

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ GENEL CERRAHİ
ANABİLİM DALI

**ORTA KARADENİZ BÖLGESİNDE
METİLENTETRAHİDROFOLAT REDÜKTAZ GEN
POLİMORFİZMİ VE MEME KANSERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. EMİR FATİH KAYA

SAMSUN/2013

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ GENEL CERRAHİ
ANABİLİM DALI

**TÜRK POPÜLASYONUNDA METİLENTETRAHİDROFOLAT
REDÜKTAZ GEN POLİMORFİZMİ VE MEME KANSERİ
ARASINDAKİ İLİŞKİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. EMİR FATİH KAYA

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. ALİ NAKİ ULUSOY

SAMSUN/2013

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam sürecinde emek, destek, hoşgörü ve sabrını esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr. Ali Naki ULUSOY'a,

Tez çalışmam sürecinde emek destek, hoşgörü ve yönlendirmesiyle yardımını esirgemeyen Tıbbi Biyoloji A.B.D.'nden Doç.Dr.Nurten KARA ve Yrd. Doç. Dr. Nevin BALCI KARAKUŞ'a

Genel Cerrahi eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşıp, eğiten başta Anabilim dalı başkanı Prof. Dr. Kenan ERZURUMLU olmak üzere tüm değerli öğretim üyelerine,

Asistanlığım boyunca bana verdikleri destek ve dostluklarını minnetle anacağım Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nın tüm araştırma görevlilerine ve personeline,

Bu zorluklarla dolu eğitim sürecim boyunca hep yanımda olan sevgisinden güç aldığım eşim Funda ve kızım Sude Naz'a,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Emir Fatih KAYA

İÇİNDEKİLER	Sayfa
İÇİNDEKİLER	IV
TABLO LİSTESİ	VI
ŞEKİL LİSTESİ	VI
KISALTMALAR	VII
ÖZET	VIII
İNGİLİZCE ÖZET	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. MEME KANSERİ TARİHÇE	3
2. 2.MEME KANSERİ EPİDEMİYOLOJİ	8
2. 3. MEME KANSERİ RİSK FAKTÖRLERİ	10
2. 3. 1. Yaş	10
2. 3. 2. Cinsiyet	11
2. 3. 3. Irk	11
2. 3. 4. Hormonal Durum	11
2. 3. 5. Meme Hastalığı Öyküsü	13
2. 3. 6. Diyet ve Hayat Tarzı	13
2. 3. 7. Radyasyona Maruziyet	14
2. 3 .8. Sosyoekonomik Seviyenin Yüksekliği	16

3. FOLAT METABOLİZMASI	17
3. 1. ALKOL , SİĞARA KULLANIMI VE FOLAT STATUSU	19
3.2. KARSİNOGENEZDE ANORMAL DNA METİLASYONUNUN ROLÜ	20
3.3. MTHFR GENİ C677T POLİMORFİZMİ	21
4. GEREÇ VE YÖNTEM	23
5.BULGULAR	28
6. TARTIŞMA VE SONUÇ	33
7. KAYNAKLAR	41

TABLolar

Tablo 1 : MTHFR geni PCR 'ı için her bir örnek başına oluşturulan reaksiyon karışımı.....	31
Tablo 2 : MTHFR geni RFLP için her bir örnek başına oluşturulan reaksiyon karışımı.....	32
Tablo 3 : Meme kanserli hastaların demografik özelliklerinin dağılımı, genotip sonuçları ve p değerleri.....	35
Tablo 4 : MTHFR gen polimorfizminin genotip ve allel dağılımlarının hasta ve kontrollerde karşılaştırılması.....	37
Tablo 5 : Türk populasyonunda MTHFR C667T (rs1801133, Ala222Val) polimorfizmi ile meme kanseri arasındaki ilişkiyi inceleyen olgu-kontrol çalışmalarının özellikleri.....	44
Tablo 6 : Türk populasyonunda MTHFR C667T (rs1801133, Ala222Val) polimorfizmi ile meme kanseri arasındaki ilişkinin OR, %95CI ve p değerlerinin özetleri.....	45

ŞEKİLLER

Şekil 1 : Homosistein'in transsülfürasyon ve remetilasyon metabolize yolları.....	24
---	----

KISALTMALAR

MTHFR :Metilentetrahidrofolat Redüktaz

PCR : Polimeraz zincir reaksiyonu

RFLP : Restriksiyon enzimleri kullanılarak DNA'nın farklı büyüklükteki fragmanlara ayrılması

DNA : Deoksiribonükleik asit

RNA : Ribonükleik asit

WHO : Dünya sağlık örgütü

SNP : Single (tek) nükleotit polimorfizm

MÖ : Milattan önce

MS : Miladdan sonra

YY : Yüzyıl

TNM : Tümör sınıflama sistemi

SLNB : Sentineel lenf nodu biopsisi

CGH : Komperatif genom hibridizasyonu

SAM : S-adenozil L-metiyonin

DNMT : DNA (sitozin-5)-metil transferaz

THF : Tetrahidrofolat

EDTA : Etilendiamin tetraasetik asit

ÖZET

Meme kanseri 2006 T.C. sağlık bakanlığı verilerine göre kadınlarda en sık görülen kanserdir. Amerika Birleşik Devletleri 2011 verilerine göre her 8 kadından biri yaşam boyu meme kanseri riski ile karşı karşıya kalacaktır. MTHFR (Metilentetrahidrofolat redüktaz), 5,10-metilentetrahidrofolat'ı , 5-metiltetrahidrofolat'a indirgeyen, homosistein'in metionin'e çevrilmesinde bir karbon donör olarak işlev gören bir enzimdir. MTHFR ,DNA sentezi ,DNA tamiri ve metilasyonda önemli bir role sahip olan ,folat metabolizmasının düzenlenmesinde anahtar bir enzimdir. Bu çalışmada meme kanseri ve MTHFR gen polimorfizmi arasındaki ilişki araştırılmıştır.

Periferik kandan DNA izolasyonları yapılan 199 hasta ve 195 kontrol , PCR-RFLP yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen sonuçların değerlendirilmesinde ; hasta ve kontrollerin genotip ve allel sıklıkları karşılaştırılmış istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Genotiplerden, CC+CT'ye karşılık TT veya CC'ye karşılık CT+TT karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak bir ilişki tesbit edilmedi. Ancak meme kanserinin bir tipi olan infiltratif duktal karsinomlu hastalarda MTHFR geni C677T polimorfizmi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu gözlemlenmiştir. (p=0.038) İstatistiksel olarak anlamlı olmasada TT homozigot bireylere, hasta popülasyonunda kontrollere göre daha sık rastlanmıştır.

ABSTRACT

Breast cancer is the most common cancer in women according to data from the Ministry of Health of Turkey in 2006. According to data in 2011, one of every eight women in the United States will be faced with risk of breast cancer in a lifetime. MTHFR is an enzyme that reduces 5,10-methylenetetrahydrofolate to 5-methyltetrahydrofolate, a carbon donor for the homocysteine to methionine conversion. MTHFR is a key enzyme that regulates folate metabolism which has an important role in DNA synthesis, DNA repair and methylation. In this study, associations of MTHFR C677T polymorphism with breast cancer have been investigated.

199 patients and 195 controls were analyzed using PCR-RFLP method. Genomic DNA isolation was performed from peripheral blood. Allele and genotype frequencies of patients and controls were compared to evaluate the results which were obtained and no statistically significant differences were found. Also, when CC+CT with TT genotypes and CT+TT with CC genotypes were compared, no statistically significant association was observed. However, it was observed a statistically significant association between MTHFR gene C677T polymorphism and infiltrative ductal carcinoma which is a type of breast cancer. ($p=0.038$) TT homozygous individuals were encountered more frequently in patients than controls although it was not statistically significant.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri, Akciğer kanserinden sonra dünyada en sık görülen malignensidir. Kadınlarda ise en yaygın görülen malignensidir ve tüm kadın malignensilerinin %23'ünü oluşturmaktadır.(1-7) Amerika Birleşik Devletleri 2011 verilerine göre her 8 kadından biri yaşam boyu meme kanseri riski ile karşı karşıya kalacaktır. (8) Dünya Sağlık Örgütü (WHO) GLOBOCAN 2008 veritabanı tahminine göre, 2015 yılında meme kanserli yeni hasta sayısı 1.620.000, meme kanserinden kaybedilecek kadın sayısı 540.000 olacaktır.(40) Ülkemiz açısından da, kadınlar arasında en sık görülen on kanser tipi içerisinde meme kanseri birinci sırada yer almaktadır.(9) Ülkemizdeki insidansı doğu bölgelerimizde 20/100.000, batı bölgelerimizde ise 40-50/100.000 oranında bir sıklığın olduğu tahmin edilmektedir.(10)

Meme kanserinde genetik yatkınlığın önemli bir etken olduğu bilinmektedir. Meme kanserli olguların sadece % 5-10'u, BRCA1 ve BRCA2 gibi nadir, penetransı yüksek genlerdeki kalıtsal mutasyonlardan kaynaklanırken, olguların çoğunluğu, penetransı düşük olan gen mutasyonlarından kaynaklanır.(11) BRCA1 ve BRCA2 gibi penetransı yüksek genlerdeki mutasyonlar, otozomal dominant tarzda kalıtılır ve yüksek risk oluşturmaz.(12) Bazı daha sık rastlanan ve penetransı düşük olan genler, meme kanseri için düşük risk oluşturmalarına rağmen, bu genlerin varyantlarına popülasyonda yüksek oranda rastlanır. Bu yüzden penetransı düşük olan genler, penetransı yüksek olan genlere göre, meme kanseri olgularının daha geniş bir kısmından sorumludur. (13)

Meme kanseri günümüzde farklı tekniklerle değerlendirilmektedir. Bunlardan bir tanesi de SNP (Single Nükleotit Polimorfizm) analizleridir. SNP, belirli bir baz pozisyonunda meydana gelen tek nükleotit değişiklikleridir. Bir popülasyonda sıklığı en az (>%1) olan ve tüm genetik varyasyonların %90 ını oluşturan genetik polimorfizmlerdir. Meme kanseri ve SNP'ler arasındaki ilişki, birçok çalışmada incelenmiş olup meme kanserinin gelişmesinde bazı SNP'lerin küçük ama anlamlı risk artısına sebep olduğu gösterilmiştir.(14) Bu anlamda çalışılan gen gruplarından biri de folik asit metabolizmasını düzenleyen metilentetrahidrofolat redüktaz C677T polimorfizmidir.

