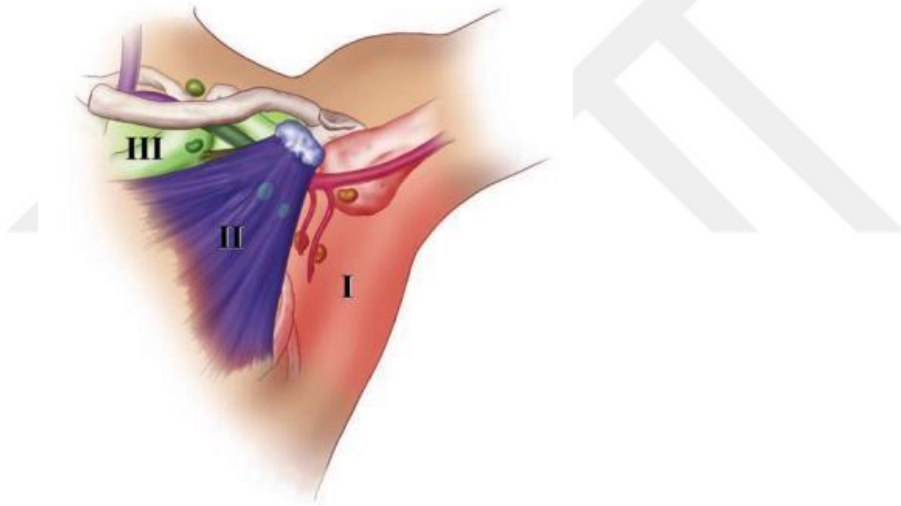
Memeye ana arteriyel kan akımı: (a) internal torasik arterden kaynaklanan internal mammarial arterin perforan dalları; (b) posterior interkostal arterlerin yan dalları(c) aksiller arterden dallanan torakoakromiyal arterin torasik, lateral torasik ve pektoral dallarından sağlanır. Ayrıca medial mammarial arterinin ikinci, üçüncü ve dördüncü anterior interkostal perforatörleri ve dalları, memede medial meme arterleri olarak yer alır. Memenin venöz anatomisi ve lenfatik drenajı genellikle arteriyel anatomiye paraleldir.

Vertebraları çevreleyen ve kafatasının tabanından sakruma uzanan Batson vertebral venöz pleksus, vertebralara, kafatasına, pelvik kemiklere ve merkezi sinir sistemine meme kanseri metastazları için bir yol sağlayabilir.

Üçüncü ile altıncı interkostal sinirlerin lateral kutanöz dalları, memenin (lateral meme dalları) ve anterolateral göğüs duvarının duysal innervasyonunu sağlar. Bu dallar, serratus anterior kasının arasındaki interkostal boşluklardan çıkar.

İnterkostobrakiyal sinir, ikinci interkostal sinirin lateral kutanöz dalıdır ve aksillanın cerrahi diseksiyonu sırasında görüntülenebilir. İnterkostobrakiyal sinirin rezeksiyonu, üst kolun medialinde duyu kaybına neden olur.

Aksiller lenf nodu grupları (Şekil 3) genellikle memeden gelen lenf drenajının >%75'ini alır. Geri kalanı (özellikle memenin medial yönünden kaynaklananlar) internal mammarian arterinin perforan dallarına eşlik eden lenf damarlarından drene olur ve parasternal (internal mammarian) lenf nodları grubuna girer (13).



Şekil 3. Aksiller lenf nodu grupları. Seviye I, pektoralis minör kasının lateralinde yer alan lenf düğümlerini içerir; Seviye II, pektoralis minörünün derinliklerinde bulunan lenf düğümlerini içerir ve seviye III, pektoralis minörünün medialinde yer alan lenf düğümlerini içerir. Ana dalları ve supraklaviküler lenf nodu grubuyla birlikte aksiller ven de gösterilmiştir (13).

II- MEME FİZYOLOJİSİ

Meme gelişimi ve işlevi, östrojen, progesteron, prolaktin, oksitosin, tiroid hormonu, kortizol ve büyüme hormonu dahil olmak üzere çeşitli hormonal uyarılar tarafından başlatılır.

Östrojen, progesteron ve prolaktin, özellikle normal meme gelişimi ve işlevi için gerekli olan derin trofik etkilere sahiptir. Östrojen duktal gelişimi başlatırken, progesteron epitelin farklılaşmasından ve lobüler gelişimden sorumludur (13).

III- MEMENİN BENİGN HASTALIKLARI

Benign meme değişiklikleri, doğurganlık çağındaki kadınlarda daha sık görülür ve 30 ile 50 yaşları arasında zirveye ulaşırken, meme kanseri insidansı menopoz sonrası dönemde zirveye ulaşır.

BI-RADS (Breast Imaging Reporting and Data Systems) sınıflandırması radyolojik bulguların standartlaştırılmış bir açıklamasıdır, klinisyenlere ne yapılması gerektiği ile ilgili öneriler sunar (Tablo 1).

Tablo 1. BI-RADS (Breast Imaging Reporting and Data Systems) sınıflaması (13).

BI-RADS kategorisi	BI-RADS kodu	Öneriler
Yetersiz değerlendirme	0	Önceki görüntülemelerle veya yeni görüntüleme yöntemleriyle değerlendirme önerilir
Negatif	1	Takip önerilir
Benign	2	Takip önerilir
Muhtemelen Benign	3	Daha kısa takip (6ay da bir) önerilir
Malign Şüpheli	4	Histolojik İnceleme Önerilir
Malignite Şüphesi Yüksek	5	Histolojik inceleme, tedavi için hızlı yaklaşım önerilir

1- Memenin Non Proliferatif Hastalıkları

Memenin proliferatif olmayan bozuklukları, benign meme hastalıklarının %70'ini oluşturur ve meme kanseri gelişimi için artmış risk taşımazlar. Bu kategori kistler, kanal ektazisi, periduktal mastit, kalsifikasyonlar, fibroadenomlar ve ilgili bozuklukları içerir.

İnsidansı %25 olan fibroadenom memenin en sık görülen benign kitlesidir. İlk başlangıcı 15 ile 35 yaş arasındadır (14).

Semptomatik fibroadenomlar cerrahi eksizyon (kitle >2 cm ise iyi bir seçenek) veya ultrason eşliğinde vakum yardımcı biyopsi ile çıkarılabilir (15).

2- Memenin Proliferatif Hastalıkları

Atipi olmayan proliferatif meme hastalıkları

Sklerozan adenozis, radyal skarlar, kompleks sklerozan lezyonlar, duktal epitel hiperplazisi ve intraduktal papillomlar bu grupta bulunur.

Atipi olmayan proliferatif değişiklikler, meme kanseri riskinde sadece minimal bir artış ile ilişkilidir (14, 16).

Atipili Proliferatif Meme Hastalıkları

Atipili proliferatif hastalıklar, her ikisi de karsinoma in situ'nun bazı özelliklerini gösteren duktal ve lobüler hiperplaziyi içerir (13).

Tablo 2. Benign Meme Hastalıkları Sınıflandırması (13).

Benign Meme Hastalıklarının Sınıflandırılması
Non Proliferatif Meme Hastalıkları
Kistler, apokrin metaplazi
Duktal ektazi
Hafif duktal epitelyal hiperplazi
Kalsifikasyonlar
Fibroadenomlar ve ilişkili lezyonlar
Atipisiz Proliferatif Hastalıklar
Sklerozan Adenozis
Radyal ve kompleks sklerozan lezyonlar
Duktal epitelyal hiperplazi
İntraduktal papillomlar
Atipili Proliferatif Hastalıklar
Atipik lobüler hiperplazi
Atipik duktal hiperplazi

Tablo 3. Benign Meme hastalıklarında relatif kanser riski (17).

Hastalık	Relatif Kanser Riski
Non Proliferatif Lezyonlar	Artmış risk yok
Sklerozan adenozis	Artmış risk yok
İntraduktal Papillom	Artmış risk yok
Florid hiperplazi	1.5-2 kat risk artışı
Atipik Lobüler Hiperplazi	4 kat risk artışı
Atipik Duktal Hiperplazi	4 kat risk artışı

Atipik duktal hiperplazi hücrelerinin duktus tutulumu	7 kat risk artışı
Lobüler Karsinoma in situ	10 kat risk artışı
Duktal karsinoma in situ	10 kat risk artışı

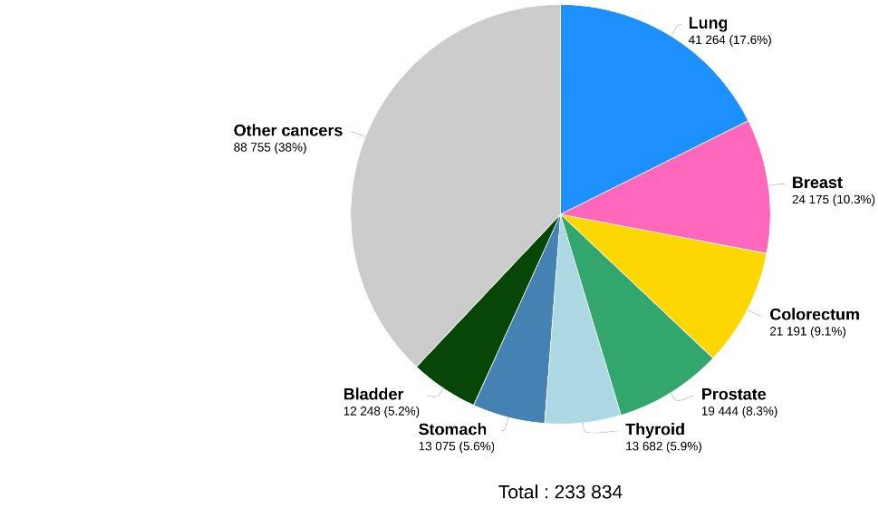
IV- MEME KANSERİ

1- Meme Kanseri Epidemiyolojisi, risk faktörleri ve tarihçesi

Meme Kanseri Epidemiyolojisi

Meme kanseri dünyada kadınlarda en sık görülen kanser türüdür. Ayrıca kadınlarda kanser mortalitesinde ilk sırada yer almaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) GLOBOCAN 2020 verilerine göre yaklaşık 2,3 milyon yeni vaka ve %11,7 oranı ile tüm kanserler arasında en sık görülen kanser türüdür. Meme kanseri Türkiye’de 2020 yılında her iki cinsiyette %10,3 görülme oranıyla akciğer kanserinden sonra ikinci sırada yer almaktadır. Türkiye’de kadınlarda yıllık 24.175 yeni vaka ile birinci sırada yer almaktadır (1).

Estimated number of new cases in 2020, Turkey, both sexes, all ages



Data source: GLOBOCAN 2020
Graph production: Global Cancer Observatory (<http://gco.iarc.fr>)

International Agency for Research on Cancer
World Health Organization

Şekil 4. Türkiye’de Meme kanseri ve diğer kanserlerin verileri GLOBOCAN’dan alınmıştır (1).

Meme Kanseri Risk Faktörleri

Meme kanseri insidansı reproduktif yıllarda yaşla birlikte hızla artar ve daha sonra ortalama menopoz yaşı olan 50 yaşından sonra daha yavaş bir oranda artar.

Meme kanseri risk faktörleri menarş ve menstrüel siklus, gebelik ve ilk gebelik yaşı, emzirme, menopoz, endojen hormonlar, oral kontraseptifler, hormonal terapiler, alkol, beslenme alışkanlıkları, sigara, egzersiz, aile öyküsü ve genetik faktörler ile ilişkilidir.

Çocuk doğurmanın meme kanseri riski üzerinde ikili bir etkisi vardır, doğumdan hemen sonraki dönemde risk artarken bu risk giderek azalır ve daha uzun vadede doğumun etkisi hastalıktan korunma yönünde etki eder. Doğum yapmamış kadınlarla karşılaştırıldığında, en az bir tam süreli gebelik geçirmiş kadınların meme kanseri riskinde ortalama olarak yaklaşık %25'lik bir azalma vardır. İlk gebelik yaşı küçüldükçe meme kanseri gelişme riskinin azaldığı görülmüştür (18).

Emzirme süresi arttıkça meme kanseri riskinin azaldığını gözlenmiştir (19).

Tablo 4. Meme Kanseri risk faktörleri (20).

Meme Kanseri Risk Faktörleri
İleri yaş (>50 yaş)
Erken Menarş (<12 yaş), geç menopoz (>55 yaş)
Doğum yapmamış olmak
İleri yaşta doğum yapmış olmak (>35 yaş)
Emzirmemiş olmak
Çocukluk çağında toraks duvarına radyoterapi uygulanması
Uzun süreli postmenopozal hormon replasman tedavisi (>5-6 yıl)
Uzun süreli oral kontraseptif kullanımı (>10 yıl)
Kronik alkol kullanımı
Postmenopozal obezite
Benign proliferatif meme hastalığı olan bireyler
Önceki biyopsilerinde atipik hiperplazi ya da LCIS saptanan hastalar
Mamografide dens meme parankimi olan kadınlar
Ailesel ve genetik meme kanseri olan kadınlar

Menarş yaşı ne kadar yüksekse meme kanseri gelişme riski o kadar düşüktür. Geç yaşta menopoza giren kadınların meme kanseri riski, daha erken menopoza girenlere göre daha yüksektir ve menopoza girme yaşındaki gecikmede her yıl risk yaklaşık %3 artar (20).

Kombine oral kontraseptifleri sürekli kullananlarda meme kanseri riski yaklaşık %25 artar, ancak risk kullanımın kesilmesinden sonra düşer (21, 22).

Meme kanserinin beslenme alışkanlıklarıyla ilişkisi de gösterilmiştir. Yağ içeriği zengin beslenenlerde meme kanseri riskinin arttığı gözlenmiştir (23).

Çeşitli çalışmalar alkol tüketiminin meme kanseri riskinde orta derecede bir artışla ilişkili olduğunu defalarca göstermiştir; Risk, günde ortalama tüketilen 10 g alkol (1 birim) başına kabaca %10 artar (24).

Meme kanseri risk faktörlerinden birisi de iyonize radyasyon maruziyetidir. Mediastinal radyasyon uygulamaları(örneğin Hodgkin lenfoma) gibi meme kanseri riskini arttırmaktadır (25).

Ailesel meme kanseri riski üzerine yapılan çalışmaların çoğu, hastaların birinci derece akrabaları (anneler, kız kardeşler, kız çocukları) için iki kat rölatif risk bulmuştur. Hastaların ikinci derece akrabalarında (büyükanneler, teyzeler, torunlar) riskte daha az artış vardır (26).

Şimdiye kadar meme kanserine yatkınlık oluşturan en az beş germ hattı mutasyonu tanımlanmış veya lokalize edilmiştir. Bunlar, BRCA1, BRCA2, P53, PTEN ve ATM genlerindeki mutasyonları içerir. BRCA1 ve BRCA2'deki mutasyonlar, özellikle meme kanseri ve yumurtalık kanserlerinde yüksek risklere neden olabilir (18).

Meme Kanseri Tarihçesi

Meme kanserinin ilk tanımlanmasına M.Ö. 2500-3000 yılları arasında Smith Cerrahi papirüslerinde rastlanmaktadır. Edwin Smith papirüsü bilinen en eski cerrahi belgedir (13).

Meme kanseri başlangıçta yalnızca operatif bir kökten yok etme teorisiyle yönetiliyordu, ancak şimdi hastalar için en iyi seçenekler araştırılıyor ve cerrahi, tıbbi, psikolojik ve sosyal uzmanlıklardan oluşan multidisipliner bir ekip gerektiriyor (27).

2- Meme Kanserinde Erken Tanı ve Tarama

Meme kanserinin erken evrede tespit edilmesi amacıyla yapılan mamografik tarama oldukça etkili olmuştur. Klinik çalışmalarda, mamografik taramanın ölüm oranlarını %25-30 oranında azalttığı saptanmıştır (28).

Tanısal Mamografi

Semptomatik hastalarda tanı koymak veya meme kanserini ekarte etmek için yapılan incelemedir. Mamografi (MG)'de standart olarak her meme için iki temel pozisyonda görüntü alınır.

Bugün konvansiyonel mamografi yeterli bir görüntü vermediği için yapılması önerilmemektedir. Öncelikle Dijital Mammografi (DM) tercih edilmelidir. DM'nin duyarlılığı, geleneksel MG'ye göre yoğun fibroglandüler dokuya sahip olgularda daha yüksektir (29).

Kontrastlı Spektral Mamografi

Kontrastlı spektral mamografide intravenöz kontrast madde verilmesi sonrası DM veya Dijital Tomosentez (DMT) ile meme görüntülemesi yapılır (20).

Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) yapılması kontrendike olan hastalarda veya klostrofobik hastalarda kullanılabilir (20).

Ultrasonografi (US)

Primer tarama yöntemi olarak tek başına MG'nin yerine kullanılmamalıdır. Ancak dens memelerde mamografik taramayı tamamlayıcı olarak kullanılabilir (20, 29).

Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG)

İlk tercih olmamalıdır. MG ve US ile karar verilemeyen olgularda problem çözücü olarak meme radyoloğu tarafından önerilmeli ve değerlendirilmelidir. Meme MRG endikasyonları dışında çekilmemelidir (20).

Biyopsi Yöntemleri

Memede tanımlanmış olan bir lezyondan biyopsi yapmak için 4 yöntem kullanılır:

1. İnce iğne aspirasyon biyopsisi (İİAB),
2. Kalın iğne biyopsisi (KİB), 3. Vakum yardımcı biyopsi (VYB),
4. Açık cerrahi biyopsi.

Stereotaktik meme biyopsisi palpe edilemeyen, US ile görüntülenemeyen ancak MG ile görüntülenen lezyonlar için kullanılır. Hedef lezyonun saptanması ve lokalize edilmesinde MG kullanılmaktadır (20, 30).

İnce İğne Aspirasyon Biyopsisi (IIAB)

İnce iğne (20-27G) takılmış standart 20 ml enjektör ile yapılan biyopsilerdir. Enjektör el ile (serbest) veya otomatik tabancalar ile kullanılabilir. İnce iğne biyopsilerinde alınan örneğin yetersizlik (%37) ve yalancı negatiflik oranının (%31) yüksekliği kullanımını kısıtlamıştır (31).

Kalın İğne Biyopsisi(KIB)

Kalın iğne biyopsilerinin avantajı meme koruyucu cerrahi (MKC) yapılacak hastalarda, meme dokusu deforme olmadığı için daha iyi kozmetik sonuç sağlamasıdır. MKC'de insizyon, iğne giriş noktası insizyon hattının içinde olacak şekilde planlanmalıdır (20, 31, 32).

Vakum Yardımlı Biyopsi(VYB)

VYB sisteminde lezyondan multipl biyopsiler almaya yarayan, bir negatif basınç sistemine bağlı 360 derece dönen kesici bir uç bulunur. 360 derece dönüşte 6 biyopsi alabilir.

Özellikle ADH ve DCIS gibi geniş örnekleme yapılması gereken durumlarda başvurulabilecek bir yöntemdir (30, 31).

Açık Cerrahi/Eksizyonel Biyopsi

Cerrahi biyopsi yapılma gerekliliği olan durumlar şöyle sıralanabilir: Toraksa ya da meme başına yakın yerleşimli lezyonlar, meme implantı olan hastalarda implanta yakın olan lezyonlar, stereotaktik olarak lokalizasyonu zor çok küçük mikrokalsifikasyonlar, önceki biyopsi sonucu ALH, LCIS olan lezyonlar, radyal skar gibi kompleks radyolojik lezyonlar (20, 33).

3- Meme Kanserinin Moleküler Sınıflandırılması

Son 15 yılda meme kanserinin dört ana moleküler alt tipi (Luminal A, Luminal B, HER2 ile zenginleştirilmiş alt tip ve Bazal benzeri) karakterize edilmiştir (6, 34).

Luminal A

Bu moleküler alt tip en yaygın olanıdır ve yeni teşhis edilen meme kanseri vakalarının yaklaşık yarısını içerir. ER+ ($\geq \%1$), yüksek PR ekspresyonu ($\geq \%20$), HER2- ($\leq \%10$) ve düşük seviyeler Ki-67 ($< 20\%$) ile görülür.

DNA düzeyinde Luminal A tümörleri Luminal B tümörlerine kıyasla genom boyunca daha az sayıda mutasyon, daha düşük kromozomal kopya sayısı değişikliği gösterir. Luminal B tümörlere göre daha iyi prognozludurlar (35, 36).

Luminal B

Luminal A tümörleri ile karşılaştırıldığında, Luminal B tümörleri, proliferasyon/hücre döngüsü ile ilgili genlerin veya proteinlerin (örn. KI67) daha yüksek ekspresyonuna ve progesteron reseptörü (PR) gibi birkaç gen veya proteinin daha düşük ekspresyonuna sahiptir.

Luminal B tümörleri, invaziv meme kanseri vakalarının yaklaşık %20 ile %30'undan sorumludur. Bu alt tip, immünofenotipik olarak HER2- ER+ PR-, HER2- ve yüksek Ki-67 seviyeleri ile HER2+ ER+, HER2+ ve herhangi bir PR ve Ki 67 seviyesi ile gözlemlenir.

Bu moleküler tür genellikle, IDK (İnvaziv Duktal Karsinom) - Non spesifik tip içeren ve orta düzeyde bir prognozla ilişkili olan tiptir.

Luminal B alt tipi, ER+ meme kanseri vakalarının en agresif formu olarak görülür ve genellikle hormon tedavisi fayda göstermez (36).

HER2 ile zenginleştirilmiş alt tip

Yeni teşhis edilen meme kanseri vakalarının %15 ile %20'sini oluşturur. Bu alt tip, yüksek HER2 ekspresyonu, ER ve PR için negatiflik ve Ki-67'nin yüksek ekspresyonu ($> \%20$) ile karakterize edilir.

Meme kanserinde HER2'nin durumunu değerlendirmek için rutin olarak kullanılan immünofenotipik karakterizasyona ek olarak, gen amplifikasyonunu değerlendirmek için FISH (Floresan in situ hibridizasyon) tekniği de kullanılmıştır.

Genin amplifikasyonu ve HER2 proteininin yüksek ekspresyonu, daha yüksek histolojik dereceli tümörler, yüksek proliferatif indeks ve metastaz eğilimleri ile ilişkilendirilmiştir. Ancak bu tümörler, HER2 aktivitesini bloke eden ilaçlara, özellikle hümanize monoklonal antikorlara (Trastuzumab) ve moleküler reseptör tirozin kinaz inhibitörlerine (Lapatinib) iyi yanıt verebilir (36).

Bazal Benzeri- Üçlü Negatif

Bazal benzeri alt tip, ER- PR- HER2- olmasıyla karakterizedir. Proliferasyonla ilişkili genlerin (örn. KI67) yüksek ekspresyonu ve tipik olarak derinin bazal tabakası tarafından eksprese edilen keratinlerin ekspresyonu ile karakterize edilir.

BRCA1 mutasyonlu meme kanseri, Bazal benzeri hastalık ile ilişkilidir (35).

Tablo 5. Meme Kanseri Moleküler Sınıflandırma biyomarkerlar ve istatistikler (36).

Moleküler Subtipler	Luminal A	Luminal B (Her2-)	Luminal B (Her2+)	Her 2+	Üçlü Negatif
Biyomarkerlar	ER+ PR+ HER2- Ki67 Düşük	ER+ PR- Her2- Ki67 Yüksek	ER+ PR-/ + HER2+ Ki67 düşük/yüksek	ER- PR- Her2+ Ki67 yüksek	ER- PR- Her2- Ki67 yüksek
Görülme Yüzdesi	%40-50	%20-30	%20-30	%15-20	%10-20
Histolojik Evre	İyi Diferansiyasyon (grade 1)	Orta Diferansiyasyon (Grade 2)	Orta Diferansiyasyon (Grade 2)	Az Diferansiyasyon (Grade 3)	Az Diferansiyasyon (Grade 3)
Prognoz	İyi	Orta	Orta	Kötü	Kötü
Cevap verdiği tedavi	Endokrin	Endokrin + kemoterapi	Endokrin + kemoterapi+ hedefe yönelik tedavi	Hedefe yönelik tedavi + kemoterapi	Kemoterapi+Parp inhibitörleri

4- Meme Kanserinin Histolojik Sınıflandırması

Yeni teşhis edilen meme kanseri vakalarının yaklaşık %50 ile %80'i invaziv duktal karsinom (IDK) olarak adlandırılır; vakaların geri kalanı invaziv lobüler karsinom olarak sınıflandırılır (37).

İnvaziv Duktal Karsinom

Histolojik alt tip IDK-non spesifik tip en yaygın olanıdır ve tüm invaziv meme karsinomlarının yaklaşık %40 ile %75'ini oluşturur.

Tümör hücreleri, çıkıntılı nükleoller ve çok sayıda mitoz ile pleomorfiktir.

Vakaların yarısından fazlasında nekroz ve kalsifikasyon alanları tespit edilebilir (36).

İnvaziv lobüler karsinom

Yeni teşhis edilen tüm vakaların yaklaşık %5 ile %15'ini temsil eden ve genellikle ileri yaştaki kadınları etkileyen biyolojik olarak en büyük ikinci karsinomdur (36).

Medüller Karsinom

Tüm vakaların yaklaşık %5'inden sorumlu olan ve daha iyi klinik sonuçlar ve aksiller lenf düğümlerinde daha düşük tutulum oranları ile ilişkili olan invaziv meme karsinomunun özel alt tipidir. Genellikle 30 ile 40 yaş arasındaki hastaları etkiler ve sıklıkla BRCA1 germ hattındaki (Meme kanseri geni 1) mutasyonlarla ilişkilidir (36).

Metaplastik Karsinom

Bu histolojik alt tip, tüm vakaların yaklaşık %1'ini temsil eden ve esas olarak menopoza sonrası kadınları etkileyen metaplastik farklılaşmanın baskın bileşeni ile karakterize edilir. Bu tümör grubu, agresif biyolojik davranış ve sıklıkla lenf nodu tutulumu gösterir (36).

Apokrin Karsinom

Tüm vakaların yaklaşık %1 ile %4'ünü oluşturur ve tümör hücrelerinin en az %90'ında apokrin farklılaşma görülür.

Apokrin karsinomlar, yuvarlak veziküler çekirdeklere ve belirgin nükleollere sahip iyi diferansiye kanserlerdir. Apokrin karsinomlar agresif bir büyüme paterni gösterebilir (13).

Bu alt tip genellikle yüksek histolojik derecelidir, kötü prognozludur ve geniş bir yaş grubunu etkiler, ancak daha çok postmenopozal kadınlarda görülür (36).

Müsinöz Karsinom

Kolloid, jelatinli, mukus ve mukoid karsinom olarak da bilinen ve yeni teşhis edilen tüm vakaların %2'sinden sorumlu olan meme kanserinin özel bir alt tipidir.

Bu alt tip, olumlu bir prognoz ile ilişkilendirilmiştir ve sıklıkla 60 yaşın üzerindeki kadınları etkiler (36).

Kribriform Karsinom

İyi bir prognozla ilişkili bu özel alt tip, genellikle yaklaşık 50 yaşındaki hastaları etkiler ve tüm meme kanseri vakalarının yaklaşık %1 ile %3,5'ini oluşturur. Kribriform karsinomun bölgesel veya uzak metastaz olduğuna dair neredeyse hiçbir kanıt yoktur (36).

Tübüler Karsinom

50 ile 60 yaş arasındaki kadınlarda görülen ve tüm yeni teşhis edilen meme kanseri vakalarının yaklaşık %2'sini oluşturan iyi diferansiye alt tip vakalardır.

Çoğu tübüler karsinom, çok çeşitli potansiyel olarak premalign proliferatif lezyonlarla ilişkilidir (36).

Nöroendokrin Karsinom

Tüm meme kanseri vakalarının yaklaşık %0.5 ile %5'ini oluşturur ve genellikle ileri yaşlarda ortaya çıkar. Bu tümör tipi, neoplastik hücrelerin %50'sinden fazlasında kromogranin A ve sinaptofizin belirteçlerini tutarlı bir şekilde eksprese eden, gastrointestinal sistem ve akciğerin nöroendokrin tümörlerine benzer özelliklere sahiptir (36).

Skumöz Hücreli (Epidermoid) Karsinom

Skumöz hücreli (epidermoid) karsinom, süt kanal sistemi içindeki metaplaziden kaynaklanan ve genellikle belirgin klinik veya radyografik özelliklerden yoksun olan nadir bir kanserdir.

Hastaların %25'inde bölgesel metastazlar görülürken uzak metastazlar nadirdir (13).

Adenoid Kistik Karsinom

Adenoid kistik karsinom çok nadirdir ve tüm meme kanserlerinin <%0,1'ini oluşturur. Bu kanserler ortaya çıktıklarında genellikle 1 ile 3 cm çapındadır ve iyi sınırlıdır. Aksiller lenf nodu metastazları nadirdir, ancak pulmoner metastazlardan ölümler bildirilmiştir (13).

Lenfomalar

Memenin primer lenfomaları nadirdir ve iki farklı klinikopatolojik varyantı vardır.

Bir tip ≤ 39 yaş kadınlarda görülür, sıklıkla bilateraldir ve Burkitt lenfomanın histolojik özelliklerine sahiptir.

İkinci tip ≥ 40 yaş kadınlarda görülür ve genellikle B hücre tipindedir. Hodgkin lenfoma ile meme tutulumu da bildirilmiştir. Tedavi hastalığın evresine bağlıdır. Lumpektomi veya mastektomi gerekebilir (13, 38).

5- Meme Kanseri Evreleme

Meme kanseri evrelemesinde TNM evreleme sistemi kullanılmaktadır. TNM Evreleme Sistemi: tümör boyutu (T), aksiller lenf nodlarına yayılım (N) ve uzak bölgelere metastaz (M) şeklindedir. Tümör evresi hastalarda tedaviye yön veren önemli bir prognostik faktördür.

TNM evreleme sistemi, American Joint Committee on Cancer (AJCC) tarafından ilk olarak 1959 yılında tanımlanan, hastalığın prognozunu belirlemede ve tedavisine karar vermede kullanılan bir sistemdir. Ocak 2018'de yayımlanan AJCC 8. versiyonunda TNM evrelemesi anatomik (klinik ve patolojik) ve prognostik (klinik ve patolojik) olmak üzere iki bölümde değerlendirilmektedir (39).

Primer Tümör (T)

Primer tümörün tanımlanmasında patolojik ve klinik sınıflamalarda değişiklik olmamıştır. Tümör boyutu ölçümü eğer fizik muayene ile yapıldıysa, sınıflamada ana gruplar (T1, T2 veya T3), mamografik veya patolojik olarak yapıldıysa T1'in alt grupları kullanılabilir (Tablo 6) (39).

Bölgesel Lenf Nodları(N)

Bölgesel lenf nodu evrelemesi klinik ve patolojik evreleme olarak ikiye ayrılmaktadır (Tablo 6).

Uzak Metastaz (M)

Tablo 6' da gösterilmiştir.

Tablo 6. TNM tanımları (20).

Tümör Evresi (T)	
Tx	Primer Tümör Değerlendirilemiyor
T0	Primer Tümör Bulgusu Yok
Tis	DKIS ya da meme başının DKIS ile ilişkili Paget hastalığı
T1	Tümörün en büyük çapı ≤20mm T1a Tümörün en büyük çapı >1mm fakat ≤5mm T1b Tümörün en büyük çapı >5mm fakat ≤10mm T1c Tümörün en büyük çapı >10mm fakat ≤20mm
T2	Tümör Çapı>20mm, ≤50mm
T3	Tümör Çapı >50mm
T4	Göğüs Duvarı ve/veya cilt tutulumu T4a: Göğüs duvarı tutulumu T4b: Ciltte ülserasyon, satellit nodller veya ödem mevcut (peau d'orange dahil) T4c: T4a+T4b T4d: İnflamatuvar meme karsinomu
Lenf Nodu Evresi (N)	
Nx	Bölgesel lenf nodu değerlendirilemiyor
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1	Aksiller lenf nod(lar) metastazı var cN1mi- Mikrometastaz var (>0,2 mm <2,0mm)
N2	Klinik olarak fiks veya konglomere aksiller lenf nodu metastazı veya ipsilateral internal mammarian lenf nodlarında klinik olarak metastaz var N2a: Birbirlerine veya diğer yapılara fiks, konglomere veya yapışık aksiller lenf nodu metastazı var N2b: Klinik olarak sadece ipsilateral internal mammarian lenf nodlarında metastaz var
N3	İnfraklavikular lenf nod(lar)'a metastaz veya klinik olarak aksiller lenf nodu metastazı ile ipsilateral internal mammarian nod(lar)'da klinik olarak saptanmış metastaz veya aksiller veya supraklavikular nod(lar)'a metastaz. N3a: İpsilateral infraklavikular lenf nod(lar)'a metastaz N3b: İpsilateral internal mammarial ve aksiller lenf nod(lar)'a metastaz N4c: İpsilateral supraklavikular nod(lar)'a metastaz
Uzak Metastaz (M)	
M0	Uzak metastazın klinik veya radyolojik kanıtı yok
cM0(i+):	Sadece kan dolaşımı, kemik iliği veya bölgesel olmayan lenf nodlarında 0,2mm'den daha büyük olmayan moleküler depozitler veya mikroskopik tümör hücreleri var
M1	Klinik ve radyolojik yöntemlerle belirlenmiş uzak metastaz var

*Pektoral kas invazyonu ve tek başına dermis invazyonu T4 olarak tanımlanamaz.

Tablo 7. Klinik anatomik evreleme(20).

Evre	TNM
Evre 0	TisN0M0

Evre 1A	T1N0M0
Evre 1B	T0-1 NmicM0
Evre 2A	T0-1N1M0 ya da T2N0M0
Evre 2B	T2N1M0 ya da T3N0M0
Evre 3A	T0-2N2M0 ya da T3N1-2M0
Evre 3B	T4N0-2M0
Evre 3C	T1-4N3M0
Evre 4	T1-4N0-3M1

Tablo 8. Meme Kanseri Patolojik Evreleme(20).