C677T polimorfizmi, MTHFR geninin 4. ekzonunda meydana gelir ve proteinin N-terminal katalitik bölgesini etkiler proteinin N-terminal katalitik bölgesini etkiler. (15,16). MTHFR C677T polimorfizmi, MTHFR enzimini kodlayan gende 677. nukleotid olan C (Sitozin)'in →T (Timin)'e değişimi sonucu ortaya çıkan bir nokta mutasyonudur.(17-20) Mutasyon, genin ürünü olan proteinde 226. sıradaki alanin yerine valin aminoasidinin geçmesine neden olur. Mutasyon sonucunda MTHFR aktivitesinin azalması sonucu 5-metil tetrahidrofolat seviyesinde azalır. Bunun sonucu olarak da homosistein metiyonine donusemez ve bu durum plazma homosistein seviyesinin artışına neden olur (21). MTHFR'nin C677T polimorfizminde, CC (Alanin/Alanin) homozigot normal, CT (Alanin/Valin) heterozigot ve TT (Valin/Valin) homozigot mutant genotipler görülmektedir. Homozigot normal (CC), Heterozigot (CT) ve homozigot (TT) polimorfizmlerde MTHFR aktivitesi sırasıyla, %100, %65 ve %30 olarak bildirilmektedir.(22) MTHFR polimorfizminden kaynaklanan azalan enzim aktivitesi, tümör supresör genlerin stabilitesini ve hipometilasyonunu etkiler.(23). Metilentetrahidrofolat redüktaz gen polimorfizmi ve meme kanseri arasındaki ilişki etnik kökene göre farklı sonuçlar olmasına rağmen birçok çalışmada gösterilmiştir.(24-27)

Çoğunluğu Karadeniz ve bir kısmı iç Anadolu Bölgesi'nden oluşan hastaların dahil edildiği çalışmamızın amacı, metilentetrahidrofolat redüktaz C677T gen polimorfizmi ile meme kanseri arasındaki ilişkinin araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. MEME KANSERİ TARİHÇE

Meme dokusunda ortaya çıkan patolojik değişiklikler, ilk çağlardan beri hekimlerin dikkatini çekmiştir. Meme kitleleri ilgili ilk kayıtlar, milattan önce 2500-3000 yılları arasında Eski Mısır'da İmhotep tarafından yazılan papirus Edwin Smith tarafından bulunmuştur. İmhotep 'in aynı zamanda piramitlerin mimarı bir hekim olduğuna da inanılmaktaydı. İmhotep 48 vakalık bir seri yayınlamış, bunlardan 8 i tümörü düşündürmüştür. Bu vakalar; sert, soğuk, sıvı içermeyen, bu nedenle abse ve inflamasyonlardan farklı olarak tanımlanmış, tedavi olanağının da bulunmadığı belirtilmiştir. Koterizasyon ve damar bağlama tekniğini tanımlamıştır.(28) Hamurabının “Hastasının ölümüne sebep olan doktorun da öldürülmesi” kanunu kabul edildikten ve Hipokrat'ın ise meme kanserinin sistemik bir hastalık olduğunu ve primer tümörün çıkarılmasının olumsuz etki yaptığını öne sürmesinden sonra uzun süre bu hastalığın tedavisinin sorumluluğundan kaçınılmıştır.(29) Hipokrat kanlı meme başı akıntısı ile gelen meme kanserli bir hastayı da tanımlamış ve menopoz ile meme kanseri arasındaki ilişkiyi belirlemiştir (28).Antik yunanda (MÖ 460-160), Hipokrates'in bedeninin dört ana maddeden (kan, flegm, sarı safra, kara safra) oluştuğunu ifade eden hipotezi,batı dünyasında tıbbı çok uzun süre etkilemiştir..İskenderiyeli Leonides M.S.100. yıllarda, İmhotep'in bağlama ve koterizasyon tekniklerini geliştirerek , tümör ile birlikte sağlam meme dokusunu da çıkarmıştı (30). Ebu Kasım (10.yy), Mondeville(13.yy) ve Lanfranc, Leonides'in tekniğini geliştirmişlerdir (31) .M.S. 130'da Bergamalı İskenderiye'de eğitim görmüş olan Galen'nin, Hippocrates'ten etkilenecek ortaya attığı teorilerin, tüm Roma tıbbına ve gelecekte 1500 yıl süre ile Avrupa tıbbına hakim olduğunu görüyoruz. Galen de Hippocrates gibi bedeninin 4 ana maddeden oluştuğunu ve meme kanserinin kara safra (melankoli)'nin memede birikmesi ile ortaya çıktığını ileri sürmüştür. Bu nedenle de “memedeki tümör çıkarıldıktan sonra kanamanın durdurulmaması ve böylece kara safranın akması” gerektiğini belirterek İskenderiyeli Leonides'ten daha geri bir uygulamayı savunmuştur (30). Aynı asırda (M.S. 30) Roma'lı Celsus, meme kanserinin 4 evresini; erken kanser, ülseriz kanser, ülserli kanser, karnıbahar şeklinde ülserli kanser şeklinde tanımlamış ve adeta bugün TNM sınıflamasındaki (T1, T2, T3,

T4) tümörleri tarif etmiştir. Celsus, erken kanser dışındaki meme kanserlerine cerrahi uygulanmaması gerektiğini savunmuştur (28).

15.yyda Razi, meme kanserinin tüm olarak çıkarılabileceği durumlarda cerrahi tedavi ile alttaki dokuların koterizasyonunu önermiştir. İbni Sina ise; Galen okulunun izleyicisidir ve tümör çıkarıldıktan sonra damarların bağlanmaması ve “kara safra”nın akması gerektiğini savunmuştur. İbni Sina’nın “Kanun Fil Tıbb” isimli kitabı, asırlar boyunca tek referans kitap olarak Avrupa’da geçerliliğini korumuştur (28,30,32).

Onaltıncı yüzyılın başlarında yaşamış olan ve devrinin en büyük cerrahı olarak kabul edilen Ambrose Pare, yüzeyel ve küçük tümörlerin sadece eksizyon ile tedavi edilebileceğini ancak büyük tümörlere kurşun plaklar koyarak dolaşımının yavaşlatılması gerektiğini bildirmiştir. Ambrose Pare, aksiller lenf nodüllerinin memedeki tümör nedeni ile büyüdüğünü fark ederek bunların çıkarılması gerektiğini belirtmiştir.(28,30)

16.ve 17. yy’da, önce Fabry, sıkıştırarak meme amputasyonu yapan bir alet geliştirmiştir. 17. ve 18.Yüzyıl avrupalısında kanama ve enfeksiyonlar nedeni ile meme ameliyatları tehlikeli ve ölümcül kabul edilmiş ancak deneyimli cerrahlar tarafından yapılması önerilmiştir. Bu dönemde, memenin ve aksiller lenf nodüllerinin anatomisi ve meme kanseri ile ilişkisi anlaşılmış, kanser ameliyatları sırasında çıkarılması kabul görmüştür. Paris’te bu dönemde J. L. Petit, B. Perilhe ve R. Wiseman, meme aksiller lenf bezleri ve pektoral kası birlikte çıkaran ve yarayı primer olarak kapatılmasını uygulamışlardır. (28,30,32,33).

18. yy’da mikroskop A.Loewenhoek tarafından keşfedilmiştir. J. Müller, M. Schleiden ve T. Schwann insan vücudunun canlı hücrelerin kompozisyonundan oluştuğunu saptadılar. J.Müller ayrıca kanserli hücrelerin yaşayan ancak işlevini yitirmiş hücreler olduğunu belirtmiştir. 1858 de R. Virchow modern mikroskopik patolojinin temellerini atan kitabını yayınlamıştır. Meme ve aksiler lenf nodüllerinin ‘en bloc’ çıkarılmasının hastalığının yayılımını engelleyeceğini C. Moore tanımlamış,b W.M.Bank bu kuralı uygulamıştır. (30,32)

19.yy. da asepsi ve antisessi; L.Psteur , J.Lister in çalışmalarıyla uygulamaya girmiştir. J.Lister ilk kez carbolik asid ile antisepsi uygulamıştır. Sıcak buhar sterilizasyonu P.J. Mikuliez, cerrahi eldivenler S.Halsted tarafından kullanılmıştır. T. Morton eter anesteziisini, Lansteiner kan grupları ve transfüzyonlarını kullanıma sokmuştur (30,32)

W.S.Halsted, 1894'de Baltimor Johns Hopkins hastahanesinde oluşturduğu ameliyathanesinde radikal mastektomi (RM) yapmıştır. Halsted, RM'de prensip olarak; meme, üzerini örten cilt, majör ve minör pektoral kaslar ve aksiller doku bir bütün olarak çıkarmakta ve cilt defektini, greft ile kapatmaktadır. C. D. Haagensen, radikal mastektominin hem sadık bir uygulayıcısı hem de en ciddi eleştirenini olmuştur. N. Y. Presbyterian hastahanesinde memenin fizik muayenesini standardize etmiş, Colombia klinik sınıflamasını oluşturmuş ve inoperabilite kriterlerini belirleyerek RM'nin lüzumsuz yere uygulanmasını engellemiştir. Bu alışmalar TNM sınıflamasının esasını oluşturmuş ve 1954'de, International Union Against Cancer, ilk TNM snıflamasını yapmıştır (30). Ondokuzuncu yüzyılın sonunda ve 20. yüzyılın başlarında genişletilmiş ameliyatlara, rağmen 5 yıl hayatta kalan hastaların oranı %40 civarındaydı. Bu oran, yine de radikal mastektomi uygulanmayan hastaların yaşama oranından (%18) iki kat daha iyi idi (32). Yirminci yüzyılın başlarında, meme kanserinin hem tanısı hem de tedavisi konusunda çok büyük devrimler gerçekleştirecek iki buluş yapıldı. Bunların birincisi, X ışınlarının ve daha sonra radyum'un keşfi, ikincisi ise over hormonları ile meme kanseri arasındaki ilişkinin saptanmasıdır (30,32). İlk uygulamaları 1940'lı yıllarda başlayan, ameliyattan sonra memenin ışınlanması gerektiren, meme koruyucu ameliyatlara o zamanki ışınlama tekniğinin komplikasyonları sonucu yaygın kullanım alanı bulamadı.