Primer Tümör (pT)	
pTX	Primer tümör değerlendirilemiyor
pT0	Primer tümör kanıtı yok
pTis(DKİS)	Duktal Karsinoma İn Situ
pTis(Paget)	İnvaziv karsinom ve/veya DKİS+Paget
pT1	En büyük boyutu ≤20 mm olan tümör pT1mi: En büyük boyutu ≤1mm olan tümör pT1a: En büyük boyutu >1mm ≤5mm olan tümör pT1b: En büyük boyutu >5mm ≤10mm olan tümör pT1c: En büyük boyutu >10mm ≤20mm olan tümör
pT2	En büyük boyutu >20mm ≤50mm olan tümör
pT3	En büyük boyutu >50mm olan tümör
pT4	Göğüs duvarına ve/veya deriye yayılan herhangi boyutlu tümör pT4a: Göğüs duvarına yayılım, Göğüs duvarına invazyon olmadan pektoralis kasına invazyon ya da yapışıklıklar pT4b: Deride inflamatuvar karsinom kriterlerini karşılamayan, ülserasyon ve/veya ipsilateral makroskopik satellit nodül ve/veya ödem (portakal kabuğu görünümü dahil) pT4c:pT4a ve pT4b kriterleri birlikte olduğunda pT4d: İnflamatuvar Karsinom (İK)
Bölgesel Lenf Nodülü (pN)	
pNx	Bölgesel lenf nodülü değerlendirilemiyor
pN0	Bölgesel lenf nodülü metastazı saptanmadı ya da izole tümör hücreleri pN0(i+): Sadece izole tümör hücreleri olan lenf nodülü var pN0(mol+): RT-PCR ile pozitif bulgu veren izole tümör hücresi saptanmayan durum
pN1	pN1mi: Mikrometastaz içeren lenf nodülü veya nodülleri var pN1a:1-3 aksiller lenf nodülünde metastaz var, en az 1 tanesi makrometastaz (>2mm) pN1b: İpsilateral internal mammarian lenf nodülünde metastaz var pN1c: pN1a ve pN1b beraber
pN2	pN2a: 4-9 aksiller lenf nodülünde metastaz (en az 1 tümör depoziti >2mm olmalı) pN2b: İnternal mammarian lenf nodu metastazı

pN3	pN3a: 10 veya daha fazla aksiller lenf nodunda metastaz pN3b: pN3a+ pN2b varlığında (internal mammarian lenf nodu) pN3c: İpsilateral supraklavikular lenf nodüllerine metastaz
Uzak Metastaz	
pM1	Histolojik olarak kanıtlanan >2mm olan uzak metastazlar

6- Meme Kanseri Tedavisi

Meme kanseri için küratif amaçlı tedavi meme cerrahisi, radyoterapi ve adjuvan/neoadjuvan sistemik tedaviyi (sitotoksik kemoterapi, endokrin tedavisi ve hedefe yönelik ajanlar) ifade eder (40).

Erken evre hastalıkta cerrahi genellikle ilk tedavi müdahalesidir. Buna karşılık lokal ileri meme kanserleri (LİMK) genellikle ilk olarak sistemik tedaviyi takiben zamanında cerrahi, uygun adjuvan radyoterapi ve postoperatif sistemik tedavi ile yönetilir (41).

Sentinel Lenf Nodu Biyopsisi

Sentinel lenf nodu biyopsisi (SLNB) klinik olarak nod negatif olan öncelikle erken evre olmak üzere meme kanserli kadınlarda bölgesel lenf nodlarını değerlendirmek için kullanılır (37, 42).

Operasyon öncesinde subdermal enjeksiyonlar ile kanser bölgesinin yakınına veya subareolar lokasyona 3 ile 5 mL mavi boya (izosülfan mavi boya) enjekte edilir. Sentinel Lenf Nodu (SLN) ayrıca afferent lenf damarında ve lenf düğümünün kendisinde mavi boyanın görülmesiyle tanımlanır. SLN'nin eksizyonundan sonra, lenf nodu frozen kesit analizi için patoloji laboratuvarına gönderilir.

SLNB için en düşük yanlış negatif oranlar, tüm mavi lenf nodlarının eksize edildiğinde elde edilmiştir. Çalışmalar, dört SLN'nin çıkarılmasıyla tüm pozitif SLN'lerin %98'inin çıkarılmış olacağını göstermiştir; bu nedenle, aksillanın doğru evrelemesi için dörtten fazla SLN'nin çıkarılması gerekli değildir (13).

In situ Meme Kanserinde Tedavi

Hem LKIS hem de DKIS'yi atipik hiperplaziden veya erken invazyonu olan kanserlerden ayırt etmek zor olabilir.

LKIS da tedavinin amacı, bu kadınların %25 ile %35'inde daha sonra gelişen invaziv kanseri erken bir aşamada önlemek veya tespit etmektir. Çoğu durumda hastalık her iki memeyi de yaygın olarak tuttuğundan ve invaziv kanser geliştirme riski her iki meme için eşit olduğundan LKIS'i tek taraflı çıkarmanın faydası yoktur. LKIS tanısı alan kadınlarda risk azaltma stratejisi olarak tamoksifen kullanımı da düşünülmelidir.

DKIS olan ve yaygın hastalık kanıtı (>4 cm hastalık veya birden fazla kadranda hastalık) olan hastalarda genellikle mastektomi gerekir. Sınırlı hastalığı olanlar için genellikle lumpektomi ve radyasyon tedavisi önerilir.

ER pozitif hastalığı olan DKIS hastalarında adjuvan tamoksifen tedavisi düşünülür. DKIS için altın standart mastektomi veya meme koruyucu cerrahidir.

Sadece mastektomi ile tedavi edilen kadınlarda %2 lokal nüks ve mortalite oranı vardır.

DKIS için yapılan klinik çalışmalarda, radyasyon tedavisi olmaksızın meme koruyucu cerrahi veya mastektomi tedavisi alanlarda daha yüksek lokal nüks oranına sahip oldukları kaydedildi (13, 43).

Erken Evre Meme Kanserinde Tedavi

Erken evre invaziv meme kanseri, meme veya aksiller lenf düğümlerinin ötesine yayılmamış kanser olarak tanımlanmıştır. Buna evre I, IIA, IIB meme kanserleri dahildir ve karsinoma in situ hariç tutulmuştur.

Erken evre meme kanserinde ameliyat öncesi neoadjuvan tedaviler, ameliyat sonrası ise adjuvan tedaviler önerilebilir. Bu tedaviler meme kanseri nüksünü ve ölüm oranını azaltabilir, ancak diğer bazı hastalıklardan ölüm riskini artırabilir.

Evre I ve II meme kanseri tedavisinde lumpektomi ve radyasyon tedavisi, erken evre meme kanserli, unifokal hastalığı olan ve BRCA mutasyon taşıyıcısı olmayan kadınlarda tercih edilen tedavi yöntemi haline gelmektedir (44).

Onkoplastik olarak erken evre hastalığı olan çoğu hasta için mastektomi anında rekonstrüksiyon hemen yapılabilir. Erken rekonstrüksiyon cildin korunmasına izin verir, böylece kozmetik sonuçları optimize eder. Erken evre meme kanserinde bu yaklaşımın onkolojik güvenliğini öneren raporlarla birlikte meme başı-areola koruyucu

mastektomi kullanımına artan bir ilgi vardır. Postmastektomi radyasyon tedavisi planlanan hastalar, radyasyonun meme üzerindeki etkileri nedeniyle onkoplastik mastektomi için ideal aday olmayabilirler (13).

İleri Evre Meme Kanserlerinde Tedavi

İleri Evre meme kanserli hastalar Evre IIIA ve IIIB meme kanseri olan kadınlar ve lokal-bölgesel ileri meme kanseri olan hastalardır. Klinik olarak saptanmış uzak metastaz yoktur.

Bu hastalar için optimal lokal-bölgesel hastalıksız sağkalım ve ayrıca optimal uzak hastalıksız sağkalım sağlamak için cerrahi, radyasyon tedavisi ve kemoterapi ile kombine edilmiştir.

Lokal ileri evre III meme kanserli hastaların, özellikle östrojen reseptörü negatif tümörleri olan hastaların ilk yönetiminde ameliyat öncesi (neoadjuvan) kemoterapi düşünülmelidir.

Kemoterapi uzak hastalıksız sağkalımı en üst düzeye çıkarmak için kullanılırken, radyasyon tedavisi yerel-bölgesel kontrolü ve hastalıksız sağkalımı en üst düzeye çıkarmak için kullanılır.

Hem evre IIIA hem de IIIB hastalarda cerrahiyi adjuvan radyasyon tedavisi takip eder.

Klinik olarak, ER pozitif, lokal olarak ilerlemiş tümörler için, özellikle hastanın başka komorbid durumları varsa, birincil olarak endokrin tedavi düşünülebilir (13).

Uzak Metastaz Yapmış Evre IV Meme Kanserlerinde Tedavi

Evre IV meme kanseri tedavisi küratif değildir ancak hayatta kalma süresini uzatabilir ve yaşam kalitesini iyileştirebilir (45).

Daha önce meme koruyucu cerrahi ile tedavi edilmiş tümör nüksü olan hastalara mastektomi ve uygun rekonstrüksiyon uygulanır. Tümörün hormon reseptör durumuna ve HER2 durumuna göre kemoterapi ve anti östrojen tedavisi düşünülür (13, 45).

V- MİKRORNA ve LONG-NON CODİNG RNALAR

1- MikroRNALAR

MikroRNAlar ile ilgili Genel Bilgiler

RNA interference (RNAi) sistemi canlı hücrelerde genlerin aktivite ve etkilerini kontrol eden bir sistemdir.

3 çeşit RNAi mevcuttur:

- 1) Endojen kaynaklı mikro RNA (miRNA/miR)
- 2) Ekzojen kaynaklı small interfering RNA (siRNA)
- 3) Eşey hücrelerdeki piwi-interacting RNA (piRNA).

Mikro ribonükleik asitler (miRNA'lar) tek sarmallı, 20-24 nt uzunluğunda kodlanmayan RNA'lardır ve ökaryot hücrelerde bulunurlar. miRNA'lar spesifik genlere bağlanarak post-transkripsiyonel seviyede çeşitli genlerin ekspresyonunu düzenleyebilir ve böylece hücre proliferasyonu, farklılaşması, apoptoz gibi fizyolojik aktiviteler üzerinde çok önemli etkiler yaratabilirler. Son zamanlarda, çeşitli miRNA'ların meme kanseri patogenezi üzerinde hayati bir etki yaptığı ortaya konmuştur. miRNA'lar kanser üzerindeki etkilerini tümör supressör, onkogen veya hem tümör supressör hem onkogen olarak gösterirler (7).

Günümüzde insanlarda 2000'den fazla miRNA tespit edilmiş olup genomun %30'unu regüle ettiği tahmin edilmektedir (46).

Yukarı regüle edilmiş "onkojenik mikroRNA'lar", potansiyel tümör baskılayıcı genlerin ekspresyonunu engellerken, aşağı regüle edilmiş "tümör baskılayıcı mikroRNA'lar", tümör gelişiminden sorumlu aşağı akım sinyal yollarının artmasına neden olur. Her ikisi de kanserin gelişimini ve ilerlemesini teşvik edebilir (47).

miRNAların Oluşumu miRNA'lar, birbirini izleyen üç adımlık işlem süreci sonucunda meydana gelir. İlk aşamada miRNA genlerinden primer miRNA (primiRNA)'ların transkripsiyonu gerçekleşir. İkinci aşamada primiRNA'lar prekürsör miRNA (pre-miRNA)'lara nükleus içinde dönüştürülür. Üçüncü ve son aşamada olgun miRNA'ların sitoplazma içinde oluşumu tamamlanır (48).

miRNAların Fonksiyonu

Olgun mikroRNA'lar hedef genlerin ekspresyonunu azaltarak protein sentezinin düzenlenmesinde rol alırlar. miRNA'lar kendi nükleotid dizilerine karşı gelen hedef genleri tanıma özelliğine sahiptir.

Ayrıca, miRNA'ların her birinin birden fazla mRNA'nın ekspresyonunu düzenleyebildiği ve mRNA'ların her birinin de birden fazla miRNA tarafından hedeflenebildiği görülmektedir (49, 50).

miRNAların Çeşitli Hastalıklar ve Kanserde Rolü

Çeşitli çalışmalarda miRNAların bazı hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Onkoloji, nöroloji, kardiyoloji ve viroloji gibi birçok alanda çalışmalar devam etmekte olup, elde edilen sonuçlarla tedavi stratejileri değişmektedir (51, 52).

Nörolojik hastalıklara örnek olarak Huntington hastalığı ve Alzheimer verilebilir. Bu sebeple bu gen ürününü hedef alan tedavilerle bu tür hastalıkların tedavisinde umut vericidir (53).

Virolojik olarak HCV enfeksiyonları ve AIDS tedavisi için de oldukça önemli gelişmeler olmuştur. Ekzojen ve endojen kaynaklı olarak sentezlenmiş olan siRNA'ların, HIV replikasyonu, T lenfositler ve hematopoetik kök hücrelerinin ürettiği makrofajlar gibi birçok hücrede inhibisyona yol açtığı görülmüştür (54).

2003 yılında Michael ve arkadaşları, ilk olarak insanlardaki bazı tümörlerde (kolon ve rektum adenokarsinomlar) normal dokular ile karşılaştırıldığında ekspresyon seviyeleri değişmiş olan miRNA'ları rapor ettiler (55).

Daha sonraki yıllarda değişikliğe uğramış miRNA seviyeleri meme kanserinde, Burkitt's lenfomada, malign beyin tümörlerinde, tiroid kanserinde, akciğer kanserinde, prostat kanserinde ve hepatosellüler karsinomda keşfedilmiştir (56).

miRNA'lar, hedef mRNA'larının moleküler yollardaki özelliğine göre onkojenik veya tümörsüpresör özellik kazanabilir. Normal dokularda, miRNA'ların bazılarının protoonkogenlerin translasyonunu inhibe ettiği görülmektedir. Fonksiyonları onkogen ekspresyonunu kontrol etmek olan bu miRNA'lar "tümör süpresör miRNA'lar" (TS-mir) olarak ifade edilmektedir. Dolayısıyla tümör baskılayıcı miRNA'ların ekspresyonunun azalması onkojenin ekspresyonunun artmasına ve tümör oluşumuna sebep olur.

Tersi olarak, "onko-mir" olarak ifade edilen bazı miRNA'ların kanserin gelişimini arttırdığı görülmektedir. Bu miRNA'lar bir tümör süpresörün baskılanmasına sebep

olurlar. miRNA'lar, onkogen ve tümör süpresör mRNA'ların her ikisini de potansiyel hedef olarak görebilir. Bu yüzden, belirli bir miRNA'nın gerçek fonksiyonu ya TS-mir'in veya onko-mir'in hücrel içeriğine bağlıdır (47, 57).

MikroRNAların tanı ve prognozda rolü

Meme kanserinde erken tanıda kullanmak amaçlı yapılan miRNA çalışmalarında, birçok miRNA'da sağlıklı kontrollerle yapılan karşılaştırmada belirgin ekspresyon farkı görülmektedir (58).

Birçok çalışma, miRNA'nın meme kanseri riskini öngörme potansiyeli hakkında yeni bakış açısı gelişmesini sağlamıştır. Örneğin: MiR-155 ile ilgili bir meta-analiz miR155'in meme kanseri üzerinde son derece sensitif ve spesifik bir tanısal doğruluğu göstermiştir (59).

2- Long Non Coding RNAlar (lncRNA) lncRNAlar ile ilgili Genel Bilgiler

Uzun kodlamayan RNA'lar (lncRNA'lar), sınırlı protein kodlama potansiyeline sahip, 200 nükleotidden daha uzun transkriptlerin büyük bir heterojen RNA sınıfıdır. Serum/plazmada dolaşan lncRNA'lar, karmaşık in vivo ortamda bile RNAaz tarafından bozunmadıkları için nispeten kararlıdır (9).

lncRNA'lar ayrıca mRNA işlemeyi, transkripsiyon sonrası düzenlemeyi ve protein metabolizmasını da etkiler. lncRNA'ların düzensizliği, çeşitli kanserler, Alzheimer hastalığı, kardiyovasküler hastalıklar, otoimmün hastalıklar gibi çeşitli insan sağlığı sonuçlarının yanı sıra glikoz, lipid ve safra asidi homeostazı gibi aracı metabolizmalar ile ilişkilendirilmiştir.

lncRNA'lar, Watson veya Crick DNA ipliğinden kopyalanabilir ve intergenik, eksonik, enhancer bölgelerde veya protein kodlayan genlerin distal bölgelerinde olabilir.

mRNA'lara benzer şekilde, lncRNA'lar RNA polimeraz II (RNAPol II) tarafından kopyalanırlar, alternatif eklemeye tabi tutulabilirler, tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler) taşıyabilirler, 50 başlığa sahiplerdir ve genellikle poliadenilatlıdır (60).