1896'da G .T. Beatson, meme kanserli 3 hastada ooferektomi sonrası tümörlerin gerilediğini bildirmiştir. Bu tarihten sonra birçok ölkede mastektomiye ooferektomi ilave edilmiş ve standart ameliyat haline gelmiştir (28,30). 1905'de H. Starling'in hormonları tanımlamasından sonra, meme kanserinin tedavisine ilave edilen hormon ablatif ameliyatların yerini östrojenin yapımını veya etkilerini azaltan veya yok eden preparatlar almıştır: LHRH antagonistleri, östrojen reseptör modölatörleri (tamoxifen) ve aromataz inhibitörleri gibi. Östrojen ve progesteron reseptörlerinin

1967’de E.Jensen tarafından keşfi, hormonal tedaviden yararlanabilecek hastaların saptanmasını sağlamıştır (30).

Londra’da D. H. Patey ve R. S. Handley, “major pektoral kas tümör tarafından istila edilmedikçe çıkarılmamalı” tezini ortaya atmış ve modifiye radikal mastektomi tekniğini geliştirmiştir. Böylece radikal mastektominin neden olduğu büyük deformitelerin kısmen de olsa önüne geçilmiştir (28). Yirminci yüzyılın ortalarında radikal cerrahi karşıtları çoğalmıştır.

Danimarka’dan Kaae ve Johansen, Edinburg’dan McWhirter basit mastektomi ve aksiler ışınlamayı savunmuşlardır (28). Clevelandan G. Crile, geniş cerrahi girişimlerin ölüm oranlarını azaltmadığını ileri sürerek, sadece tümör ve aksiller lenf bezlerinin çıkarılması esasına dayanan konservatif cerrahiye savunmuş ve uygulamıştır (30).

Meme kanseri cerrahisinde yapılan çok sayıda randomize çalışma ile MRM ve meme koruyucu cerrahi ile eşit sonuçlar sağladığının gösterilmesinden sonra, aksillanın tedavisi de gözden geçirilmiştir. Pitsburg dan B.Fisher yaptığı uzun araştırmalardan sonra meme kanseriyle ilgili birçok teorinin yanlış olduğunu ileri sürmüştür.B.Fishere göre meme kanseri sistemik bir hastalıktır ve hastalığın nasıl seyredeceği beden ile kanser arasındaki biyolojik savaş sonrası belirlenir. Dolayısıyla yapılacak lokal tedavilerin şekli ve büyüklüğü şifa oranını belirlemez, sistemik tedavilerin uygulanması gerekir bu görüş günümüz de uygulanan kemoterapisine yön vermiştir. (32) Giderek daha çok sayıda hastaya erken dönemde tanı konulması, aksiler lenf nodülü tutulumunu azaltmış ve rutin aksiller disseksiyonu tartışılır hale getirmiştir.

Guiliano, 1994’de meme kanserli hastalarda sentinel lenf nodülü biyopsisinin(SLNB) sonuçlarını ve tekniğini yayınlamış, bu tarihten sonra pek çok merkez SLNB yapmaya başlamıştır (34). Meme hastalıkları ile ilgili çalışmalar, günümüz tıbbında da durmaksızın sürmekte; giderek memeyi koruma, sınırlı rezeksiyon, aksiller küretaj, SLNB ve meme rekonstrüksiyonların aynı seansta uygulanması gibi modern görüşleri desteklemektedir.

Günümüzde Co 60 ve lineer akselatör gibi mega voltaj ünitelerinin kullanım alanına geçmesi ile meme koruyucu ameliyatlar her yerde yaygın olarak uygulanmaya başlanmıştır (31,33)

Ancak 20 yy bittiğinde hala meme kanserinin gerçek nedeni saptanamamıştır. Buna karşılık tümörün oluşumuna yol açabilecek hücresel büyüme faktörlerini, hücre içi haberleşme yollarını ve genlerin expresse ettikleri proteinler bilinmektedir.

21 yy ın başında insan genomunun çözümlenmesi için uygulanan ileri teknoloji ,genetik laboratuvarları tarafından kullanılmaya başlandı, böylece gen expresyon taramalarını komperatif genom hibridizasyonu(CGH) veya çalışmamızda uyguladığımız tek nükleotid polimorfizm (SNP) taraması izledi. Bu teknolojiler ile aynı anda onbinlerce genetik lokasyon taranabilmektedir. SNP DNA nın polimorfik dizilerinin incelenbildiği önemli bir tekniktir.(35,36)

Bu tekniklerle yapılan genetik ve moleküler araştırmalar bize meme kanserinin tek tip bir hastalık olmadığını, östrojen ve progesteron reseptörlerinin ve Cerb B2 nin (+) veya (-) oluşuna göre ‘lüminal hücreli’ ve ‘bazal hücreli ‘olmak üzere iki alt grubun bulunduğunu göstermiştir.(35) Meme tümörünün biyolojik davranışı kemo-hormonoterapilere nasıl cevap vereceği bu yeni moleküler sınıflama ile önceden saptlanabilir hale geldi.(35.36) Ancak hala birçok çalışma yapılması gerekmektedir özellikle genomik çalışmalar ilerledikçe meme kanserini anlamamız ve hedefe yönelik tedavi seçenekleri geliştirilmesi sağlanacaktır.

2.2.MEME KANSERİ EPİDEMİYOLOJİSİ

Meme kanseri, Akciğer kanserinden sonra en sık görülen kanserdir. Kadınlarda ise en sık görülen kanserdir ve tüm kadın kanserlerinin %23'ünü oluşturmaktadır.(1-7) Dünya Sağlık Örgütü (WHO) GLOBOCAN 2008 veritabanı tahminine göre, 2015 yılında meme kanserli yeni hasta sayısı 1.620.000, meme kanserinden kaybedilecek kadın sayısı 540.000 olacaktır.(40) Ülkemiz açısından da, kadınlar arasında en sık görülen on kanser tipi içerisinde meme kanseri birinci sırada yer almaktadır.(9) Ülkemizde kadınlarda meme kanseri Sağlık Bakanlığı 1997 yılı sağlık istatistiklerine göre, 1995 yılında %23.5, 1998 yılında %23.1, 1999 yılı itibariyle de %24.1 oranında görülme sıklığı ile ilk sırada yer almaktadır. Türkiye'de ise beklenen yeni hasta sayısı 12.000, meme kanserinden kaybedilecek kadın sayısı ise 5.300 olarak öngörülmüştür. (Sağlık Bakanlığı Kanser İstatistikleri)(40) 1990-2002 arasındaki oniki yıllık süre içerisinde, dünyada meme kanserinin sıklık ve mortalite oranlarında %25'lik artış görülmektedir. Ancak, bunun aksine gelişmiş olan ülkelere ABD'de son 25 yıl içerisinde mortalitede %50 azalma görülmüştür. Bu, tarama ile erken tanı ve etkin tedaviye bağlanmaktadır.(37)

Tüm meme kanserleri içinde erkek meme kanseri oranı ise, % 1 civarındadır(38).289100 Meme kanseri 25 yaşın altında nadirdir ve görülme sıklığı yaşla orantılı olarak artar. En sık 45-74 yaşları arasında görülür.(39)

Meme kanseri sıklığı ciddi bir coğrafi farklılık göstermektedir. Gelişmiş olan ülkeler en sık, Doğu Asya'daki az gelişmiş ülkeler en az meme kanseri görülen ülkelerdir. Yaşa göre standardize edildiğinde, Kuzey Amerika'daki oran 76,7/100.000 iken, Doğu Asya'da bu oran 25,3/100.000 kadardır.(40) Bununla birlikte orta ve alt gelir düzeyindeki ülkelere meme kanseri sıklığında belirgin artışlar görülmektedir. Dünya'daki meme kanseri sıklığı, 1990 yılından itibaren her yıl %0,5'lik artış göstermektedir. Çin'deki yıllık artış oranı ise, %3-4 civarındadır. Hindistan'da 15 yıl önce serviks kanseri en sık kanser iken, bugün meme kanseri en sık görülen kadın kanseri olmuştur.(10)

Meme kanserli hastalarda tüm evrelere göre 5 yıllık sağkalım oranları, gelişmiş ülkelere %83 iken, gelişmekte olan ülkelere %53 olarak bildirilmektedir. Aradaki bu

önemli fark, gelişmiş olan ülkelerde tarama mamografisi sayesinde erken tanı ve daha iyi tedavi olanakları ile açıklanabilir. Meme kanseri mortalite oranı; gelişmiş olan ülkelerde 4 %27,5 (190.000 ölüm / 690.000 olgu), az gelişmiş ülkelerde ise %39'dur (269.000 ölüm / 690.000 olgu).(40)

Ülkemizde mevcut verilere göre meme kanseri sıklığının, doğu bölgelerimizde 20/100.000, batı bölgelerimizde ise 40-50/100.000 oranında olduğu tahmin edilmektedir (4–8). Bu rakamlardan yola çıkılarak, Türkiye’de her yıl meme kanserine yakalanan kadın sayısının on bin kadar olduğu hesaplanabilir.(10)

Ülkenin doğusu ile batısı arasındaki sıklık farkı, Türkiye’nin batı bölgelerindeki yaşamın batı toplumlarındakine benzerliğinden (“Westernizing life”) kaynaklanmaktadır. Kadınlarda erken menarş (<12 yaş), geç doğum (>30 yaş), geç menopoz (>55 yaş), daha fazla hormon replasman tedavisi alma, daha kısa laktasyon süresi ve beslenme alışkanlıklarındaki değişiklikler, batı tipi yaşam biçiminin meme kanserinin insidans hızının artması ile ilgili öğeleri arasında sayılabilir. Kadınlardaki dört kanserden biri memede yerleşmekte olup, meme kanseri en sık kanserden ölüm nedenidir (10,41-44)

2.3. MEME KANSERİ RİSK FAKTÖRLERİ

Meme kanseri riskini öngörmede halen kullanılan iki risk değerlendirme modeli vardır: Gail ve arkadaşları, 1970’lerde yürütülen bir mamografi tarama programı olan “Meme Kanseri Saptama Demonstrasyon Projesi”nden günümüzde çok sık kullanılan bir model geliştirilmiştir. Bu modelde ilk adet görme yaşı, meme biyopsisi sayısı, ilk canlı doğum yapılan yaş ve meme kanseri bulunan birinci derece akrabaların sayısı bir araya gelmektedir.(45)

Claus ve arkadaşları, meme kanserine yönelik bir olgu kontrol çalışması olan “Kanser ve Steroid Hormon Çalışması”ndan elde edilen verileri kullanarak, sık kullanılan bir diğer risk değerlendirme modelini geliştirmişlerdir. Bu model meme kanseri duyarlılık geninin yüksek penetransının prevalansı konusundaki tahminlere dayanır. Meme kanseri bulunan birinci ve ikinci dereceden akrabalar ve onların tanı aldığı yaşla ilgili bilgiler temelinde, yaşamın kaçınıcı on yılında bulunulduğuna göre, kişisel meme kanseri riskini tahmin etmeyi sağlar.(45)

Meme kanseriyle daha az tutarlı ilişkisi olan diyet, oral kontraseptif kullanımı, laktasyon gibi risk faktörleri, ya da genel popülasyonda ender olarak görülen 16 radyasyona maruziyet gibi durumlar ne Gail ne de Claus risk değerlendirme modellerine dahil edilmemişlerdir (45)

2.3.1. YAŞ

Meme kanseri sıklığı yaş ilerledikçe belirgin ve sürekli şekilde artmaktadır. Bütün meme kanserli hastaların %75'ine postmenopozal dönemde tanı konmaktadır. Meme kanseri gelişme riski 25 yaşında 1/19608, 55 yaşında 1/33, 75 yaşında 1/11, 80 yaşında 1/8'dir (31)

Yaşı 50 ve üzerinde olan kadınlarda meme kanseri görülme sıklığı, 50 yaş altı kadınlardan 4 kat daha fazladır. ABD’de meme kanserlerinin %95’i 40 yaşın üzerindeki kadınlardır.

Genç hastalarda meme kanserinin daha kötü seyrettiği yönünde bulgular vardır. Nixon ve arkadaşlarının çalışması başta olmak üzere pek çok kaynakta, 35 yaşın altındaki hastalarda prognozun kötü olduğu ve bu hastalarda meme kanserinin kötü

prognoz ile ilişkili olduğu bilinen faktörlerle (diferansiasyon derecesinin yüksek olması, yaygın intraduktal komponent, lenfovasküler invazyon, nekroz ve mononükleer hücre infiltrasyonu) birlikteliğinin daha sık izlendiği belirtilmiştir.(46-48) Benzer şekilde Albain ve arkadaşlarının çalışmasında da 30-35 yaşın altındaki meme kanserli kadınlarda, lenf nodu tutulumu, büyük tümör boyutu, steroid reseptör negatifliği, S-faz fraksiyonu ve p53 anomalilerinin daha sık görüldüğünü belirtilmiştir. (49)

2.3.2. CİNSİYET

Meme kanseri gerek meme dokusunun gelişimi gerekse hormonal etkiler nedeniyle kadınlarda çok daha sık görülür. Erkeklerde meme kanseri görülmesi sıklığı kadınların 1/100 ' üdür. (50)

Doğumda memenin epiteliyal komponenti meme başının altında az sayıda rudimenter kanaldan oluşur ve prepubertal yıllarda bu kanallar yavaş yavaş büyüme gösterir. Erkeklerde meme gelişimi bu fazda dururken, kadınlarda cinsiyet hormonlarının etkisiyle meme gelişimi pubertede hızlanmaktadır.

Doğum kontrol ilaçları ve hormon replasman tedavisi kullanımı da kadınlarda meme kanserinin daha sık görülmesine katkıda bulunabilir.(51)

2.3.3 IRK

Siyah ırkta meme kanseri tanısından sonra sağkalım beyaz ırktan daha kötüdür (52). SEER programındaki 100.000'den fazla kadında yapılan analizde siyah kadınlarda tanıda erken meme kanseri oranının beyazlara göre önemli ölçüde düşük olduğu görülmüştür (53). Bu fark çevresel etkenlere, yaşam tarzlarına ve sosyo-ekonomik duruma bağlanmaktadır (54). Baska ülkelere göç eden ailelerde yapılan çalışmalar, göç eden kadınlarda meme kanseri sıklığının birkaç nesil sonra göç ettikleri ülkenin görülme sıklığına ulaştığını göstermiştir. (55,56)

2.3.4. HORMONAL DURUM

Erken menarj ve geç menapozda risk artar. Kadınların adet görmeye erken yaşta başlamaları, bununla birlikte ilerleyen yaşlarda menopoza girilmesi fertil çağı uzatmaktadır.

Bu sırada kadının daha uzun süre endojen östrojen hormonu etkisi altında kaldığı, bunun da meme kanseri gelişme riskini yükselttiğine işaret edilmektedir (57). Onüç yaşından önce adet görmeye başlayan bir kadında meme kanseri rölatif riski, daha sonra adet görmeye başlayan kadınlarınkinin iki katıdır. Doğal olarak menapoza 55 yaşından sonra giren kadınlarda riskin, 44 yaşından önce menapoza girenlerinkinin iki katı olduğu bildirilmiştir. Kadının ilk doğumu yaptığı yaş da önemlidir. (58). Kadınların ilk çocuğunu doğurma yaşı meme kanserine yakalanma açısından önemlidir. İlk çocuğunu 30 yaşından sonra doğuran kadınlarda meme kanseri görülme oranı, 20 yaşından önce doğuranlara göre 2-5 kat daha fazladır. Hiç çocuk doğurmayan kadınlarda ise risk daha da yükselmektedir (57). Evlenmemiş veya hiç dogum yapmamış kadınlarda kanser riskinin, dogum yapmış kadınlara göre 1,4 kat daha fazla olduğunu belirtilmiştir (59). Doğum sayısının artmasının meme kanseri riski üzerindeki etkisini araştırın 14421 kadın üzerinde yapılan bir çalışmada, doğum sayısı arttıkça riskin azaldığı ve en düşük riskin 6 veya daha fazla dogum yapmış kadınlarda saptandığı belirtilmiştir (60,61). Emzirme üzerine veriler çelişkilidir. Uzun süreli emzirmeler riski azaltabilir (62,63).

Postmenopozal dönemde hormon tedavisi kullananlarda meme kanseri riskinin kullanmayanlara göre artış gösterdiğini savunan çalışmalar mevcuttur. Bunun sebebi olarak postmenopozal dönemde hormona maruz kalma ile proliferasyonun artması gösterilmiştir. Fakat son yıllarda yapılan çalışmalar riskin arttığını göstermemiştir (64).

Yapılan bazı çalışmalarda ise ailede meme kanseri öyküsü olan kadınlarda oral kontraseptif kullanımının, meme kanseri riskini arttırdığı, hatta oral kontraseptiflerin benign meme lezyonlarını da arttırdığı gözlenmiştir (45, 65, 66)

Marchbanks'ın popülasyona dayalı vaka kontrol çalışmasında 35-60 yaş arası kadınlarda halen oral kontraseptif kullananlarda veya geçmişte kullananlarda meme kanseri görülme riskinin artmadığı saptanmıştır. (67) HRT için ise menopozal semptomları düzeltmek amacıyla 5 yıldan az süre ile öst. , prog. kombinasyonlarının kullanılması önerilmektedir.(68)

2.3.5. MEME HASTALIĞI ÖYKÜSÜ

Meme kanser olan kadınlarda diğer memede kanser gelişme riski 3–4 kat artmaktadır (57). Riskteki bu artış aile öyküsü varlığından kaynaklanan riske göre daha yüksektir. Memede fibrokistik değişikliği olan hastalarda ve daha önce herhangi bir nedenle meme biyopsisi yapılan kimselerde meme kanseri gelişme riski artabilir. Fibrokistik komplekste epitelyal hiperplazi veya metaplazi olduğunda risk artarken, kist oluşumunda artmamaktadır (69). İnvaziv kanser nedeni ile mastektomi yapıldıktan sonra diğer meme izlenirken, bu memede de kanser ortaya çıkma riski her yıl için % 0,5-1'dir. Bir in situ duktal ya da lobular kanser tanısından sonra da böyle bir meme kanseri ortaya çıkma riski vardır (70).

Non-proliferatif lezyonlar genellikle meme kanseri riskinde artışa sebep olmazken, orta ve florid hiperplazide kanser riskinde 1.5-2 kat, atipik hiperplazide ise 4-5 kat artış mevcuttur. İntraduktal papillomların maligniteye dönüşümü gözlenirken, multipl intraduktal papillomların maligniteye dönüşüme daha da yatkın olduğu saptanmıştır.