IncRNAların Çeşitli Hastalıklar ve Kanserde Rolü

LncRNA'lar, hücre döngüsü düzenlemesinin ve tümör büyüme sinyalinin inhibisyonu yoluyla meme kanseri gelişiminin araçlarıdır. Örneğin lncRNA UCA1, meme kanseri ve kolorektal kanser hücrelerinde yukarı yönde regüle edilir (61).

LINK-A meme kanserinde anjiyogenezi teşvik eder (62).

GEREÇ VE YÖNTEM

Projede gerçekleştirilen bütün aşamalar Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak gerçekleştirildi ve 13.04.2021 tarihli 08 sayılı etik kurul kararı ile çalışmaya alınan hastalardan çalışma için gerekli bilgilendirilmiş onam alındı.

Çalışmamıza Pamukkale Üniversitesi Genel Cerrahi Kliniğinde opere olan neoadjuvan tedavi almamış, ek başka kanseri bulunmayan, erken evre meme kanseri olan hastalar katıldı. Dışlama kriterleri çıkartıldığında toplam 57 hastadan örnek toplandı. Hastalardan operasyon öncesi servise yatışları olduktan sonra 2 adet Sarı Kapaklı Vakumlu Plastik Jelli Tüp içerisinde 5-10cc olmak üzere kol üzerinden venöz kan örneği alınarak Tıbbi Biyoloji laboratuvarına gönderildi. Hastalardan alınan biyokimya tüpündeki kan örnekleri +4°C'de 2500 rpm de 10 dakika santrifüj edilerek serum eldesi gerçekleştirildi. Çalışma örneklerinin tamamlanmasına kadar elde edilen serumlar -80 °C de muhafaza edildi.

Deneysel çalışmalar Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yapıldı.

I- SERUM miRNA İZOLASYONU

Serum örneklerinden RNA izolasyonu için Serum miRNeasy Mini Kit (Qiagen) kullanılmıştır.

Serum örneklerinden 200 µl alınıp ve üzerine 1000 µl QIAzol Lizis Solüsyonu eklenmiştir ve pipetaj yapılarak karıştırılmıştır.

Lizati içeren tüpler oda sıcaklığından (15–25°C) 5 dakika bekletilmiştir.

200 µl kloroform lizatın üzerine eklenmiştir ve hızlıca vorteksenerek 15 saniye karıştırılmıştır.

Lizatı içeren tüp 2-3 dakika oda sıcaklığından bekletilmiştir.

Sonrasında 15 dakika 12,000 x g, 4°C'de santrifüj yapılmıştır. Santrifüj sonrası oluşan 3 fazdan RNA içeren beyaz ara faz yeni bir tüpe alınmıştır. Üzerine 1,5 katı kadar %100 etanol ilave edilmiştir ve pipetaj yapılarak karıştırılmıştır.

Yaklaşık 700 µl örnek RNeasy MinElute spin kolona aktarılmıştır. 8000 x g' de 15 saniye oda sıcaklığından santrifüj yapılmıştır. Kalan örnek için bu adım tekrarlanmıştır.

Sonrasında Spin kolon üzerine 700 µl RWT buffer eklenmiştir. 8000 x g' de 15 saniye oda sıcaklığından santrifüj yapılmıştır.

Spin kolon üzerine 500 µl RPE buffer eklenmiştir. 8000 x g' de 15 saniye oda sıcaklığından santrifüj yapılmıştır. Spin kolon üzerine 500 µl %80 etanol eklenmiştir. 8000 x g' de 15 saniye oda sıcaklığından santrifüj yapılmıştır.

Spin kolon 2 ml'lik yeni bir toplama tüpüne alınmıştır ve membranın kuruması için 5 dakika en yüksek devirde santrifüj yapılmıştır.

Spin kolon 1,5ml'lik yeni toplama tüpüne alınmıştır ve kolon membranının merkezine 14 µl RNase-free su eklenmiştir ve 1 dakika en yüksek devirde santrifüj yapılmıştır.

Yaklaşık 12 µl total RNA elde edilmiştir.

II- cDNA SENTEZİ

Ekspresyon analizi için cDNA dönüşümü gerçekleştirildi (Qiagen). Reaksiyon karışımı Tablo 9' da verilen miktarlarla hazırlanmıştır. **Tablo 9.** cDNA sentezi için hazırlanan reaksiyon karışımı

Madde	Miktar
5x HiFlex Buffer, 5x HiSpec Buffer	4 µl
10x MiScript Nucleics Mix,	2 µl
MiScript Reverse Transkriptaz Mix	2 µl
RNA	5 µl
dH2O	11 µl
Toplam	20µl

Hazırlanan reaksiyon karışımını içeren tüplerin 37°C derecede 60 dakika ve sonrasında 95°C derecede 5 dakika inkübasyonu ile reaksiyon gerçekleştirilmiştir.

BLACAT1, 18S RNA, hsa-miR-150-5p, hsa-miR-503, U6 snoRNA, CCR2, Bcl-

2 ve GAPDH'e özgün primer ve SYBR Green master mix (Qiagen 2X qPCR SYBRGreen MasterMix) ile Real-Time PCR gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon karışımı Tablo 10' da verilen miktarlarla hazırlanmıştır.

Tablo 10. Real-Time PCR reaksiyon karışımı

Madde	Miktar
SYBR green PCR mastermix	5 µl
Primer Mix	1 µl
cDNA	2,5 µl
dH ₂ O	2,5 µl
Toplam	10 µl

miR-1291 reaksiyon koşulları;

95°C 15 dakika

94°C 15 saniye,

60°C 30 saniye,

72°C 30 saniye

40 döngü

Ekspresyon değişimleri $2^{-\Delta\Delta CT}$ metodu ile belirlenmiştir.

III- İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Veriler SPSS paket programıyla analiz edildi. Sürekli değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma ve kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak verildi. Ayrıca sürekli değişkenlerin arasındaki ilişkiler Spearman ya da Pearson korelasyon analizleriyle ve kategorik değişkenler arasındaki farklılıklar ise Ki kare analizi ile incelendi.

PCR verilerinin analizi $\Delta\Delta CT$ metodu kullanılarak bilgisayar programı ile kantitasyonu yapıldı. Web tabanlı "RT² Profiler™ PCR Array Data Analysis"programında bulunan, Volcano Plot analizleri kullanıldı. Metodun amacı, iki ekspresyon sonucunun $\pm 3SD$ karşılaştırılması esasına dayanmaktadır. Böylelikle, gen ekspresyonunun karşılaştırılması yapılan durumlarda kontrol ve hasta grubu ilgili genlerin ekspresyon değerleri rölatif olarak belirlendi. Grupların karşılaştırılması "RT²

Profiler™ PCR Array Data Analysis" programında bulunan "Student t-testi" analizi ile istatistiksel olarak değerlendirildi.

BULGULAR

I- HASTALARIN ÖZELLİKLERİ

1- Hastaların Sosyodemografik Özellikleri

Çalışmamıza son 2 yılda Pamukkale Üniversitesi Genel Cerrahi Kliniğine başvuran yeni tanı meme kanserli hastalardan neoadjuvan kemoterapi almayan, ek kanseri olmayan erken evre meme kanserli 57 kadın hasta dahil edildi. Çalışmamıza dahil olan hastaların yaş ortalaması $53,15 \pm 12,82$, yaş aralığı: 27-88 di (Tablo 11).

Vücut Kitle İndeksi'ne göre değerlendirildiğinde hastaların ortalama VKİ: $28,2 \text{ kg/m}^2$ ydi. Hastaların 39'unun (%68,4) VKİ 30'dan küçük, 18'inin (%31,6) VKİ 30'dan büyük bulunmuştur (Tablo 11).

Hastaların reproduktif özellikleri incelendiğinde 5 hastanın (%8,8) hiç gebelik geçirmediği, 7 hastanın (%12,3) 1 gebelik geçirdiği, 25 hastanın (%43,9) 2 gebelik geçirdiği 20 hastanın (%35,1) 3 veya daha fazla gebelik geçirdiği görüldü. Gebelik geçiren hastaların 11'inin (%19,3) ilk gebeliklerinin 18 yaş ve altında, 26'sının (%45,6) ilk gebeliklerinin 18-25 yaş arasında, 15'inin (%26,3) ilk gebeliklerinin 25 yaş ve üstünde olduğu görüldü (Tablo 11).

Çalışmamıza dahil edilen 7 hastanın (%12,3) daha önce hiç emzirmediği, 12 hastanın (%21,1) daha önce 16 ay ve daha kısa süre emzirdiği, 19 hastanın (%33,3) 16-32 ay arasında emzirdiği, 19 hastanın (%33,3) ise 32 ay ve üzeri sürelerde emzirdiği görüldü.

Hastaların 45'i (%78,9) Menarş yaşının 13 yaş ve altında olduğunu, 12'si (%21,1) menarş yaşının 13 yaş üstünde olduğunu ifade etmiştir (Tablo 11).

Hastaların menstrüel siklusları değerlendirildiğinde 49 hastanın (%86,0) menstrüel sikluslarının düzenli olduğu, 8 hastanın (%14,0) menstrüel sikluslarının düzensiz olduğunu ifade etmiştir.

Çalışmamıza dahil edilen hastaların 29'u (%50,9) pre-menopozal, 28'i (%49,1) post-menopozal dönemdeydi (Tablo 11).

Hastaların 33'ünün (%57,9) herhangi bir komorbid hastalığı olmadığı, 24 hastanın (%42,1) DM, HT vb. komorbid hastalığı olduğu görüldü (Tablo 11).

Hastaların sigara ve alkol kullanma alışkanlıkları sorgulandığında 46 hastanın (%80,7) sigara içmediği, 11 hastanın (%19,3) sigara içtiği ve çalışmaya katılan hastaların tamamının alkol kullanmadığı görüldü (Tablo 11).

Hastaların 47'sinin (%82,5) daha önce oral kontraseptif kullanmadığı 10 hastanın (%17,5) daha önce oral kontraseptif kullandığı görülmüştür (Tablo 11).

Çalışmaya dahil edilen hastaların 43'ünün (%75,4) ailesinde meme kanseri hikayesi olmadığı görüldü. Hastaların 14'ünde (%24,6) ise ailesinde meme kanseri hikayesi mevcuttu (Tablo 11).

Tablo 11. Hastaların Sosyodemografik özellikleri

Sosyodemografik Veriler		Sayı	Yüzde (%)
Yaş Ortalaması: 53,15±12,82	18-30	2	3,5
	31-50	25	43,9
	51-65	22	38,6
	65+	8	14,0
Cinsiyet	Kadın	57	100

	Erkek	0	0
Vücut Kitle İndeksi	<30 kg/m ²	39	68,4
	≥30kg/m ²	18	31,6
Komorbid Hastalık (DM, HT vb.)	Komorbid hastalık yok	33	57,9
	Komorbid hastalık var	24	42,1
Sigara alışkanlıkları	Sigara içen	11	19,3
	Sigara içmeyen	46	80,7
Menarş	≤13 yaş	45	78,9
	>13 yaş	12	21,1
Menopoz	Pre-menopoz	29	50,9
	Post-menopoz	28	49,1
Oral Kontraseptif	Daha önce kullanmış	47	82,5
	Daha önce kullanmamış	10	17,5
Aile Öyküsü	Ailesinde meme kanseri olmayan	43	75,4
	Ailesinde meme kanseri olan	14	24,6
Tedavi	Segmental Mastektomi	15	26,3
	Mastektomi	25	43,9
	Modifiye Radikal Mastektomi (Mastektomi+ Aksiller Diseksiyon)	17	29,8

Çalışmamızdaki hastaların 15'ine (%26,3) segmental mastektomi, 25'ine (%43,9) mastektomi, 17'sine (%29,8) ise modifiye radikal mastektomi operasyonu yapıldı (Tablo 11).

Sentinel lenf nodu frozen incelemesinde hastaların 34'ünde (%59,7) lenf nodu metastazı saptanmadı. 23'ünde (%40,3) lenf nodu metastazı saptandı. Lenf nodu metastazı saptanan hastaların 6'sına (%26,1) aksiller diseksiyon yapılmazken 17'sine (%73,9) aksiller diseksiyon yapıldı.

Sentinel lenf nodu sonuçlarıyla patoloji parafinli sonuçlar kıyaslandığında çalışmamızda sadece 2 hastada (%3,5) sentinel lenf nodu frozen sonucu pozitif gelirken aksiller lenf nodları parafinli sonucu negatif gelmiş olup yalancı pozitif, sadece 3 hastada (%5,2) sentinel lenf nodu frozen sonucu negatif gelirken aksiller lenf nodları parafinli patoloji sonucu pozitif gelip yalancı negatif olarak bulundu.

2- Hastaların İmmunohistopatolojik Özellikleri

Hastalar TNM evrelendirme sistemine göre evrelendirildi. Hastaların 21'i (%36,8) Evre 1a, 21'i (%36,8) Evre 2a , 5'i (%8,8) Evre 2b, 7'si (%12,3) Evre 3a, 1'i (%1,8) Evre 3c, 2sinin de(%3,5) Evre 0 olduğu görüldü (Tablo 12).

Tablo 12. Hastaların Patolojik Evrelerine Göre Dağılımı

Patolojik Evre		Sayı	Görülme Yüzdesi (%)
	Evre 1a	21	36,8
	Evre 2a	21	36,8
	Evre 2b	5	8,8
	Evre 3a	7	12,3
	Evre 3c	1	1,8
	Evre 0	2	3,5
	Toplam	57	100,0

Tablo 13. Hastaların Histolojik Gradelere Göre Dağılımı

Histolojik Grade		Sayı	Yüzde (%)
	Grade 1	16	28,1
	Grade 2	32	56,1
	Grade 3	7	12,3
	İn situ	2	3,5
	Toplam	57	100,0

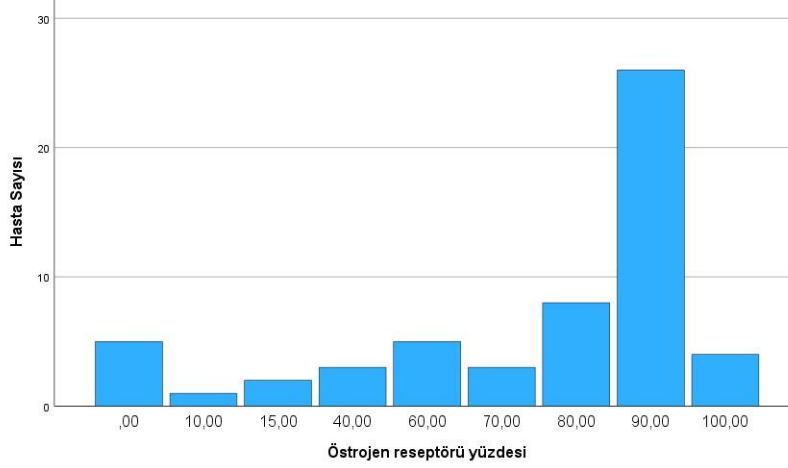
Tablo 14. Hastaların Histolojik Tiplerine Göre Dağılımı

Histolojik Tip		Sayı	Yüzde %
	İnvaziv Duktal Karsinom	42	73,7
	İnvaziv Lobüler Karsinom	4	7,0
	Mikst İnvaziv Karsinom	3	5,3
	Mikropapiller Karsinom	2	3,5
	Duktal Karsinoma İn situ	3	5,3
	İntrakistik Papiller Karsinom	2	3,5
	Müsinöz Karsinom	1	1,8
	Toplam	57	100,0

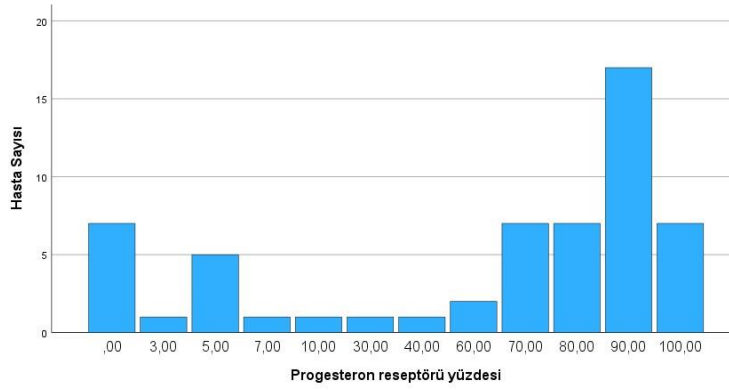
Hastalar hormon reseptör durumlarına göre luminal A, Luminal B, Her2 ve üçlü negatif alt tiplerine ayrıldı. Çalışmaya katılan hastaların 31'inin (%54,4) luminal A,

21'inin (%36,8) luminal B, 5'inin (%8,8) Her2 moleküler alt tip içerdiği görüldü. Çalışmamıza katılan hastalar arasında üçlü negatif alt tipli hasta mevcut değildi. Hastaların östrojen reseptör durumları Tablo 15'te, progesteron reseptör durumları Tablo 16'da moleküler alt tipleri Tablo 17'de özetlenmiştir.