Sklerozan adenozisde ise kanseri taklit etmesinden dolayı sıklıkla biyopsi tavsiye edilir ama aslında çok düşük malignite riski mevcuttur (45)

2.3.6. DİYET VE HAYAT TARZI

Doll ve Peto, ABD'deki meme kanserlerinin yaklaşık %50'sinde yağdan zengin beslenmenin sorumlu olduğunu ileri sürmüşlerdir (71). Bununla birlikte zeytinyağı ile beslenme, meme kanseri riskini düşürmektedir (72). Liften zengin gıdanın, biliyer sistemden barsağa dökülen östrojenlerin reabsorbsiyonunu inhibe ederek, meme kanseri oluşumuna karşı koruyucu bir etkisinin olabileceği ileri sürülmüştür. Hayvan çalışmalarında da, liften zengin besinlerin, meme tümörü sıklığını azalttığı gösterilmiştir (73).

Meme kanseri riski ve beslenme faktörlerinin ilişkisi araştırıldığında, en belirgin olarak ortaya konulmuş olan risk artırıcı faktör, alkoldür.(75) Yapılan bir meta analizde günde 12 gram alkol alan kadınlarda meme kanseri riski 1.4, günde 24 gr alkol alanlarda ise 1.7 olarak bulunmuştur (74). Otuz yaşından önce alkol almanın, meme kanserine yakalanma risk bakımından, daha sonraki yaşlarda alkol kullanmaktan daha önemli olduğu ileri sürülmüştür (76).

Tüm dünyada meme kanseri vakalarının %25'inin aşırı kilo, obezite ve sedanter hayat tarzına bağlı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca postmenopozal obez kadınlarda seks hormonu bağlayıcı globulin oranı daha düşüktür ve bunun sonucunda dokularda östron oranı daha yüksektir. Hiperinsülinemi ve yüksek düzeyde insulin-like growth factor-1 salınımı olan kişilerde overlerde androjen üretimi artar ve bunun sonucunda yağ dokularında aromatzasyon ile östrojen düzeyi artabilir (77).

A, C vitaminleri ve selenyumdan zengin beslenmenin meme kanserinden koruyucu olabileceğine ait çalışmalar mevcuttur (78).

Özellikle fiziksel aktivitenin meme kanserinin ortaya çıkması üzerine etkisini araştıran çalışmalar olmamasına rağmen, kohort çalışmaları daha aktif bir yaşamının meme kanseri riskini azaltabileceğini desteklemektedir (79). Fiziksel aktivitenin menarşı geciktireceği ve daha az süre östrojenin etkisine maruz kalacağı gözlenmiştir. Adolesan ve erişkin dönemde yapılan egzersizlerin meme kanseri riski üzerine etkisini araştıran yakın tarihli bir çalışmada, egzersizin 40 yaşın altındaki kadınlarda meme kanseri riskini azalttığı ve haftada 4 saat veya daha fazla egzersiz yapan kadınlarda kanser riskinin hiç egzersiz yapmayanlara göre %60 daha az olduğu bildirilmiştir. Bazı çalışmalarda şişmanlığın özellikle 50 yaş ve üzerindeki kadınlarda meme kanserine yakalanma riskini yükselttiğine işaret edilmektedir (80). Artan risk yağ depolarındaki östrojen sentezine bağlanmaktadır.

Sigara içmenin, meme kanseri riskini hem arttırdığı hem de azalttığı bildirilmiştir.

Azalmanın nedeni olarak, sigara içenlerde, serumda ve idrarda östrojenlerin azalması ve menopoz yaşını erkene alması nedeniyle meme kanserine karşı koruyucu bir etkisi olabileceği düşünülmüştür. Ancak yapılan geniş olgu-kontrol ve prospektif çalışmalarda, meme kanseri 21 riski ile sigara içimi arasında hiçbir ilişki gösterilememiştir (81). Riskin arttığını gösteren çalışmalar ise bunu sigara dumanındaki çeşitli karsinojenlerle ilişkili bulmuşlardır (82).

2.3.7. RADYASYONA MARUZİYET

Özellikle 30 yaşından önce, Toraks duvarına uygulanan yüksek dozda iyonize radyasyon, meme kanseri riskini artırır. Özellikle kırk yaşından sonra iyonizan

radasyona maruz kalanlarda meme kanseri riskinde artma gözlenmemiştir. Bu nedenle 30 yaşın üzerindeki kadınlarda mamografi meme kanseri riskini artırmamaktadır. Atom bombasına maruz kalmış kadınlarda, meme kanseri riski 3 kat artmıştır. Lenfoma nedeniyle radyoterapi alan kadınlarda da, özellikle 10. yıldan sonra meme kanseri sıklığı artmaktadır (83).

Radyasyona maruz kalanlarda DNA hasarına bağlı olarak 10-15 yıllık bir süre içerisinde meme kanseri riskinde %20-30'a varan artışlardan bahsedilmektedir (84). Hildreth, çocukluğunda timus genişlemesi nedeniyle radyoterapi uygulanmış 1201 kadında, meme kanseri oluşma riskini, bu kadınların radyasyon almamış kız kardeşleri ile karşılaştırarak araştırmıştır. Radyasyon alan grupta meme kanseri riskinin diğer gruba göre 3.6 kat arttığını bildirilmiştir (85).

Ailesel yatkınlık ve genetik faktörler

Meme kanserinin ailesel bir geçiş gösterebildiği bilinmektedir. Aslında bu hastalık genetik geçişi en iyi tanımlanmış olanlardan biridir. Yapılan çalışmalardan elde edilen veriler aile öyküsü ve meme kanseri riski arasında şu ilişkileri ortaya koymuştur:

1. Birinci derece akrabalarda (anne, kız kardeş ve kız çocuğu) meme kanseri olması, riski 2-3 kat artırmaktadır.

2. Uzak akrabalarda (kuzen, hala, babaanne) meme kanseri tanısı alan kişiler olması, meme kanseri riskini fazla arttırmamaktadır.

3. Birinci derece akrabada ortaya çıkan meme kanseri premenopozal dönemde veya bilateral olduğunda, meme kanseri gelişme riski daha fazla artmaktadır.

Birden fazla bireyin etkilendiği ailelerde, özellikle bilateral ve erken yaş kanserlerde, meme kanseri gelişme riski %50'ye kadar yükselmektedir. Bu ailelerde meme kanseri genellikle genetik kökenli olarak ortaya çıkmaktadır (86,87)

1. Sporadik meme kanseri (%65-75): İki kuşak boyunca birinci derece akrabalarında meme kanseri öyküsü olmaksızın meme kanseri gelişen hastalar bu gruptadır.

2. Ailesel meme kanseri (%20-30): Birinci veya ikinci derece akrabalarında birden fazla kişide meme kanseri olan, ancak herediter meme kanseri tanımına uyacak şekilde diğer kanserlerle birlikte görülmeyen meme kanserleri bu gruptadır.

3. Herediter meme kanseri (%5-10): Ailede meme kanseri ve bazen ilgili başka kanser (over ve kolon kanseri) öyküsü olan, aile ağacında penetransı yüksek, otozomal dominant geçiş düşündürecek dağılımlı meme kanseri hastaları bu gruba dahil edilmektedir. Bu tanıyı destekleyecek diğer faktörler, meme kanserinin premenapozal erken yaşta ortaya çıkması ve bilateral olmasıdır (45, 88).

Memenin herediter kanserlerine, değişen penetransta otozomal dominant kalımsal geçiş gösteren BRCA (Breast Carcinogenic Antigen) 1 ve BRCA 2 gen mutasyonları neden olur. BRCA 1 geni 17. kromozom uzun kolunda, BRCA 2 geni ise 13. kromozomda yer almaktadır BRCA 1 geni transkripsiyonda, hücre siklusu kontrolünde ve DNA hasar onarımında görev alır. Bu gendeki germline mutasyonların kalıtsal meme kanserlerinin %45'inde ve kalıtsal over kanserlerinin ise en az %80'inde predispozan bir genetik faktörü temsil ettiği bilinmektedir. BRCA 2'nin de BRCA 1 gibi DNA hasar yanıt yollarında görev aldığı bilinmektedir. BRCA 1 den farklı olarak BRCA 2 de germline mutasyonları olan erkeklerde meme kanseri riski %6 olarak hesaplanmıştır (88).

22

Bu iki gene ilave olarak P53 geninin de ailevi meme kanseri olgularının küçük bir kısmından sorumlu olduğu gözlenmiştir. Sporadik meme kanserlerin ise yaklaşık olarak yarısında P53 gen mutasyonu bulunmuştur (89).

Bunların dışında herediter bazı sendromlar (Ataksia-telenjektazi, Li-Fraumeni sendromu, Cowden sendromu, Peutz-Jeghers, Klinefelter's Sendromu) varlığında da meme kanseri görülme sıklığının arttığı bilinmektedir (90)

2.3.8. SOSYO-EKONOMİK SEVİYENİN YÜKSEKLİĞİ

Sosyo-ekonomik düzeyi yüksek olan kadınlarda meme kanseri görülme sıklığının daha fazla olduğu belirtilmektedir. Bu özelliğe sahip olan ailelerin kızları daha iyi beslendikleri için daha erken yaşta gelişmekte ve bunun sonucu olarak da daha erken yaşta adet görmeye başlamaktadır. Ayrıca bu çocuklar büyüdükları zaman eğitim ve iş nedeniyle daha geç yaşta evlendikleri için ileri yaşta çocuk sahibi olmaları söz konusu olmaktadır (91)

3. FOLAT METABOLİZMASI

Folat suda eriyen bir B vitamini olup taze meyve ve sebzelerde bol miktarda bulunmaktadır. Folat eksikliğinin karsinogeneizde rol oynadığı uzun süredir bilinmektedir. Eksikliğinin potansiyel olarak iki mekanizma üzerinden kanser riskini arttırdığı gösterilmiştir: Birincisi, DNA'ya urasil eklenmesine ve bunun sonucu olarak ta kromozomal kırıkların ve mutasyonların oluşmasına neden olur. İkincisi ise aberan DNA metilasyonuna neden olarak protoonkogen ve tumor supresor genlerin aktivitelerini etkiler (92-94).

Karsinogenezis, sadece folatın alım eksikliği neticesinde oluşmayıp aynı zamanda metabolizmasında rol oynayan genlerin polimorfizmi sonucunda da meydana gelmektedir. Folatın metabolik yolağında birçok genetik polimorfizmler bulunmakla birlikte, MTHFR geni simdiye kadar üzerinde en çok araştırma yapılan gen ailesidir(95).

B vitaminlerinden biri olan folik asit ve vitamin B12, gen ekspresyonu ve DNA konformasyonunu belirleyen DNA'daki metilasyon paternlerinin devamlılığında metiyonin ve S-adenozil L-metiyoninden (SAM) sentezi için gereklidir. Memeliler folik asidi denovo sentezleyemez, ya diyetten alır veya barsakta mikroorganizmaların parçalaması ile elde edilir (92). DNA metilasyonu, insanlarda replikasyondan sonra temel epigenetik modifikasyondur (94). DNA (sitozin-5)-metiltransferaz (DNMT), S-adenozil L-metiyoninden (SAM) daha yüksek okaryot DNA genomunun CpG dinukleotid sekansına ait sitozindeki C5'e metil grubunu transfer etmektedir. Şekil 1

(112-114). Folik asit veya 5-metiltetrahidrofolat, homosisteinden metiyonine metabolik transformasyonda kofaktordur. Metiyonin, 5-metiltetrahidrofolat (metil THF) dan, homosistein metiltransferaz aracılığıyla katalizlenen reaksiyonla homosisteinden oluşmaktadır. Bu reaksiyonda 5-metil THF hem kofaktor hem substrat olarak rol almaktadır. 5,10 Metilen tetrahidrofolat (metilen-THF), metil THF'ye reduksiyonunda, DNA sentezi için dTMP'den dUMP dönüşümünde metil vericidir. Metil THF, metiyonin sentezi için primer metil vericisidir ve 5,10-metilentetrahidrofolat reduktaz (MTHFR) ile katalizlenmektedir. Yani, metiyonin, DNA'da sitozin metilasyonunu da içeren 100'den fazla biyokimyasal reaksiyonda temel metil vericisi olan SAM'a

Şekil 1. Homosistein'in transsülfürasyon ve remetilasyon metabolize yolları. (Dikmen ve ark. Dan alınmıştır.)

Kanser oluşum riski ile MTHFR polimorfizmleri arasındaki ilişki folat alımı ile module edilebilir. Folat alımı yeterli olursa MTHFR polimorfizmine rağmen kanser oluşum riski artmayabilir hatta azalabilir. Alım yetersiz olduğunda metil donör sunumu ve DNA sentezinde aksamalar meydana gelir(97). İnsan ve fare MTHFR geni üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda MTHFR geninde 15 farklı mutasyon belirlenmiştir. En sık C677T ve A1298C mutasyonları görülmektedir. Bu mutasyonlardan, vasküler hastalık, noral tüp defektleri, kolon kanseri ile yakından ilişkili olduğu açıklanan C677T polimorfizmi, enzimin katalitik bölgesinde, özellikle noral tüp defektlerinde etkili olan A1298C polimorfizmi ise enzimin regülatör bölgesinde ortaya çıkmaktadır (98). MTHFR polimorfizminin artmış özefagus kanseri (98), mide kanseri (99), meme kanseri (100), hepatosellüler kanser (101), mesane kanseri (102), sessiz prostat kanseri (103) ve servikal neoplaziye (104)yol açtığı bildirilmiştir. Zıt olarak, MTHFR polimorfizmi azalmış kolon kanseri (105-107), lösemi (108), lenfoma (109) ve agresif prostat kanseri (103) ile ilişkilidir.

3.1.ALKOL , SİGARA KULLANIMI VE FOLAT STATUSU

Alkol birkaç yolla folat deplesyonuna neden olur; alkol kullanımı barsaklardan folat emiliminde azalmaya neden olabilir, bunun yanında folat taşıyıcısı ekspresyonunu azaltması sonucu hücre içine folat alımı azalır. Alkol folatın böbreklerden tutulumunu engeller. Etenol metabolizması sonucu ortaya çıkan asetaldehit direk folatı ve folat metabolitlerini yıkıma uğratar (110.111). Alkol kolon kanseri (112), meme kanseri (113) ve hepatosellüler kanser (114) riskini modifiye eden MTHFR polimorfizmi ile ilişkili bulunmuştur. Bunun yanında alkol folat metabolizması üzerine etkileriyle pankreas kanseri riskini artırır (115) ve bağımsız bir kolorektal kanser risk faktörüdür (116). Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada normal folat içerikli besinlerle beslenen ratlara alkol verilerek takip edilmiş. İntrakolonik asetaldehit düzeylerinin arttığı ve kolonik mukozada folat seviyelerinin belirgin azaldığı gösterilmiştir (117).

Sigara metil grup formasyonunu bozarak kobalamin metabolizmasını engellemektedir. Tüm bu etkilerden dolayı sigara ve alkol kullanımı MTHFR

polimorfizmlerinin karsinojen etkilerini arttırabilir. Bircok calısmada sigara iciciliği ile etkilesen MTHFR polimorfizmi kardiyovaskuler hastalık (118,119), kolon (120), mide (121) ve mesane (114) kanserinde artmıs risk ile sonuclanmıstır.

3.2.KARSİNOGENEZDE ANORMAL DNA METİLASYONUNUN YOLU

DNA metilasyon yoluyla DNA'nın epigenetik modifikasyonunun, gen ekspresyonunun baskılanması ve genomik stabilitenin artırılmasını da iceren bircok fonksiyonel role sahip olduğu gosterilmistir. (122,123). DNA molekulunde spesifik yerlerde metillenen genler ya kopyalanmamıstır ya da azalmıs hızda kopyalanmıstır. Bu yolla, yer spesifik DNA metilasyonu gen ekspresyonunu kontrol eder. Bununla tutarlı olarak bircok gozlem DNA'nın normal paternlerindeki aberrasyonların kanser gelismisi ile iliskili olduğunu gostermistir (124). DNA metilasyonundaki değisiklik veya bozulmalar malign transformasyonu arttırmaktadır. Onceki veriler anormal DNA metilasyonunun karsinogenezde ana rol oynadığı hipotezini desteklemektedir. DNA metilasyon durumu orta derece azalmıs folat durumunun fonksiyonel gostergesi olarak kullanılabilir ve folat alımına DNA metilasyon cevabı izlendiğinde, kromozom kırılması ve DNA hipometilasyonunun önlenmesinde folik asit kritik rol oynadığı gorulmustur (125-127). Aberran DNA metilasyonunun karsinogenezde ana rol oynadığına iliskin kanıtlar mevcuttur(128).

Folat kaynaklı birli karbon grupları, de-novo nukleotid primidinleri, timidilat ve purin sentezi icin temeldir (114). DNA'daki sitozinin metilasyonunu da iceren biyokimyasal reaksiyonların coğunda SAM temel metil vericisidir.

Birçok calısmada diyetteki metil gruplarını kısıtlayarak DNA metilasyonunun modifiye edilebileceği gosterilmistir (129-131). Bir kemirici modelinde, metil kusurlu diyet (kombine metiyonin, kolin ve folat eksikliği) SAM'ın doku konsantrasyonunu azaltmakta ve karaciğerde DNA hipometilasyonuna neden olmaktadır (130). Eğer folatın baslıca dolasan formu olan 5-metil THF seviyesi, folat eksikliği durumunda azalırsa, SAM azalmakta ve hızla DNA'daki sitozinin metilasyonunda azalmaya neden olmaktadır. İnsan kan hucrelerinde yapılan guncel calısmalar; folat eksikliğinin DNA

hipometilasyonu, DNA'nın urasille hatalı eşleşmesi ve kromozom hasarı ile sonuçlandığını göstermiştir (126).

Hucre kulturu ve sıcan modellerini kullanarak yapılan çalışmalarda folat ve/veya metil eksikliğinin metilasyonu değiştirdiği gösterilmiştir (131). Folat eksikliği tek başına DNA hipometilasyonuna neden olabilir. Folik asitten fakir diyetle beslenen sıcanlarda 4 hafta sonra normal beslenen sıcanlara göre hipometillenmiş DNA saptanmıştır (132). Bu yüzden çoğu mekanistik çalışmalar bugüne kadar DNA metilasyonu, DNA bütünlüğünde bozulma ve DNA onarımında bozulmadaki değişikliklerin üzerinde durmaktadır. Sonuc olarak uzun periyodlarla devam eden folat eksikliğinin DNA hipometilasyonuna neden olduğu gözlenmiştir (133).

3.3. MTHFR GENİ C677T POLİMORFİZMİ

C677T polimorfizmi, MTHFR proteinin N-terminal katalitik bölgesini etkileyen 4. ekzonda meydana gelir (134). MTHFR C677T polimorfizminde, MTHFR enzimini kodlayan gende 677. nükleotid olan C (Sitozin)'in →T (Timin)'e değişimi sonucu ortaya çıkan bir nükleotid mutasyonu vardır. Bu mutasyon, genin ürünü olan proteinin 226. pozisyonunda Alanin'in yerine Valin'in geçmesine neden olur. mutasyon sonucu MTHFR aktivitesi azalır ve 5-metil tetrahidrofolat seviyesinde azalmaya neden olur. Bunun sonucu olarak da homosisteinin metiyonine dönüşmemesi nedeniyle plazma homosistein seviyesinde artmaya olur (135). MTHFR'nin C677T polimorfizminde, CC (Alanin/Alanin) homozigot normal, CT (Alanin/Valin) heterozigot ve TT (Valin/Valin) homozigot mutant genotipler görülmektedir. Homozigot normal (CC), Heterozigot (CT) ve homozigot (TT) polimorfizmlerde MTHFR aktivitesi sırasıyla, %100, %65 ve %30 olarak bildirilmektedir. Toplumda görülme sıklıkları ise sırasıyla %50-60, %30-40 ve %10 olarak bildirilmiştir (136).

Türkiye'de yapılan bir çalışmada homozigot mutasyon oranı %5, heterozigot mutasyon oranı %35 olarak bildirilmiştir (137). MTHFR C677T polimorfizm sıklığı ırka ve coğrafik bölgeye göre büyük değişiklik gösterir, homozigot mutasyon oranı ABD'de siyah popülasyonda ve Güney Amerika'da %1 iken Avrupa'daki toplumlarda Kuzey Amerika ve Avustralya da %6-20'dir.