Tablo 15. Hastaların Östrojen Reseptörlerine Göre Dağılımı



Tablo 16. Hastaların Progesteron Reseptörlerine Göre Dağılımı



Tablo 17. Hastaların Moleküler Sınıflandırılmasına Göre Dağılımı

Moleküler Subtip	Sayı	Yüzdesi (%)
Luminal A	31	54,4
Luminal B	21	36,8
HER2	5	8,8

	Toplam	57	100,0
--	--------	----	-------

II- EKSPRESYON ANALİZLERİ

Literatürde ekspresyon analizleri değerlendirilirken p değerine bakılması veya kat değişimlerinin anlamlılığı açısından tartışmalar mevcuttur. Ancak genel olarak p değerine bakılmaksızın 2 kattan fazla değişim anlamlı olarak kabul edilmektedir (63, 64).

Çalışmamızda pre operatif olarak alınan serum örneklerinde lncRNA BLACAT1, miR503-5p, miR 150-5p, ccr2, bcl2 ekspresyonları incelendi. Ekspresyon sonuçları sentinel lenf nodu sonuçlarıyla ve prognoz, tedavi gibi faktörlerle korelasyon açısından değerlendirildi. Ekspresyon analizlerinde 2 kattan fazla değişim, korelasyon analizlerinde $p < 0,05$ anlamlı kabul edildi.

1- Hastaların Sentinel Lenf Nodu Tutulumuna Göre Ekspresyon Analizi

Yaş ortalaması $53,15 \pm 12,82$ olan 57 hastada 34 (yaş ortalaması $54,73 \pm 12,13$) benign sentinel lenf nodu ve 23 (yaş ortalaması $50,8261 \pm 13,73$) malign sentinel lenf nodu saptanmıştır (p: 0,263).

lncRNA BLACAT1 ekspresyonu en az bir adet malign sentinel lenf nodu olan hastalarda sentinel lenf nodu tamamı benign olan hastalara göre yukarı yönde 1,32 kat oranında ekspresyon gösterdi (p: 0,7057).

miR-503-5p ekspresyonu en az bir adet malign sentinel lenf nodu olan hastalarda sentinel lenf nodu tamamı benign olan hastalara göre aşağı yönde 2,33 kat oranında ekspresyon gösterdi (p: 0,6880).

miR-150-5p ekspresyonu en az bir adet malign sentinel lenf nodu olan hastalarda sentinel lenf nodu tamamı benign olan hastalara göre aşağı yönde 1,26 kat oranında ekspresyon gösterdi (p: 0,5518).

bcl2 ekspresyonu en az bir adet malign sentinel lenf nodu olan hastalarda sentinel lenf nodu tamamı benign olan hastalara göre aşağı yönde 2,62 kat oranında ekspresyon gösterdi (p: 0,2212).

ccr2 ekspresyonu en az bir adet malign sentinel lenf nodu olan hastalarda sentinel lenf nodu tamamı benign olan hastalara göre aşağı yönde 1,58 kat oranında ekspresyon gösterdi (p: 0,2966).

Çalışmamızda miR-503-5p ve bcl2 apoptoz düzenleyici ekspresyonları sentinel lenf nodu tutulumuyla uyumlu 2 kattan fazla aşağı yönde eksprese olarak anlamlı bulunmuştur.

Tablo 18. Sentinel Lenf Noduna göre ekspresyon değişimleri (benign vs. malign).

	Malign lenf Nodu	P değeri
BLACAT1	1,32	0,7057
miR-503-5p	-2,33	0,6880
miR-150-5p	-1,26	0,5518
Bcl2	-2,62	0,2212
Ccr2	-1,58	0,2966

2- Hastaların Moleküler Sınıflandırmalarına Göre Ekspresyon Analizi

Moleküler sınıflandırmalarına bakıldığında 31 adet hastanın Luminal A, 21 adet Luminal B ve 5 adet HER2 olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızda lncRNA BLACAT 1in Luminal B tümörlerde diğer moleküler sub tiplere göre 3,04 kat yükselme (p:0,7791) ve HER2 tümörlerde 26,65 kat yükselmeyle (p: 0,0104) ile anlamlı bulunmuştur.

mir-503-5p Luminal B tümörlerde diğerlerine oranla 2,12 kat yüksek(p:0,6734), Her 2 tümörlerde 82,33 kat yüksek (p: 0,9693) eksprese edilerek anlamlı bulunmuştur. Ayrıca mir -150-5p Luminal B tümörlerde diğerlerine oranla 2,93 kat yüksek (p:0,9030) eksprese edilerek anlamlı bulunmuştur.

bcl2 Her 2 tümörlerde diğerlerine oranla 3,92 kat yüksek (p:0,0349) ve ccr2 Her2 tümörlerde diğerlerine oranla 3,99 kat yüksek (p:0,0441) eksprese olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo 19).

Tablo 19. Moleküler sınıflandırmaya göre ekspresyon kat değişimleri (luminal A kontrol).

	Luminal B	P değeri	HER2	P değeri
BLACAT1	3,04	0,7791	26,65	0,0104
miR-503-5p	2,12	0,6734	82,33	0,9693
miR-150-5p	2,93	0,9030	1,48	0,7133
Bcl2	1,12	0,8816	3,92	0,0349
Ccr2	-1,76	0,1215	3,99	0,0441

3- Hastaların Yaşına Göre Ekspresyon Analizi

Çalışmamızda BLACAT1 in 50 yaş altı hastalara göre 50 yaş üstü hastalarda 2,48 kat aşağı yönde (p 0,830), mir-150-5pnin 50 yaş altı hastalara göre 50 yaş üstü hastalarda 2,50 kat artış yönünde (p 0,163),

Bcl2 nin 50 yaş altı hastalara göre 50 yaş üstü hastalarda 3,21 kat artış yönünde (p 0,276),

Ccr2nin 50 yaş altı hastalara göre 50 yaş üstü hastalarda 2,84 kat artış yönünde (p 0,407) eksprese oldukları gözlenerek anlamlı olarak değerlendirildi.

Çalışmamızda mir-503-5pnin yaşla korele olmadığı gözlemlendi. 50 yaş üstü hastalarda 50 yaş altı hastalara oranla 1,39 kat artış yönünde eksprese olduğu gözlemlendi ve bu sonuç anlamsız olarak değerlendirildi (p 0,446) (Tablo 20).

Tablo 20. 50 yaş ve altı hasta (27 adet) vs. 50 yaş üstü hastalara (30 adet) göre ekspresyon analizleri.

	Yaşı 50 den büyük olanlar	P değeri
BLACAT1	-2,48	0,830
miR-503-5p	1,39	0,446
miR-150-5p	2,50	0,163
Bcl2	3,21	0,276
Ccr2	2,84	0,407

4- Hastaların Aile Öyküsüne Göre Ekspresyon Analizi

Çalışmamızda ailesinde meme kanseri olup olmayanlar sorgulandığında 43 hastada ailesinde meme kanseri öyküsü olmadığı, 14 hastada ise ailelerinde meme kanseri öyküsü olduğu gözlemlendi.

BLACAT1 in ailesinde meme kanseri öyküsü olan hastalarda ailesinde meme kanseri öyküsü olmayan hastalara göre 5,37 kat aşağı yönde (p: 0,230), miR-503-5pnin ailesinde meme kanseri öyküsü olan hastalarda ailesinde meme kanseri öyküsü olmayan hastalara göre 6,41 kat yukarı yönde (p: 0,040), mir-150-5pnin ailesinde meme kanseri öyküsü olan hastalarda ailesinde meme kanseri öyküsü olmayan hastalara göre 2,29 kat yukarı yönde (p 0,702) eksprese olduğu, bcl2 nin ailesinde meme kanseri öyküsü olan hastalarda ailesinde meme kanseri öyküsü olmayan hastalara göre 2,40 kat aşağı yönde (p 0,769), ccr2nin ailesinde meme kanseri öyküsü olan hastalarda ailesinde meme kanseri öyküsü olmayan hastalara göre 3,17 kat aşağı yönde (p 0,766) eksprese olduğu

gözlemlenmiş olup tüm ekspresyon analizinde kullanılan faktörlerin sonuçları anlamlı olarak değerlendirilmiştir (Tablo 21).

Tablo 21. Aile öyküsü olmayan (43 adet hasta) vs. aile öyküsü olan (14 adet) hastaya göre ekspresyon analizleri.

	Aile öyküsü olanlar	P değeri
BLACAT1	-5,37	0,230
miR-503-5p	6,41	0,040
miR-150-5p	2,29	0,702
Bcl2	-2,40	0,769
Ccr2	-3,17	0,766

5- Hastaların Ki-67 Yüzdelerine Göre Ekspresyon Analizi

Çalışmamızda mir-503-5p ekspresyonunda Ki-67 %20'den fazla sentezlenen hastalarda Ki-67 %20'den daha az sentezlenen hastalara göre 3,52 kat artış gösterirdi (p 0,639), mir-150-5p ekspresyonunda Ki-67 %20'den fazla sentezlenen hastalarda Ki-67 %20'den daha az sentezlenen hastalara göre 3,54 artış göstererek (p 0,982) anlamlı olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 22. ki-67 %20'nin altı (36 adet hasta) vs. ki-67 %20 ve üstü (21 adet hasta)ya göre ekspresyon analizleri

	Ki-67 %20'den fazla	P değeri
BLACAT1	1,47	0,132
miR-503-5p	3,52	0,639
miR-150-5p	3,54	0,982
Bcl2	1,02	0,437
Ccr2	-1,64	0,142

III- HASTA DEĞİŞKENLERİNİN VE EKSPRESYON ANALİZLERİNİN KORELASYONLARI

Mir 150-5p ile mir 503-5p arasında Pearson korelasyonuna göre pozitif anlamlı korelasyon (0,285) oranında anlamlı bulunmuştur (p 0,03).

BLACAT1 ile Moleküler sınıflandırma arasında negatif anlamlı korelasyon bulunmuştur (-0,418) (p 0,005). BLACAT1 ile Ki67 arasında negatif anlamlı

korelasyon bulunmuştur (-0,383) (p 0,010). BLACAT1 ile p63 arasında negatif anlamlı korelasyon saptanmıştır (-0,415) (p 0,005).

Bcl2 ile CCR2 arasında Pearson korelasyonuna göre pozitif anlamlı korelasyon bulunmuştur (0,696) (p < 0,05).

Yaş ile Ki-67 arasında negatif anlamlı korelasyon bulunmuştur (-0,295) (p 0,026). Yaş ile Sentinel Lenf Nodu Tutulumu arasında negatif anlamlı korelasyon bulunmuştur (-0,295) (p 0,026). Ki- 67 ile Sentinel Lenf Nodu Tutulumu arasında pozitif anlamlı korelasyon saptanmıştır (0,261) (p 0,050).

Histolojik tip ile değişkenler arasında korelasyon bulunamamıştır.

Mir 150-5p ile p 53 arasında negatif anlamlı korelasyon bulunmuştur (-0,336) (p 0,01).

TARTIŞMA

Çalışmamızda yeni tanı erken evre meme kanserli hastaların pre operatif serum örneklerinde sentinel lenf nodu metastazı ile ilişkili olabilecek, prediktif ve prognostik değer taşıma potansiyeli gösteren miRNAlar olan miR150-5p ve miR503-5p, lncRNA BLACAT1, bir kemokin reseptör proteini olan Ccr2, bir apoptoz regülatörü olan Bcl-2 çalışıldı.

Çalışmamızın primer amacı; erken evre meme kanserli hastaların operasyon öncesi serum örneklerinden meme kanseri prognozunda en önemli faktör olan aksiller metastazı değerlendirmek ve bu konuda yapılan çalışmalara katkı sağlamaktır. Çalışmamızın ikincil amacı pre operatif miRNA ve lncRNA oranlarının prediktif ve prognostik parametreler ile ilişkisini araştırmaktır.

Çalışmamızda pre operatif olarak alınan serum örneklerinde lncRNA BLACAT1, miR503-5p, miR 150-5p, ccr2, bcl2 ekspresyonları incelendi. Ekspresyon sonuçları

sentinel lenf nodu sonuçlarıyla ve prognoz ve tedavide önemli olan faktörlerle korelasyon açısından değerlendirildi. Çalışmamıza göre mir 503-5p'nin aksiller metastaz tahmini için kullanılan SLNB ye göre daha az invaziv bir yöntem olarak serum örneğinden ekspresyon analizi yapılarak kullanılabilirliği gösterilmiştir. Erken tanı, tedavi ve prognoz için önemli olan faktörlerle değerlendirildiğinde lncRNA BLACAT1 ve miR150-5p'nin serum örneklerinden ekspresyon analizi yapılarak kullanılabilirlikleri gösterilmiştir.

Literatürde nulliparite ve ilk gebelik yaşının meme kanseri riskini etkilemesiyle ilgili yayınlar mevcuttur. Ancak bu konudaki veriler değişkenlik göstermektedir.

Nindrea ve ark. 2017 yılında Güney Asya popülasyonu üzerine yaptıkları geniş volümlü bir meta analizde nullipar kadınların multipar kadınlardan %30 daha fazla meme kanseri riskine sahip olduğunu belirtmişlerdir (65).

Romieu ve ark. 2021 yılında Güney Afrika popülasyonu üzerine yaptıkları çalışmalarında; Sadece menopoz öncesi, HIV-negatif kadınlarda, ilk tam süreli gebelik yaşının geç olması, menarş ile ilk tam süreli gebelik arasındaki sürenin daha uzun olması, daha düşük meme kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir. Paritenin bu ilişkileri değiştirmedeği gösterilmiştir (66).

Bizim çalışmamızda; nullipar hasta oranı %8,8 iken hastaların %12,3'ünün 1 gebelik geçirdiği, %43,9'unun 2 gebelik geçirdiği, %35,1'inin 3 veya daha fazla gebelik geçirdiği görüldü. Ayrıca hastaların %19,3'ünün ilk gebeliklerinin 18 yaş ve altında, %45,6'sının ilk gebeliklerinin 18-25 yaş arasında, %26,3'ünün ilk gebeliklerinin 25 yaş ve üstünde olduğu saptandı.

Enger ve ark. 1997 yılında yaptıkları meme kanserinde emzirme ve risk faktörleri üzerine çalışmada 16 ay veya daha uzun süre emziren kadınların, hiç emzirmeyen kadınlara kıyasla meme kanserine yakalanma riskinin önemli ölçüde azaldığını gösterdi (67).

Çalışmamızda hastaların %12,3'ünün daha önce hiç emzirmedeği, %21,1'inin daha önce 16 ay ve daha kısa süre emzirdikleri %66,6'sının da 16 aydan daha fazla süre emzirdiği ifade etmiştir. Meme kanserinde emzirmenin risk azaltıcı olduğu

gösterilmiş olsa da çalışmamızda hastaların büyük çoğunluğu (%87,7) uzun süreli emzirme öyküsü tariflemiştir. Çalışmamızdaki hastaların tamamının meme kanserli olduğu bilgisi eşliğinde değerlendirilirse bu bilgi meme kanseri gelişiminde emzirmenin rolü hakkında bilgi vermemektedir. Bu konuda normal kontrol grubu ile kıyaslama gerekmektedir.

Kabat ve ark. 2017 yılında yaptıkları çalışmalarında hem obezite hem de metabolik olarak sağlıklı olmanın, meme kanseri riskinin artmasıyla bireysel olarak ilişkili olduğunu gösterdi (68).

Ewertz ve ark. 2011 yılında yaptıkları çalışmalarında; VKİ 30 kg/m² veya daha fazla olan hastaların, VKİ 25 kg/m²'nin altında olan hastalara kıyasla meme kanseri tanı anında daha yaşlı ve daha ilerlemiş hastalığa sahip olduklarını gösterdiler. Veriler hastalık özelliklerine göre düzenlendiğinde, VKİ 30 kg/m² veya daha fazla yükseldikçe meme kanserinden ölme riskinin %38 oranında önemli ölçüde arttığını gösterdiler. VKİ'leri 30 kg/m²'den fazla olan hastalarda hem kemoterapi hem de endokrin tedavisinin daha az etkili olduğu görüldü (69).

Çalışmamızdaki hastalar Vücut Kitle İndeksi'ne göre değerlendirildiğinde hastaların 39'unun (%68,4) VKİ 30'dan küçük, 18'inin(%31,6) VKİ 30dan büyük bulunmuştur. Hastalarımızın çoğunluğunun VKİ'nin 30dan küçük olması bu hastaların tedavi dirençleri ve sağ kalımları açısından umut verici olmuştur.

Literatürde menarş yaşının erken olmasının meme kanseri riskini arttırdığı üzerine yayınlar mevcuttur. Örneğin Hsieh ve ark. 1990 yılında yaptıkları çalışmalarında; Menarş yaşının hem menopoz öncesi hem de menopoz sonrası kadınlar için bir risk faktörü olduğunu, menarş yaşında 2 yıllık bir gecikmenin meme kanseri riskinde %10'luk bir azalmaya karşılık geldiğini gösterdi (70).