Avrupada kuzeyden guneye doğru gidildikce gorulme sikligi artar (138). MTHFR'nin C677T polimorfizminin; meme, kolon, mide, ozofagus, pankreas, endometrial kanser, akut loseimler gibi malign hastalıklarda ve kardiyovaskuler hastalıklar, noral tup kusurları, inme gibi hastalıklarda bir risk faktoru olduğu belirlenmistir (139-143). MTHFR polimorfizminden kaynaklanan azalan enzim aktivitesi, tumor supressor genlerin stabilitesini ve hipometilasyonunu etkiler (23). Bir kısım arastirmalarda TT genotipli kisilerde akut losemi, kolorektal ve akciğer kanserlerine yakalanma riskini azaldığı, endometrium kanserine ise yakalanma riskinin arttığı ileri surulmustur. TT allelinin, muhtemelen yeterli folat alımı ile bireylerde timin ve purin sentezi icin artan 5,10 metilentetrahidrofolat duzeyi olusturarak kolorektal kanser riskini azalttığı ileri surulmektedir (144,145).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. HASTA PROFİLİ VE BİYOLOJİK GEREÇ ELDESİ

Çalışmada OMÜ Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'ndan gelen toplam 199 meme kanserli hasta incelenmiştir. Hasta seçiminde yaş sınırlaması yapılmamış ve 2002 ve 2007 yılları arasında histopatolojik olarak meme Ca tanısı konmuş her yaş grubundan hastalar incelemeye alınmıştır. Oluşturulan hasta takip formu ile hastalar hakkında gerekli bilgiler toplanmış ve hastalara bilgi olur formu imzalatılmıştır. Kontrol grubu, kendisinde ve ailesinde herhangi bir kanser olmayan sağlıklı ve 40 yaş üstü 195 kadından oluşmaktadır. Hastaların yaş ortalaması 52.44 ± 11.297 (en düşük 28, en yüksek 82), kontrollerin yaş ortalaması ise 54.06 ± 9.262 (en düşük 40, en yüksek 80) dir. Seçilen hasta ve kontrol popülasyonu, etnik köken, yaş, cinsiyet gibi özellikler bakımından birbirlerine yakındır. Çalışmamızın etik yönden uygulanabilir olduğuna 28.03.2012 tarihli OMÜ etik kurulunda (karar no:2012/549) oy birliği ile karar verilmiştir.

3.2. KULLANILAN KİMYASAL GEREÇLER

Bu çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve temin edildikleri firmalar aşağıda verilmiştir:

1. Tris (Merck)
2. EDTA (Etilendiamin tetraasetik asit) (Merck)
3. Borik asit (Sigma)
4. Etidyum bromid (EtBr) (Sigma)
5. Sodyum hidroksit (NaOH) (Merck)
6. 6xyükleme boyası (6xloading dye) (Sigma)
7. Deoksinükleosit trifosfat seti (Fermentas)
8. Primer ((MWG-Biotech AG)
9. Taq DNA Polimeraz enzimi (Sigma)
10. Restriksiyon enzimi (Fermentas)
11. Moleküler belirteç (marker) (Fermentas)
12. Agaroz (Prona)
13. Nu micropor agaroz (Prona)

3.3. KULLANILAN CİHAZLAR VE TEKNİK MALZEMELER

Aşağıda listesi verilen ve bu çalışmada kullanılan cihazlar ve teknik malzemeler, araştırmanın yapıldığı Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Moleküler Genetik Laboratuvarında bulunmaktadır.

1. Otoklav (Nüve)
2. Bidistile su cihazı (Nüve)
3. Hassas terazi (Mettler AJ 100)
4. Vorteks (Nüve NM 110)
5. pH metre (Hanna)
6. Etüv (Dedeoğlu)
7. Mikrosantrifüj (Hettich)
8. Otomatik pipetler (Ependorf, Socorex, Rainin)
9. Isı dönüştürücü (Thermal cyclers) (Biolab)
10. Yatay elektroforez tankı ve güç kaynağı (Scie-Plas)
11. UV spektrofotometrede (Vilber Lourmat)
12. UV transillumunator (Viber Laurmat)
13. UV görüntü analiz sistemi (Biolab)
14. Buzdolabı (Arçelik)
15. Derin dondurucu (Ariston)

3.4. UYGULANAN YÖNTEMLER

Hasta ve kontrollerin kan örneklerinden önceden standart salting-out (yoğun tuz konsantrasyonu ile çöktürme) yöntemi ile elde edilmiş ve -20°C’de saklanmakta olan DNA örnekleri çalışıldı. MTHFR genindeki tek nükleotid değişimi, Frosst ve arkadaşlarının yöntemine benzer şekilde PCR-RFLP yöntemi uygulanarak incelendi (Frosst ve ark., 1995).

3.4.1. Kullanılan Solusyonlar ve Bunların Hazırlanması

5×TBE: 54 gr Tris, 27.5 gr Borik asit ve 20 ml EDTA 0.5M pH:8.0 karıştırılıp bidistile su ile 1000 ml’ye tamamlanır. Oda ısısında saklanır.

1×TBE: 100 ml 5×TBE solusyonu üzerine 400 ml bidistile su eklenir. Oda ısısında saklanır.

Ethidium bromid solüsyonu (10 mg/ml): 1 gr ethidium bromid, 10 ml distile su içinde çözünür. Işık almayan bir şişe içinde +4°C’de saklanır. Stok solüsyondan, çalışma solüsyonu 0.5 mg/ml olacak şekilde hazırlanır.

0.5M EDTA pH 8.0: 18.6 gr disodyum EDTA, 80 ml bidistile su içinde çözünür. Solüsyona 2 gr NaOH tableti atılarak eritilir. pH 8.0’a ulaşınca bidistile su ile 100 ml’ye tamamlanır. Otoklavda steril edilir ve +4°C’de saklanır.

3.4.2. MTHFR Geninin PCR-RFLP Yöntemi ile Genotiplenmesi

MTHFR geni 4. ekzonda bulunan C677T (A222V) polimorfizmi, PCR-RFLP yöntemi ile çalışıldı. MTHFR geni PCR-RFLP yöntemi için 198 bç’lik bölge 5’-TGA AGG AGA AGG TGT CTG CGG GA-3’ (forward) ve 5’-AGG ACG GTG CGG TGA GAG TG-3 (reverse) primerleri kullanılarak çoğaltıldı.

MTHFR geni PCR yöntemi için yapılan optimisyon çalışmaları sonucunda 25 µl’lik reaksiyon karışımı içindeki girdilerin miktarları **Tablo 7**’de gösterildiği gibi belirlendi.

Tablo 7: TNF-β geni PCR’ı için her bir örnek başına oluşturulan reaksiyon karışımı

PCR bileşeni (stok)	25 µl karışımdaki miktar	Final konsantrasyon
10×Taq DNA polimeraz tamponu	2.5 µl	1×Tampon
dNTP mix (10 mM)	0.5 µl	200 µM
Primer forward (100 pmol/ µl)	0.1 µl	10 pmol
Primer reverse (100 pmol/ µl)	0.1 µl	10 pmol
Genomik DNA (200 ng/ 2µl)	2 µl	200 ng
Taq DNA polimeraz (1u/ 5µl)	0.2 µl	1 u
Steril bidistile su	19.6 µl	-
Toplam	25 µl	

Reaksiyon karışımları ve DNA'lar PCR tüplerine konduktan sonra ısı dönüştürücü cihazına yerleştirildi. En uygun PCR amplifikasyon koşulları, optimizasyon çalışmaları sonucunda belirlendi. Amplifikasyon koşulları; 94°C'de 5 dk ilk denaturasyon, 35 döngülük: 94°C'de 30 sn denaturasyon, 61°C'de 30 sn hibridizasyon, 72°C'de 30 sn uzama ve son olarak 72°C'de 5 dk son uzama şeklinde gerçekleştirildi. MTHFR'ye ait olan PCR ürünleri etidium bromid ile boyanmış %3'lük agaroz jelde yürütülerek 198 bç büyüklüğündeki ürün bandı gözlemlendi. Amplifikasyondan sonra MTHFR'ye ait PCR ürünlerinin her biri **Tablo 8**'de belirtilen reaksiyon karışımı oluşturulup tanıma bölgesi 5'... G↓ANTC...3' ve 3'... CTNA↑G...5' şeklinde olan *HinfI* kesim enzimi ile 37°C'de 16 saat kesime bırakıldı.

Tablo 8: MTHFR geni RFLP için her bir örnek başına oluşturulan reaksiyon karışımı

RFLP bileşeni (stok)	15 µl karışımdaki miktar	Final konsantrasyon
10× Buffer R ⁺ with BSA	1.5 µl	1× Buffer
PCR ürünü	10 µl	-
<i>HinfI</i> kesim enzimi (10 u/µl)	0.2 µl	2 u
Steril bidistile su	3.3 µl	-
Toplam	15 µl	

RFLP kesim ürünleri, etidium bromid ile boyanmış %3'lük agaroz jelde yürütülerek görüntülendi. Kesim sonucunda oluşan parçalar şu şekilde yorumlandı:

Gözlenen fragment boyları

CC (yabanıl) homozigot:	198 bç
CT heterozigot:	198 bç, 176 bç, 22 bç
TT (varyant) homozigot:	176 bç, 22 bç

3.4.3. Agaroz Jelin Hazırlanışı

Çalışmamız için % 3'lük nu micropor agaroz jel hazırlandı. Bunun için 3 gr nu micropor agaroz tartılıp erlen mayere alındıktan sonra üzerine 100 ml 1XTBE eklenip

mikrodalgada iyice çözünene kadar kaynatıldı. Sonradan soğumaya bırakılan jelin sıcaklığı 80 °C'ye ulaşınca üzerine (çeker ocak açık haldeyken) 100µl EtBr (0.5mg/ml'lik çalışma solüsyondan) eklendi ve jel iyice çalkalanıp tараğı yerleştirilmiş olan jel kabına döküldü. En az 1 saat beklenip jel donduktan sonra taraklar çıkarılıp jelde oluşan kuyulara PCR ürünleri yüklendi.