Song ve ark. 2022 yılında yaptıkları çalışmada erken menarşın meme kanseri riskini arttırdığını gösterdiler (71).

Çalışmamızda hastaların %78,9'unun menarş yaşının 13 yaş ve altında olduğu %21,1'inin menarş yaşının 13 yaş üstünde olduğu görüldü. Sonuçlar literatür ile uyumlu saptandı.

Land ve ark. 2014 yılında yaptıkları çalışmalarında; Sigara içmenin meme, akciğer, kolon kanseri riskinde artış yaptığını göstermiş, sigarayı bırakmanın ve fiziksel aktivitedeki artışın riskte azalma sağlayabileceğini göstermiştir (72).

Çalışmamızda hastaların %80,7'sinin aktif sigara içicisi olmadığı, %19,3'ünün aktif sigara içicisi olduğu saptandı. Çalışmamızda hastaların sadece aktif sigara tüketimleri sorgulandığı için bu oranlar literatürle uyumlu olmayabilir.

Iversen ve ark. 2017de yaptıkları çalışmalarında; Oral kontraseptif kullanımının meme kanseri riskini arttırdığı gözlemlenmiştir. Ayrıca; Mevcut ve yeni kullanıcılarda görülen meme ve serviks kanseri riskindeki artış, oral kontrasepsiyonun kesilmesinden sonraki yaklaşık 5 yıl içinde kaybolmuş gibi görünmüştür (73).

Çalışmamızda hastaların %82,5'inin daha önce oral kontraseptif kullanmadığı %17,5'inin daha önce oral kontraseptif kullandığı görüldü.

Caywood ve ark. 2005 yılında yaptıkları yaş ve sentinel lenf nodu metastazının ilişkisini değerlendirdikleri çalışmada; İnvaziv meme kanseri olan 810 hasta için veri mevcuttu. Hastaların yaşları 29 ile 95 arasında değişmekteydi ve ortalama yaş 66 idi. Rezeke edilen SLN sayısı 1 ile 6 arasında değişmekte olup, medyan değeri 2'dir. Bu hastaların %22'sinde SLN metastazı görülmüştür. Yaşlı hastalarda SLN metastazı olma olasılığı genç hastalardan daha azdı (74).

Köse E. ve Erdem. E'nin 2017 yılında kliniğimizde yaptıkları 30 hastalık SLNB çalışmalarında; Sentinel lenf nodu saptanan 30 hastanın 14'ünde (%46,7) sentinel lenf nodu tutulumu saptandı. Diğer 16 hastada (%53,3) sentinel lenf nodu tutulumu saptanmadı. Ayrıca bu çalışmada sentinel lenf nodu tespit oranı %88,2, doğruluk oranı %76,6, duyarlılık oranı %88,2 ve yanlış negatiflik oranı %10 olarak bulundu. (75).

Literatürde çeşitli çalışmalarda Sentinel lenf nodu tespit oranları %90-95 yalancı negatiflik oranları %5-10 arasında bulunmuştur (76).

Çalışmamızda toplam 57 hastanın 34'ünde (%59,6) benign sentinel lenf nodu ve 23'ünde (%40) malign sentinel lenf nodu saptanmıştır. Sentinel lenf nodu sonuçlarıyla patoloji parafinli sonuçlar kıyaslandığında çalışmamızda %3,5 yalancı

pozitiflik, %5,2 yalancı negatiflik saptandı. Bu veriler kliniğimizdeki daha önceki çalışmayla ve literatürle de uyumlu gözlenmiştir.

Ayrıca çalışmamızda yaş ile sentinel Lenf Nodu Tutulumu arasında negatif anlamlı korelasyon bulunmuştur. Yaşlı hastalarda sentinel lenf nodu tutulumu olma olasılığı gençlerden daha az bulunmuştur. Bu veriler literatürle uyumludur. Ancak çalışmamız hasta popülasyonunun erken evre meme kanserli oldukları bilgisi de göz önüne alınmalıdır.

Özemir ve ark. 2016 yılında yaptıkları çalışmalarında; 38 (%37,6) hastada metastatik lenf nodu saptandığı, 63 (%62,4) hastada negatif olduğu gözlemlendi. Sentinel lenf nodu metastazı Ki-67 $\geq$ %14 olan hastalarda Ki-67 $<$ %14 olan hastalardan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olarak gözlemlendi (77).

Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak Ki- 67 ile Sentinel Lenf Nodu Tutulumu arasında pozitif anlamlı korelasyon saptanmıştır. Ki-67 yüksek hastalarımızda daha yüksek sentinel lenf nodu tutulumu saptanmıştır. Bu bilgi aksiller metastaz, tedavi ve prognoz açısından ki-67nin önemini vurgular niteliktedir.

Zitong Zhao ve ark. 2017 yılında yaptıkları çalışmalarında klinikopatolojik verilerin analizi meme kanseri hastalarının dolaşımında önemli ölçüde daha yüksek bir miR-503-3p düzeyi tespit edildi ve miR-503-3p'nin aşırı ekspresyonunun lenf nodu metastazı ile korele olduğunu gösterdi (78).

Jianting Long ve ark. 2015 yılında yaptıkları çalışmalarında doku örneklerinde MiR-503 ekspresyonu, meme kanseri dokularında ve kanser hücre hatlarında aşağı yönde regüle edildiği gösterildi. Ayrıca MiR-503'ün meme kanserinin hücre çoğalmasını inhibe ettiği gösterildi (79).

Çalışmamızda hastaların sentinel lenf nodu frozen sonuçlarıyla ekspresyon analizleri yapıldığında; miR-503-5p ekspresyonunun en az bir adet malign sentinel lenf nodu olan hastalarda sentinel lenf nodu tamamı benign olan hastalara göre anlamlı olarak aşağı yönde 2,33 kat oranında ekspresyon gösterdiği saptandı.

Xiaopeng Hu ve ark. 2019 yılında yaptıkları çalışmalarında dokudan yapılan BLACAT1 ekspresyon analizlerinde BLACAT1 düzeylerinin meme kanseri dokularında normal dokulara göre daha yüksek olduğu gösterildi. Ayrıca meme kanseri dokularında daha yüksek BLACAT1 ekspresyonunun ve tümör evrelemesi ile ilişkili olduğunu gösterdi. BLACAT1 ekspresyonu yüksek olan meme kanseri hastalarında hayatta kalma süresi daha kısaydı. Ayrıca aynı çalışmada BLACAT1'in meme kanseri hücrelerinde miR-150-5p ekspresyonu baskıladığı, miR-150-5p yoluyla meme kanseri hücresi sağkalımını ve metastazını arttırdığı gözlemlendi (9).

Serum ekspresyon analizlerimizde lncRNA BLACAT1'in sentinel lenf nodu tutulumu olmayan hastalara göre 1,32 kat daha fazla ekspresyon gösterdiği bulundu. Ancak bu sonuç anlamlı olarak değerlendirilmemiştir. Daha anlamlı bir sonuç için lncRNA BLACAT1 ekspresyonuna serum örneğinden değil de doku örneğinden bakılması gerektiği düşünülmüştür.

Yine Xiaopeng Hu ve ark. 2019 yılında yaptıkları yukarıda ismi geçen çalışmada miR-150' nin meme kanseri hücrelerinde CCR2 ekspresyonunu baskıladığı gözlemlendi. Bu çalışma doku örneklerinde BLACAT1-miR-150 CCR2 yolağında ekspresyon artışı göstererek meme kanseri metastazında rol aldıklarını gösterdi (9).

Bruna M. Sugita ve ark. 2022 yılında yaptıkları çalışmalarında meme kanseri dokularında ve normal dokularda miR-150-5p'nin ekspresyon seviyeleri, RT-qPCR ile değerlendirildi. MiR-150-5p, normal dokulara kıyasla tümör dokularında önemli ölçüde yukarı yönde regüle edildiği gösterildi. Tutarlı bir şekilde, eşleştirilmiş örneklerde miR-150-5p ekspresyonunun analizi, miR-150-5p'nin üçlü negatif meme kanseri ve üçlü negatif olmayan meme kanseri dokularında ilgili normal dokulara kıyasla yukarı regüle edildiğini gösterdi (80).

Qingfu Lu ve ark. 2019 yılında Çin'de yaptıkları çalışmada yine doku örneklerinde mir 150-5p'nin meme kanserli hastalarda ekspresyonunun arttığını gösterdi (81).

Çalışmamızda mir 150-5p nin sentinel lenf nodu tutulumu olanlarda sentinel lenf nodu tutulumu olmayanlara göre 1,56 oranında daha az eksprese olduğu, ccr2'nin ise 1,58 oranında daha az eksprese olduğu gözlemlendi. Bu yolak kendi içerisinde mir 150-

5p ccr2 ilişkisi açısından tutarlı olsa da 2 kattan daha az değişim gösterdiği için anlamsız olarak değerlendirildi. Yine BLACAT1 örneğinde olduğu gibi serumdan alınan örneklerin mir150-5p ccr2 yolağında yetersiz olduğu, dokudan alınan örneklerin daha anlamlı sonuçlar doğurabileceği şeklinde yorumlanabilir.

Çalışmamızda serum analizlerinde bcl-2'nin sentinel lenf nodu tutulumu olan hastalarda sentinel lenf nodu tutulumu olmayanlara oranla 2,62 kat daha az eksprese olduğu gözlemlendi. Bu sonuç anlamlı olarak değerlendirildi. Sentinel lenf nodu tutulumu olan hastaların serumlarında bcl-2 ekspresyonunun daha yüksek olduğu saptandı.

Literatürde meme kanseri hastalarında moleküler sınıflandırma alt tiplerinin görülme oranlarına bakıldığında, Eliyatkin N. ve ark. 2015 yılında yaptıkları çalışmada luminal A alt tipini %50, luminal B alt tipini %20 oranında saptamışlardır. Her2 grubu ve üçlü negatif grubun görülme sıklıklarını ise %15 ile birbirlerine benzer olarak saptamışlardır (5).

Kumar ve ark. 2015 yılında yaptıkları 56 meme kanserli hastada moleküler sınıflandırma istatistiklerini değerlendirdikleri retrospektif çalışmada; yaş ortalaması 50,5 olan hastaların çoğu evre II (%54) olarak tanı almış olup Luminal A alt tipi en yaygın (%34) bulunmuştur, ardından %25 ile Bazal benzeri/Üçlü negatif alt tipin Luminal B ve Her2/neu alt tipleri ile aynı prevalansa %18'e sahip olduğunu göstermişlerdir (82).

Pandit ve ark. 2020 yılında yaptıkları toplam 2062 adet hastada moleküler alt tipler ve hormon reseptörleri prevalans çalışmalarında; Luminal A alt tipi 762 (%37) hastada pozitif bulunurken, Luminal B alt tipi 157 (%7,6) hastada mevcuttu. 537 (%26) hastada bazal benzeri alt tip, 229 (%11,1) hastada HER2'den zengin alt tip görüldü. Luminal A alt tipi insidansının yaşla birlikte arttığı gözlemlendi. Bazal benzeri alt tip insidansı ise 30 yaş altındaki hastalarda (%52) en yüksekti (83).

Özmen V. 2014 yılında yaptığı çalışmasında tümörlerin alt tip analizi, %62'sinin tip luminal A olduğunu gösterdi. Bunu, luminal B (%15), üçlü negatif (%15) ve HER-2 pozitif (%8,5) alt tipleri izledi (84).

Bizim çalışmamızda hastaların %54'ünün Luminal A, %36'sının Luminal B ve %8'inin HER2 alt tipi olduğu bulundu. Çalışmamıza katılan 57 hastada üçlü negatif gruptan hastaya rastlanmadı. Bu veriler ülkemiz verileriyle uyumlu olarak gözlemlendi. Çalışmamızda seçtiğimiz hasta grupları erken evre meme kanserli olgular olduğu için hasta sayısı ve moleküler alt tiplerin görülme yüzdelerinin düşük olmasının, çalışmamızın kısmen küçük bir örneklem grubunda yapılması ile ilişkili olduğunu düşünmekteyiz.

Literatürde çeşitli lncRNAların meme kanseriyle olan ilişkisi incelenmiştir. Moleküler alt tiplere özel lncRNA incelemeleri daha nadirdir. Shaath ve ark. 2021 yılında yaptıkları çalışmalarında; Üçlü Negatif Meme kanserli hastalarda özellikle dört lncRNA: SGO1-AS1, HMMR-AS1, LINC00511 ve transkript ENST00000650510 belirlemiştir. Meme kanserli hastalarda hormon reseptörleriyle sınıflandırmanın tek başına yetersiz olduğu bunun alternatif markerlarla desteklenmesi gerekliliği sonucuna varmışlardır (85).

LncRNA BLACAT1 in de meme kanseriyle ilişkisiyle ilgili çalışmalar bulunsa da moleküler sınıflandırma ile ilişkisini kıyaslayan çalışma bulunamamıştır.

Çalışmamızda lncRNA BLACAT 1; Luminal B tümörlerde diğer moleküler sub tiplere göre 3,04 kat ve HER2 tümörlerde 26,65 kat ile anlamlı olarak yükselme göstermiştir. Bu bilgi lncRNA BLACAT1'in moleküler sınıflandırma kriterlerinde hormon reseptörlerine ek olarak kullanılabilirliği açısından önemli olarak değerlendirilmiştir.

Literatürde çeşitli miRNAların moleküler sınıflandırmalarla ilişkisi gözlemlenmiştir. Ancak mir-150-5p ve mir-503-5p'nin meme kanserinde moleküler sınıflandırma ile ilişkisini gösteren veri bulunamamıştır. Rolf Søkilde ve ark. 2019 yılında yaptıkları çalışmalarında meme kanseri moleküler alt tipleri arasında önemli ölçüde farklı olarak ifade edilen toplam 655 mikroRNA belirlediler (86).

Çalışmamızda mir-503-5p Luminal B tümörlerde diğerlerine oranla 2,12 kat ve Her 2 tümörlerde 82,33 kat yüksek eksprese edilerek anlamlı bulunmuştur. Ayrıca mir

-150-5p Luminal B tümörlerde diğerlerine oranla 2,93 kat yüksek eksprese edilerek anlamlı bulunmuştur. Luminal B ve Her2 tümörlerin Luminal A tümörlere göre daha kötü prognozla uyumlu olduğu göz önüne alınırsa mir-503-5p ve mir-150-5p nin artmış ekspresyonlarının prognoz açısından önemli sonuçlar doğurabileceği düşünülmüştür.

Anna Kawiak ve ark. 2021 yılında yaptıkları çalışmalarında Bcl-2'nin aşırı ekspresyonu, çeşitli meme kanseri alt tiplerinde gözlemlenmiştir. Bcl-2, luminal tip meme kanserlerinde en belirgin şekilde yukarı regüle edildiği gösterilmiştir. Bcl-2'nin meme kanseri hastalarında önemli bir prognostik belirteç olduğu ve olumlu bir sonuçla ilişkili olduğu gösterilmiştir (87).

Hwang ve ark. 2017 yılında yaptıkları çalışmalarında pozitif BCL2 ekspresyonu olan hastalar Luminal A ve Luminal B moleküler tiplerde genel olarak daha yüksek oranlar gösterdi. Sonuç olarak, BCL2'nin prognostik etkisi meme kanserinin moleküler alt tipleri arasında farklıydı ve özellikle ileri aşamalarda güçlü bir prognostik etkiye sahipti (88).

Banin-Hirata ve ark. 2016 yılında yaptıkları ccr-2 ve Her2 meme kanseri ilişkisini inceledikleri çalışmada; CCR2-V64I alel varyantı ile HER2 immünohistokimyasal pozitif örnekler arasında anlamlı bir korelasyon bulundu. Sonuç olarak, CCR2 reseptör gen polimorfizmi ile kötü prognozla ilişkili Her2 alt grubu arasında pozitif bir korelasyon göstermişlerdir (89).

Çalışmamızda bcl2 Her 2 tümörlerde diğerlerine oranla 3,92 kat yüksek ve ccr2 Her2 tümörlerde diğerlerine oranla 3,99 kat yüksek eksprese olarak anlamlı bulunmuştur. Bu sonuçlara göre Bcl-2 ve CCR2nin moleküler sınıflandırmada Her2 alt tip ayırıcı tanısında da kullanılabilirliğini göstermiştir. Bu bilgiler literatürle de uyumlu olarak değerlendirilmiştir.

Literatürle meme kanseri veya diğer kanser hastalarında yaş ile lncRNA BLACAT1 ilişkisi açısından anlamlı korelasyon saptayan çalışmaya rastlanmamıştır. Liao ve ark. 2018 yılında yaptıkları lncRNA BLACAT1 papiller tiroid kanseri üzerine çalışmalarında lncRNA BLACAT1 ile ekstrasitroidal yayılım, yaş, tümör boyutu veya ileri TNM evresi arasında bir korelasyon bulunmadı (90).

Çalışmamızda BLACAT1 in 50 yaş altı hastalara göre 50 yaş üstü hastalarda 2.48 kat aşağı yönde anlamlı olarak eksprese olduğu gözlenmiştir. Bu sonuca göre yaş azaldıkça lncRNA BLACAT1 ekspresyonun arttığı görülmüştür. Bu açıdan çalışmamız lncRNA BLACAT1 ekspresyonu değerlendirilirken yaş faktörünün de göz önüne alınması konusunda önemli bir bilgi sunmaktadır.

Çalışmamızda mir-150-5p'nin meme kanserli hastalarda; 50 yaş altı hastalara göre 50 yaş üstü hastalarda 2,50 kat artış yönünde anlamlı olarak eksprese olduğu gözlenmiştir. Bu bulgu miR-150-5p ekspresyonun yaşlı hastalarda daha fazla olduğuna işaret etmektedir.

Çalışmamızda Bcl2 nin 50 yaş altı hastalara göre 50 yaş üstü hastalarda 3,21 kat artış yönünde, Ccr2nin 50 yaş altı hastalara göre 50 yaş üstü hastalarda 2,84 kat artış yönünde eksprese oldukları gözlenerek anlamlı olarak değerlendirildi. Bu sonuçlara göre yaş arttıkça Bcl2 ve Ccr2 ekspresyonlarının arttığı kanıtlanmıştır.

Çalışmamızda mir-503-5p'nin yaşla korele olmadığı gözlemlendi. 50 yaş üstü hastalarda 50 yaş altı hastalara oranla 1,39 kat artış yönünde eksprese olduğu gözlemlendi ve bu sonuç anlamsız olarak değerlendirildi. Bu sonuç literatürle de uyumlu olarak gözlemlendi.

Ameh-Mensah ve ark. 2021 yılında yaptıkları bcl-2,p53,ki-67 nin üçlü negatif meme kanserli hastalarda ekspresyonlarının ilişkilerini değerlendirdikleri çalışmada her ne kadar bcl-2, p53 Ki-67nin moleküler subtipler, histolojik grade ile ilişkisi gösterilse de aile kanser öyküsü ile ilişki açısından değerlendirilmediği gözlemlenmemiştir (91).

Gong ve ark. 2018 yılında akciğer kanserli hastalarda yaptıkları çalışmalarında lncRNA FEZF-AS1'in komşu kanserli olmayan dokulara kıyasla tümör dokularında önemli ölçüde yukarı regüle edildiğini ve yüksek ekspresyonunun ileri evreler ve aile geçmişi ile korele olduğunu gösterdi (92).

Literatürde lncRNAların ve miRNAların aile öyküsüyle korelasyonları açısından az da olsa çalışmalar mevcuttur. Ancak BLACAT1 ve miR-503-5p ile aile hastalık öyküsü arasında korelasyon açısından çalışma bulunamamıştır.

Çalışmamızda lncRNA BLACAT1 in ailesinde meme kanseri öyküsü olan hastalarda ailesinde meme kanseri öyküsü olmayan hastalara göre 5,37 kat aşağı yönde, miR-503-5p'nin ailesinde meme kanseri öyküsü olan hastalarda ailesinde meme kanseri öyküsü olmayan hastalara göre 6,41 kat yukarı yönde mir-150-5p'nin ailesinde meme kanseri öyküsü olan hastalarda ailesinde meme kanseri öyküsü olmayan hastalara göre 2,29 kat yukarı yönde eksprese olduğu gözlenmiştir.

Bu bilgiler eşliğinde BLACAT1, miR-150-5p ve miR-503-5p nin aile öyküsünde meme kanseri olan hastalarda daha fazla eksprese olduğu gözlenmiştir. Daha önce incelenmemiş bir bilgi olarak bu bilgi lncRNA ve miRNA araştırmalarında genetik geçmişin de önemli bir bilgi olarak yer alması gerekliliğini göstermiştir.

bcl2 nin ailesinde meme kanseri öyküsü olan hastalarda ailesinde meme kanseri öyküsü olmayan hastalara göre 2,40 kat aşağı yönde ccr2'nin ailesinde meme kanseri öyküsü olan hastalarda ailesinde meme kanseri öyküsü olmayan hastalara göre 3,17 kat aşağı yönde eksprese oldukları gözlemlenmiştir. Ailesinde meme kanseri olan hastalarda bcl2 ve ccr2 nin ekspresyonlarının azaldığı görülmüştür. Bu markerların kanserlerin genetik geçiş mekanizmasındaki tümör süpresör-onkojenik rolleri ile ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda mir-503-5p ekspresyonunda Ki-67 %20den fazla sentezlenen hastalarda Ki-67 %20den daha az sentezlenen hastalara göre 3,52 kat artış göstererek ve mir-150-5p ekspresyonunda Ki-67 %20den fazla sentezlenen hastalarda Ki-67 %20den daha az sentezlenen hastalara göre 3,54 artış göstererek anlamlı olarak değerlendirilmiştir.

Bu bilgi eşliğinde değerlendirilirse miR-503-5p ve miR-150-5p'nin ekspresyonlarının ki-67 artışıyla uyumlu olarak yükseldiği gözlenmiştir. Bu bilgi ki-67 nin miRNAların kanser gelişim mekanizmasına etkisi açısından literatürü destekler niteliktedir.

Çalışmamızda miR 150-5p ile miR 503-5p arasında Pearson korelasyonuna göre pozitif anlamlı korelasyon bulunmuştur. miR150-5p ekspresyonu arttıkça miR503-5p ekspresyonları da artmaktadır. Bu bulgu yukarıdaki çalışmayla uyumsuz olsa da çeşitli miRNA ların birbiriyle ilişkileri gösterilmiş olup kanser gelişiminde miRNA rollerinin birbiriyle farklı ilişkiler içerisinde rol alabileceğini göstermektedir.

Literatürde başka kanserlerde değerlendirmeler bulunsa da meme kanserinde BLACAT1 ile Kİ67 arasındaki ilişkiyi gösteren çalışma bulunamamıştır. Çalışmamızda BLACAT1 ile Kİ67 arasında negatif anlamlı korelasyon bulunmuştur. BLACAT1 ekspresyonları ne kadar düşükse Ki-67 oranları o kadar yüksek çıkmıştır. Bu bilgi lncRNA'ların meme kanseri gelişiminde rolü ve etkileşimleri açısından yeni bir bilgi olarak daha fazla araştırma gerekliliğini göstermektedir.

Çalışmamızda meme kanserli hastalarımızda yaş ile Ki-67 arasında negatif anlamlı korelasyon bulunmuştur. Meme kanserli hastalarda yaş arttıkça Kİ-67 oranlarının daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Bu bilgi kanser araştırmalarında yaşın histopatolojik değerlendirme kriterlerine etkisi açısından önemi açısından önemli bir bulgudur.

Çalışmamızda Mir 150-5p ile p 53 arasında negatif anlamlı korelasyon bulunmuştur. miR-150-5p ekspresyonu düştükçe p53 yüzdesi artmıştır. Bu bulgu miR150-5p'nin kanser gelişim mekanizmasındaki rolleri açısından anlamlı bir bilgi olarak literatüre katkı sağlamaktadır.

Çalışmamızda BLACAT1 ile p63 arasında negatif anlamlı korelasyon saptanmıştır. BLACAT1 ekspresyonu azaldıkça p63 boyanmasının arttırdığı gözlenmiş olup bu da daha önce araştırılmamış bir korelasyon açısından önemli bir bulgu olarak değerlendirilmelidir.



SONUÇ

Erken evre meme kanseri tanısı alan, herhangi bir ek kanseri olmayan, neoadjuvan kemoterapi almayan 57 hastada, meme kanseri ile ilişkilendirilen miRNAlar (miR-503-5p, miR150-5p) lncRNA BLACAT1, bcl2, ccr2'nin operasyon öncesi serum örneklerindeki ekspresyon seviyelerinin klinik ve patolojik parametreler ile ilişkisinin özellikle de sentinel lenf nodu tutulumu ile ekspresyon seviyelerindeki değişiminin incelendiği bu çalışmanın sonuçlarına göre;

- 1- Hastaların Sentinel lenf nodu frozen sonuçlarıyla ekspresyon analizleri yapıldığında sadece miR-503-5p ekspresyonu en az bir adet malign sentinel lenf nodu olan hastalarda sentinel lenf nodu tamamı benign olan hastalara göre aşağı yönde 2,33 kat oranında ekspresyon gösterdi (p: 0,6880) diğer markerlarda anlamlı fark bulunamadı.

2- Tedavi ve Prognozda önemli olan moleküler Subtiplere göre değerlendirildiğinde

- lncRNA BLACAT 1in Luminal B tümörlerde diğer moleküler sub tiplere göre 3,04 kat yükselme (p:0,7791) ve HER2 tümörlerde 26,65 kat yükselme (p: 0,0104) ile anlamlı bulunmuştur.
- miR-503-5p Luminal B tümörlerde diğerlerine oranla 2,12 kat yüksek (p:0,6734), Her 2 tümörlerde 82,33 kat yüksek (p: 0,9693) eksprese edilerek anlamlı bulunmuştur.
- miR -150 Luminal B tümörlerde diğerlerine oranla 2,93 kat yüksek (p:0,9030) eksprese edilerek anlamlı bulunmuştur.
- bcl2 Her 2 tümörlerde diğerlerine oranla 3,92 kat yüksek (p:0,0349),
- ccr2 Her2 tümörlerde diğerlerine oranla 3,99 kat yüksek (p:0,0441) eksprese olarak anlamlı bulunmuştur.

3- Prognoz açısından önemli olan yaş ile korelasyon değerlendirildiğinde

- Çalışmamızda BLACAT1 in 50 yaş altı hastalara göre 50 yaş üstü hastalarda 2,48 kat aşağı yönde (p 0,830) eksprese olduğu gözlemlenip anlamlı olarak bulunmuştur.
- Mir-150-5pnin 50 yaş altı hastalara göre 50 yaş üstü hastalarda 2,50 kat artış yönünde (p 0,163) eksprese olduğu gözlenerek anlamlı olarak değerlendirildi.
- Bcl2'nin 50 yaş altı hastalara göre 50 yaş üstü hastalarda 3,21 kat artış yönünde (p 0,276) eksprese olduğu gözlenerek anlamlı olarak değerlendirildi.
- Ccr2nin 50 yaş altı hastalara göre 50 yaş üstü hastalarda 2,84 kat artış yönünde (p 0,407) eksprese olduğu gözlenerek anlamlı olarak değerlendirildi.
- mir-503-5pnin yaşla korele olmadığı gözlemlendi. 50 yaş üstü hastalarda 50 yaş altı hastalara oranla 1,39 kat artış yönünde eksprese olduğu gözlemlendi ve bu sonuç anlamsız olarak değerlendirildi (p 0,446).

4- Erken tanı için önemli olan Aile öyküsü ile korelasyon değerlendirildiğinde;

- Çalışmamızda BLACAT1 in ailesinde meme kanseri öyküsü olan hastalarda ailesinde meme kanseri öyküsü olmayan hastalara göre

5,37 kat aşağı yönde anlamlı olarak eksprese oldukları gözlemlenmiştir (p: 0,230).

- miR-503-5p'nin ailesinde meme kanseri öyküsü olan hastalarda ailesinde meme kanseri öyküsü olmayan hastalara göre 6,41 kat yukarı yönde anlamlı olarak eksprese oldukları gözlemlenmiştir (p: 0,040).
- mir-150-5p'nin ailesinde meme kanseri öyküsü olan hastalarda ailesinde meme kanseri öyküsü olmayan hastalara göre 2,29 kat yukarı yönde anlamlı olarak eksprese oldukları gözlemlenmiştir (p 0,702).
- bcl2'nin ailesinde meme kanseri öyküsü olan hastalarda ailesinde meme kanseri öyküsü olmayan hastalara göre 2,40 kat aşağı yönde anlamlı olarak eksprese oldukları gözlemlenmiştir (p 0,769).
- ccr2'nin ailesinde meme kanseri öyküsü olan hastalarda ailesinde meme kanseri öyküsü olmayan hastalara göre 3,17 kat aşağı yönde anlamlı olarak eksprese oldukları gözlemlenmiştir (p 0,766).
- Tüm ekspresyon analizinde kullanılan faktörlerin sonuçları anlamlı olarak değerlendirilmiştir.

5- Tanı, Tedavi ve Prognozda önemli olan Ki-67 ile korelasyon değerlendirildiğinde

- Çalışmamızda mir-503-5p ekspresyonunda Ki-67 %20'den fazla sentezlenen hastalarda Ki-67 %20'den daha az sentezlenen hastalara göre 3,52 kat artış göstererek anlamlı olarak değerlendirilmiştir (p 0,639).
- mir-150-5p ekspresyonunda Ki-67 %20'den fazla sentezlenen hastalarda Ki-67 %20'den daha az sentezlenen hastalara göre 3,54 artış göstererek (p 0,982) anlamlı olarak değerlendirilmiştir.
- Diğer ekspresyon değerlendirilen BLACAT1, bcl-2, CCR2 de anlamlı fark gözlemlenmemiştir.

Sonuç olarak çalışmamızda, erken evre meme kanseri tanısı alan, herhangi bir ek kanseri olmayan, neoadjuvan kemoterapi almayan hastalarda meme kanseri ile ilişkilendirilen miRNAlar (miR-503-5p, miR150-5p) lncRNA BLACAT1, bcl2, ccr2'nin

operasyon öncesi serum örneklerindeki ekspresyon seviyeleri incelenmiştir. Bu parametrelerin operasyon öncesi serum örneklerinde değişiklikleri gösterilmiştir.

Çalışmamızda, meme kanserlerinde erken tanı, tedavi, aksiller metastaz ve prognoz açısından klinisyenlere kılavuzluk edebilecek, prediktif ve prognostik potansiyeli olan bazı miRNA'lar, lncRNA BLACAT1, bcl2, ccr2 tespit edilmiştir.

Çalışmamıza göre serum mir 503-5p ekspresyonunun aksiller metastaz tespiti için kullanılan SLNB ye göre daha az invaziv ek bir yöntem olarak kullanılabileceği düşünülmüştür. Erken tanı, tedavi ve prognoz için önemli olan faktörlerle değerlendirildiğinde, lncRNA BLACAT1, miR 503-5p ve miR150-5p'nin erken evre meme kanserli, neoadjuvan kemoterapi almamış hastaların serum örneklerinden bakılarak tanı, tedavi ve prognoz açısından fikir sunabileceği düşünülmüştür. Bu konuda ileri araştırmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin. 2021;71(3):209-49.
2. Charalampoudis P, Markopoulos C, Kovacs T. Controversies and recommendations regarding sentinel lymph node biopsy in primary breast cancer: A comprehensive review of current data. Eur J Surg Oncol. 2018;44(1):5-14.
3. Jin H, Du W, Huang W, Yan J, Tang Q, Chen Y, et al. lncRNA and breast cancer: Progress from identifying mechanisms to challenges and opportunities of clinical treatment. Mol Ther Nucleic Acids. 2021;25:613-37.
4. Loh HY, Norman BP, Lai KS, Rahman N, Alitheen NBM, Osman MA. The Regulatory Role of MicroRNAs in Breast Cancer. Int J Mol Sci. 2019;20(19).

5. Eliyatkin N, Yalcin E, Zengel B, Aktas S, Vardar E. Molecular Classification of Breast Carcinoma: From Traditional, Old-Fashioned Way to A New Age, and A New Way. *J Breast Health*. 2015;11(2):59-66.
6. Tan PH, Ellis I, Allison K, Brogi E, Fox SB, Lakhani S, et al. The 2019 World Health Organization classification of tumours of the breast. *Histopathology*. 2020;77(2):181-5.
7. Catalanotto C, Cogoni C, Zardo G. MicroRNA in Control of Gene Expression: An Overview of Nuclear Functions. *Int J Mol Sci*. 2016;17(10).
8. Dempsey JL, Cui JY. Long Non-Coding RNAs: A Novel Paradigm for Toxicology. *Toxicol Sci*. 2017;155(1):3-21.
9. Hu X, Liu Y, Du Y, Cheng T, Xia W. Long non-coding RNA BLACAT1 promotes breast cancer cell proliferation and metastasis by miR-150-5p/CCR2. *Cell Biosci*. 2019;9:14.
10. Qu R, Hu C, Tang Y, Yu Q, Shi G. Long Non-coding RNA BLACAT1 Induces Tamoxifen Resistance in Human Breast Cancer by Regulating miR-503/Bcl-2 Axis. *Cancer Manag Res*. 2020;12:1771-7.
11. Spina E, Cowin P. Embryonic mammary gland development. *Semin Cell Dev Biol*. 2021;114:83-92.
12. Jesinger RA. Breast anatomy for the interventionalist. *Tech Vasc Interv Radiol*. 2014;17(1):3-9.
13. C. Parker C, Damodaran S, Bland KI, Hunt KK. The Breast. In: Brunicardi FC, Andersen DK, Billiar TR, Dunn DL, Kao LS, Hunter JG, et al., editors. *Schwartz's Principles of Surgery*, 11e. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2019.
14. Stachs A, Stubert J, Reimer T, Hartmann S. Benign Breast Disease in Women. *Dtsch Arztebl Int*. 2019;116(33-34):565-74.
15. Orr B, Kelley JL, 3rd. Benign Breast Diseases: Evaluation and Management. *Clin Obstet Gynecol*. 2016;59(4):710-26.
16. Farshid G, Buckley E. Meta-analysis of upgrade rates in 3163 radial scars excised after needle core biopsy diagnosis. *Breast Cancer Res Treat*. 2019;174(1):165-77.
17. Dupont WD, Page DL. Risk factors for breast cancer in women with proliferative breast disease. *N Engl J Med*. 1985;312(3):146-51.
18. Key TJ, Verkasalo PK, Banks E. Epidemiology of breast cancer. *Lancet Oncol*. 2001;2(3):133-40.
19. Qiu R, Zhong Y, Hu M, Wu B. Breastfeeding and Reduced Risk of Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Comput Math Methods Med*. 2022;2022:8500910.
20. Meme Kanseri Korunma, Tarama, Tanı, Tedavi ve İzlem Klinik Rehberi In: Müdürlüğü SHG, Araştırma GvSTDDDB, editors. Online: T.C. Sağlık Bakanlığı; 2020.
21. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast C. Menarche, menopause, and breast cancer risk: individual participant meta-analysis, including 118 964 women with breast cancer from 117 epidemiological studies. *Lancet Oncol*. 2012;13(11):1141-51.
22. Magnusson C, Baron JA, Correia N, Bergstrom R, Adami HO, Persson I. Breast-cancer risk following long-term oestrogen- and oestrogen-progestinreplacement therapy. *Int J Cancer*. 1999;81(3):339-44.
23. Hunter DJ, Spiegelman D, Adami HO, Beeson L, van den Brandt PA, Folsom AR, et al. Cohort studies of fat intake and the risk of breast cancer--a pooled analysis. *N Engl J Med*. 1996;334(6):356-61.

24. Smith-Warner SA, Spiegelman D, Yaun SS, van den Brandt PA, Folsom AR, Goldbohm RA, et al. Alcohol and breast cancer in women: a pooled analysis of cohort studies. *JAMA*. 1998;279(7):535-40.
25. Hildreth NG, Shore RE, Dvoretzky PM. The risk of breast cancer after irradiation of the thymus in infancy. *N Engl J Med*. 1989;321(19):1281-4.
26. Pharoah PD, Day NE, Duffy S, Easton DF, Ponder BA. Family history and the risk of breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cancer*. 1997;71(5):800-9.
27. Freeman MD, Gopman JM, Salzberg CA. The evolution of mastectomy surgical technique: from mutilation to medicine. *Gland Surg*. 2018;7(3):308-15.
28. Gotzsche PC, Nielsen M. Screening for breast cancer with mammography. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006(4):CD001877.
29. TRD. TRD Meme Kanseri Tarama Rehberi. In: TRD TRD, editor. <https://www.turkrad.org.tr/assets/DernektenHaberler-Pdf/TRD-Meme-TaramaRehberi.pdf>: Türk Radyoloji Derneği TRD; 2021.
30. Huang ML, Adrada BE, Candelaria R, Thames D, Dawson D, Yang WT. Stereotactic breast biopsy: pitfalls and pearls. *Tech Vasc Interv Radiol*. 2014;17(1):32-9.
31. O'Flynn EA, Wilson AR, Michell MJ. Image-guided breast biopsy: state-of-the-art. *Clin Radiol*. 2010;65(4):259-70.
32. Neal L, Sandhu NP, Hieken TJ, Glazebrook KN, Mac Bride MB, Dilaveri CA, et al. Diagnosis and management of benign, atypical, and indeterminate breast lesions detected on core needle biopsy. *Mayo Clin Proc*. 2014;89(4):536-47.
33. Hanna WC, Demyttenaere SV, Ferri LE, Fleiszer DM. The use of stereotactic excisional biopsy in the management of invasive breast cancer. *World J Surg*. 2005;29(11):1490-4; discussion 5-6.
34. Cserni G. Histological type and typing of breast carcinomas and the WHO classification changes over time. *Pathologica*. 2020;112(1):25-41.
35. Prat A, Pineda E, Adamo B, Galvan P, Fernandez A, Gaba L, et al. Clinical implications of the intrinsic molecular subtypes of breast cancer. *Breast*. 2015;24 Suppl 2:S26-35.
36. Nascimento RGdO, Kaléu Mormino. Histological and molecular classification of breast cancer: what do we know? *Mastology*. 2020; 30: 1-8, 2020.
37. Wilke LG, Giuliano A. Sentinel lymph node biopsy in patients with early-stage breast cancer: status of the National Clinical Trials. *Surg Clin North Am*. 2003;83(4):901-10.
38. Sainsbury R. The Breast: Comprehensive Management of Benign and Malignant Disorders. *Br J Cancer*. 91: Copyright © 2004 Cancer Research UK.; 2004. p. 1754.
39. Amin MB, Greene FL, Edge SB, Compton CC, Gershenwald JE, Brookland RK, et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin*. 2017;67(2):93-9.
40. Mutebi M, Anderson BO, Duggan C, Adebamowo C, Agarwal G, Ali Z, et al. Breast cancer treatment: A phased approach to implementation. *Cancer*. 2020;126 Suppl 10:2365-78.
41. Cardoso F, Costa A, Norton L, Senkus E, Aapro M, Andre F, et al. ESO-ESMO 2nd international consensus guidelines for advanced breast cancer (ABC2). *Breast*. 2014;23(5):489-502.

42. Bass SS, Lyman GH, McCann CR, Ku NN, Berman C, Durand K, et al. Lymphatic Mapping and Sentinel Lymph Node Biopsy. *Breast J.* 1999;5(5):288-95.
43. Morrow M, Van Zee KJ, Solin LJ, Houssami N, Chavez-MacGregor M, Harris JR, et al. Society of Surgical Oncology-American Society for Radiation Oncology-American Society of Clinical Oncology Consensus Guideline on Margins for Breast-Conserving Surgery With Whole-Breast Irradiation in Ductal Carcinoma In Situ. *J Clin Oncol.* 2016;34(33):4040-6.
44. Kerr AJ, Dodwell D, McGale P, Holt F, Duane F, Mannu G, et al. Adjuvant and neoadjuvant breast cancer treatments: A systematic review of their effects on mortality. *Cancer Treat Rev.* 2022;105:102375.
45. Favret AM, Carlson RW, Goffinet DR, Jeffrey SS, Dirbas FM, Stockdale FE. Locally advanced breast cancer: is surgery necessary? *Breast J.* 2001;7(2):131-7.
46. Christodoulatos GS, Dalamaga M. Micro-RNAs as clinical biomarkers and therapeutic targets in breast cancer: Quo vadis? *World J Clin Oncol.* 2014;5(2):71-81.
47. Wang W, Luo YP. MicroRNAs in breast cancer: oncogene and tumor suppressors with clinical potential. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2015;16(1):18-31.
48. Kwak PB, Iwasaki S, Tomari Y. The microRNA pathway and cancer. *Cancer Sci.* 2010;101(11):2309-15.
49. Sun W, Julie Li YS, Huang HD, Shyy JY, Chien S. microRNA: a master regulator of cellular processes for bioengineering systems. *Annu Rev Biomed Eng.* 2010;12:1-27.
50. Pillai RS. MicroRNA function: multiple mechanisms for a tiny RNA? *Rna.* 2005;11(12):1753-61.
51. Care A, Catalucci D, Felicetti F, Bonci D, Addario A, Gallo P, et al. MicroRNA133 controls cardiac hypertrophy. *Nat Med.* 2007;13(5):613-8.
52. Cameron JE, Yin Q, Fewell C, Lacey M, McBride J, Wang X, et al. EpsteinBarr virus latent membrane protein 1 induces cellular MicroRNA miR-146a, a modulator of lymphocyte signaling pathways. *J Virol.* 2008;82(4):1946-58.
53. Gonzalez-Alegre P. Therapeutic RNA interference for neurodegenerative diseases: From promise to progress. *Pharmacol Ther.* 2007;114(1):34-55.
54. Aagaard L, Rossi JJ. RNAi therapeutics: principles, prospects and challenges. *Adv Drug Deliv Rev.* 2007;59(2-3):75-86.
55. Michael MZ, SM OC, van Holst Pellekaan NG, Young GP, James RJ. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Mol Cancer Res.* 2003;1(12):882-91.
56. Saydam F Dİ, Güneş HV. MikroRNA'lar ve kanser. *Dicle Tıp Dergisi.* 2011;38(2011; 38 (1): 113-120).
57. Cowland JB, Hother C, Gronbaek K. MicroRNAs and cancer. *APMIS.* 2007;115(10):1090-106.
58. Kodahl AR, Lyng MB, Binder H, Cold S, Gravgaard K, Knoop AS, et al. Novel circulating microRNA signature as a potential non-invasive multi-marker test in ERpositive early-stage breast cancer: a case control study. *Mol Oncol.* 2014;8(5):87483.
59. Wang F, Hou J, Jin W, Li J, Yue Y, Jin H, et al. Increased circulating microRNA-155 as a potential biomarker for breast cancer screening: a meta-analysis. *Molecules.* 2014;19(5):6282-93.

60. Alam T, Medvedeva YA, Jia H, Brown JB, Lipovich L, Bajic VB. Promoter analysis reveals globally differential regulation of human long non-coding RNA and protein-coding genes. *PLoS One*. 2014;9(10):e109443.
61. Huang J, Zhou N, Watabe K, Lu Z, Wu F, Xu M, et al. Long non-coding RNA UCA1 promotes breast tumor growth by suppression of p27 (Kip1). *Cell Death Dis*. 2014;5(1):e1008.
62. Lin A, Li C, Xing Z, Hu Q, Liang K, Han L, et al. The LINK-A lncRNA activates normoxic HIF1alpha signalling in triple-negative breast cancer. *Nat Cell Biol*. 2016;18(2):213-24.
63. BUTTE AJ, YE J, HÄRING HU, STUMVOLL M, WHITE MF, KOHANE IS. DETERMINING SIGNIFICANT FOLD DIFFERENCES IN GENE EXPRESSION ANALYSIS. *Biocomputing* 2001. p. 6-17.
64. McCarthy DJ, Smyth GK. Testing significance relative to a fold-change threshold is a TREAT. *Bioinformatics*. 2009;25(6):765-71.
65. Nindrea RD, Aryandono T, Lazuardi L. Breast Cancer Risk From Modifiable and Non-Modifiable Risk Factors among Women in Southeast Asia: A Meta-Analysis. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2017;18(12):3201-6.
66. Romieu I, Biessy C, Joffe M, Cubasch H, Norris S, Vorster HH, et al. Reproductive factors and risk of breast cancer in black South African women. *Cancer Causes Control*. 2021;32(4):415-22.
67. Enger SM, Ross RK, Henderson B, Bernstein L. Breastfeeding history, pregnancy experience and risk of breast cancer. *Br J Cancer*. 1997;76(1):118-23.
68. Kabat GC, Kim MY, Lee JS, Ho GY, Going SB, Beebe-Dimmer J, et al. Metabolic Obesity Phenotypes and Risk of Breast Cancer in Postmenopausal Women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2017;26(12):1730-5.
69. Ewertz M, Jensen MB, Gunnarsdóttir K, Højris I, Jakobsen EH, Nielsen D, et al. Effect of obesity on prognosis after early-stage breast cancer. *J Clin Oncol*. 2011;29(1):25-31.
70. Hsieh C-C, Trichopoulos D, Katsouyanni K, Yuasa S. Age at menarche, age at menopause, height and obesity as risk factors for breast cancer: Associations and interactions in an international case-control study. *International Journal of Cancer*. 1990;46(5):796-800.
71. Song SS, Kang S, Park S. Association of Estrogen-Related Polygenetic Risk Scores with Breast Cancer and Interactions with Alcohol Intake, Early Menarche, and Nulligravida. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2022;23(1):13-24.
72. Land SR, Liu Q, Wickerham DL, Costantino JP, Ganz PA. Cigarette smoking, physical activity, and alcohol consumption as predictors of cancer incidence among women at high risk of breast cancer in the NSABP P-1 trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2014;23(5):823-32.
73. Iversen L, Sivasubramaniam S, Lee AJ, Fielding S, Hannaford PC. Lifetime cancer risk and combined oral contraceptives: the Royal College of General Practitioners' Oral Contraception Study. *Am J Obstet Gynecol*. 2017;216(6):580.e1.e9.
74. Caywood J, Gray RJ, Hentz J, Pockaj BA. Older Age Independently Predicts a Lower Risk of Sentinel Lymph Node Metastasis in Breast Cancer. *Annals of Surgical Oncology*. 2005;12(12):1061-5.
75. Kose E, Erdem E. Meme kanserinde sentinel lenf nodu uygulaması: 30 vakanın analizi. *Arch Clin Exp Med* 2017;2(1):9-14. 2017;2(1).
76. Kataria K, Srivastava A, Qaiser D. What Is a False Negative Sentinel Node Biopsy: Definition, Reasons and Ways to Minimize It? *Indian J Surg*. 2016;78(5):396401.

77. Ozemir IA, Orhun K, Eren T, Baysal H, Sagiroglu J, Leblebici M, et al. Factors affecting sentinel lymph node metastasis in Turkish breast cancer patients: Predictive value of Ki-67 and the size of lymph node. *Bratisl Lek Listy*. 2016;117(8):436-41.
78. Zhao Z, Fan X, Jiang L, Xu Z, Xue L, Zhan Q, et al. miR-503-3p promotes epithelial-mesenchymal transition in breast cancer by directly targeting SMAD2 and E-cadherin. *J Genet Genomics*. 2017;44(2):75-84.
79. Long J, Ou C, Xia H, Zhu Y, Liu D. MiR-503 inhibited cell proliferation of human breast cancer cells by suppressing CCND1 expression. *Tumour Biol*. 2015;36(11):8697-702.
80. Sugita BM, Rodriguez Y, Fonseca AS, Nunes Souza E, Kallakury B, Cavalli IJ, et al. MiR-150-5p Overexpression in Triple-Negative Breast Cancer Contributes to the In Vitro Aggressiveness of This Breast Cancer Subtype. *Cancers (Basel)*. 2022;14(9).
81. Lu Q, Guo Z, Qian H. Role of microRNA-150-5p/SRCIN1 axis in the progression of breast cancer. *Exp Ther Med*. 2019;17(3):2221-9.
82. Kumar N, Patni P, Agarwal A, Khan MA, Parashar N. Prevalence of molecular subtypes of invasive breast cancer: A retrospective study. *Medical Journal Armed Forces India*. 2015;71(3):254-8.
83. Pandit P, Patil R, Palwe V, Gandhe S, Patil R, Nagarkar R. Prevalence of Molecular Subtypes of Breast Cancer: A Single Institutional Experience of 2062 Patients. *Eur J Breast Health*. 2020;16(1):39-43.
84. Ozmen V. Breast Cancer in Turkey: Clinical and Histopathological Characteristics (Analysis of 13.240 Patients). *J Breast Health*. 2014;10(2):98-105.
85. Shaath H, Elango R, Alajez NM. Molecular Classification of Breast Cancer Utilizing Long Non-Coding RNA (lncRNA) Transcriptomes Identifies Novel Diagnostic lncRNA Panel for Triple-Negative Breast Cancer. *Cancers*. 2021;13(21):5350.
86. Søkilde R, Persson H, Ehinger A, Pirroni AC, Fernö M, Hegardt C, et al. Refinement of breast cancer molecular classification by miRNA expression profiles. *BMC Genomics*. 2019;20(1):503.
87. Kawiak A, Kostecka A. Regulation of Bcl-2 Family Proteins in Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer and Their Implications in Endocrine Therapy. *Cancers (Basel)*. 2022;14(2).
88. Hwang KT, Han W, Kim J, Moon HG, Oh S, Song YS, et al. Prognostic Influence of BCL2 on Molecular Subtypes of Breast Cancer. *J Breast Cancer*. 2017;20(1):54-64.
89. Banin-Hirata BK, Losi-Guembarovski R, Oda JMM, de Oliveira CEC, Campos CZ, Mazzuco TL, et al. CCR2-V64I genetic polymorphism: a possible involvement in HER2+ breast cancer. *Clinical and Experimental Medicine*. 2016;16(2):139-45.
90. Liao D, Lv G, Wang T, Min J, Wang Y, Liu S. Prognostic value of long noncoding RNA BLACAT1 in patients with papillary thyroid carcinoma. *Cancer Cell Int*. 2018;18:47.
91. Ameh-Mensah C, Duduyemi BM, Bedu-Addo K, Atta Manu E, Opoku F, Titiloye N. The Analysis of bcl-2 in Association with p53 and Ki-67 in Triple Negative Breast Cancer and Other Molecular Subtypes in Ghana. *J Oncol*. 2021;2021:7054134.
92. Gong W, Cao Y, Wang Y, Yang L, Su W, Qiu F, et al. Upregulation of lncRNA FEZF-AS1 is associated with advanced clinical stages and family history of cancer in patients with NSCLC. *Pathology - Research and Practice*. 2018;214(6):857-61.