3.4.4. Agaroz Jel Elektroforezi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

10 µl PCR ürünü 2 µl 6X jel yükleme boyası (6X loading dye), 15 µl RFLP ürünü ise 3 µl 6X jel yükleme boyası (6X loading dye) ile karıştırılarak jeldeki kuyulara yüklendi. Kuyulardan birine ise 2µl pUC19 DNA/MspI (HpaII) adlı moleküler belirteç (marker), 3µl 6X jel yükleme boyası ve 13µl 1×TBE solüsyonu ile karıştırılarak yüklendi. Elektroforez 120 volt'da PCR ürünü için 30 dk, RFLP ürünü için 45 dk süreyle yapıldı. Elektroforez sonunda, jel >320 nm boyunda transillüminatörde incelenerek belirteç ve DNA'ların gittikleri mesafelerden yararlanarak, DNA fragmentlerinin uzunluğu hesaplandı. Jel fotoğrafları, UV görüntü analiz sisteminde çekildi.

3.5. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

İstatistiksel analizler için SPSS version 13.0 (Statistical Package for the Social Sciences) ve OpenEpi Info software package version 2.3.1 kullanıldı. Hasta ve kontrollerin genotip dağılımlarının Hardy-Weinberg dengesi ile uyumuna ki-kare (χ^2) testi ile bakıldı. MTHFR geni C677T polimorfizmini ile hastaların klinik ve demografik karakterleri arasındaki ilişki χ^2 veya ANOVA testleri ile değerlendirildi. Ayrıca hasta ve kontrol grupları arasındaki allel ve genotip frekanslarını karşılaştırmak için χ^2 , p değeri, olasılık oranları (OR) ve %95 güven aralıkları (CI) hesaplandı. Bütün p değerleri 2-kuyruklu idi ve 0.05'den küçük olan p değerleri anlamlı kabul edildi. Elde edilen sonuçlar incelenerek meme kanserinin polimorfik bölge ile ilişkisi olup olmadığı değerlendirildi.

5. BULGULAR

5.1. ÇALIŞMA GRUBU İLE İLGİLİ DEMOGRAFİK KARAKTERLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Bu çalışmada, MTHFR C677T polimorfizminin meme kanseri ile olan ilişkisinin araştırılması amacıyla 199 meme kanserli kadın hasta ile kendisinde ve ailesinde herhangi bir kanser öyküsü olmayan sağlıklı ve 40 yaş üstü 195 kadın kontrol incelendi. Hastaların yaş ortalaması 52.44 ± 11.297 (en düşük 28, en yüksek 82), kontrollerin yaş ortalaması ise 54.06 ± 9.262 (en düşük 40, en yüksek 80) idi. Hastalar ve kontroller arasında sigara kullanımı açısından herhangi bir farklılık yoktu ve her iki grupta da sigara kullanmayanların sayısı daha fazlaydı (sırasıyla %83.5 ve %85.5).

Hasta grubu: Meme kanserli hastaların aile öyküsü, sigara kullanımı, klinik tanı, kanserin tipi ve evresi, menarş ve menapoz yaşı, doğum sayısı ve ortalama emzirme süresi ile östrojen ve progesteron reseptörlerinin durumu gibi demografik karakterleri Tablo 3’de gösterilmiştir. Hastalarda meme kanserinin başlama yaşlarına bakıldığında, hastalığa 50 yaşın altı ve üstünde yakalananların sayısının hemen hemen eşit olduğu görüldü. (sırasıyla %52.9, %47.1) Hastaların %54.7’sinde kanserle ilgili hiçbir aile öyküsü yoktu; %14.6’sının ailesinde meme kanserinin, %30.7’in ise diğer kanser tiplerinin gözlemlendiği aile bireyleri vardı. Bilateral meme kanseri tanısı konmuş hastaların sayısı az olup (%6.1), sol veya sağ meme kanseri tanısı konmuş hastaların sayısı birbirine çok yakındı. Hastaların %88.9’ine duktal karsinom, %5.8’sına ise lobular karsinom tanısı konmuştu. Hastaların patolojik evrelerine bakıldığında, en fazla evre III’in (%46,2) olduğu, bunu da %38,6 ile evre II’nın izlediği görüldü. Hastaların çoğunluğunun (%79,3) menarş başlama yaşı 15’in altındaydı ve %37,4’ü henüz menapoza girmemişti. Menapoz yaşı hastaların yarısından çoğunda 40 yaşın üzerindeydi (%56,7). Ortalama emzirme süreleri çoğunlukla 6 aydan fazlaydı (%63,1). ER pozitif olanların sayısı (%69,9) ve PR pozitif olanların sayısı (%56,9) negatif olanlardan fazlaydı. (Tablo 3)

Tablo 3: Meme kanserli hastaların demografik özelliklerinin dağılımı, genotip sonuçları ve p değerleri

	Toplam n (%)	MTHFR C677T			P değeri[#]
		CC	CT	TT	
Hastalığın başlama yaşı *	191				
< 50	101 (52.9)	55 (54,5)	35 (34,7)	11 (10,9)	0.376
≥ 50	90 (47.1)	40 (44,4)	39(43,3)	11 (12,2)	
Ailede kanser öyküsü	192				
Meme kanseri	28 (14.6)	16 (57,1)	8 (28,6)	4 (14,3)	0.598
Diğer tip kanser	59 (30,7)	31 (52,5)	24 (40,7)	4 (6,8)	
Hiçbir kanserli akrabası bulunmayan	105 (54.7)	51 (48,6)	140 (38,1)	14 (13,3)	
Klinik tanı	180				
Bilateral meme kanseri	11 (6.1)	6 (54,5)	5 (45,5)	0 (0)	0.600
Sol meme kanseri	85 (47,2)	43 (50,6)	30 (35,3)	12 (14,1)	
Sağ meme kanseri	84 (46.7)	41 (48,8)	35 (41,7)	8 (9,5)	
Meme kanserinin tipi	190				
Duktal karsinom	169 (88.9)	88 (52,1)	61(36,1)	20 (11,8)	0.038
Lobüler karsinom	11 (5,8)	8 (72,7)	2 (18,2)	1 (9,1)	
Diğer	10 (5.3)	2(20,0)	8 (80,0)	0 (0)	

Meme kanserinin evresi	158				
Evre I	18 (11,4)	9 (50,0)	6 (33,3)	3 (16,7)	0,096
Evre II	61 (38,6)	33 (54,1)	21(34,4)	7 (11,5)	
Evre III	73 (46,2)	38 (52,1)	27 (37,0)	8 (10,9)	
Evre IV	6 (3,8)	0(0)	6 (100)	0 (0)	
Menarş yaşı	174				
< 15 yaş	138 (79,3)	64(46,4)	56 (40,6)	18 (13,0)	0.220
≥ 15 yaş	36 (20,7)	22 (61,1)	1 (33,3)	2 (5,6)	
Menapoz yaşı	187				
Menapoza henüz girmemiş	70 (37,4)	38 (54,3)	24 (34,3)	8 (11,4)	0.457
< 40 yaş	11 (5,9)	3 (27,3)	7 (63,6)	1 (9,1)	
≥ 40 yaş	106 (56,7)	53 (50,0)	40 (37,7)	13 (12,3)	
Doğum sayısı	185				
Hiç çocuğu olmayan	20 (10,8)	8 (40,0)	11 (55,0)	1(5,0)	0.262
1 çocuk	18 (9,7)	8 (44,4)	6 (33,3)	4 (22,2)	
≥ 2 çocuk	147 (79,5)	78 (53,1)	54 (36,7)	15 (10,2)	
Ortalama emzirme süresi	187				
Hiç emzirmemiş	28 (15,0)	11 (39,3)	14 (50,0)	3 (10,7)	0.295
< 6 ay	41 (21,9)	26 (63,4)	13 (31,7)	2(4,9)	
≥ 6 ay	118 (63,1)	59 (50,0)	45(38,1)	14 (11,9)	
Östrojen reseptör	153				
Pozitif	107 (69,9)	55 (51,4)	39 (6,4)	13 (12,1)	0.901
Negatif	46 (30,1)	25 (4,3)	15 (32,6)	6 (13,0)	
	123				

Progesteron reseptör					
Pozitif	70 (56,9)	31 (44,3)	27 (38,6)	12 (17,1)	0.123
Negatif	53(43,1)	30 (56,6)	20 (37,7)	3 (5,7)	

İstatistiksel olarak anlamlı olan sonuçlar kalın karakterle yazılmıştır

* Hastalar için meme kanseri tanısının ilk konduğu yaş

χ^2 testi uygulandı

5.2. MTHFR GENİ POLİMORFİZMİ

MTHFR geni C677T polimorfizmi için, çalışılan 199 hastanın 102'sinin (%51,3) CC homozigot, 75 'inin (%37,7) CT heterozigot, 22'sinin (%11,1) TT homozigot; 195 kontrolün ise 101'inin (%51,8) CC homozigot, 81'inin (%41,5) CT heterozigot, 13'inin (%6,7) TT heterozigot olduğu tesbit edildi (Tablo 4) Kontrol grubunun SNP dağılımı, Hardy-Weinberg Dengesi ile uyum içindeydi. Hasta ve kontrollerin genotip ve allel sıklıkları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (sırasıyla $p=0.285$ ve $p=0.445$). Genotiplerden, CC+CT'ye karşılık TT veya CC'ye karşılık CT+TT karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak bir ilişki tesbit edilmedi (sırasıyla $p=0.126$ ve $p=0.915$). Aynı zamanda meme kanserli hastaların aile öyküsü, sigara kullanımı, klinik tanı, kanserin evresi, menarş ve menapoz yaşı, doğum sayısı ve ortalama emzirme süresi ile östrojen ve progesteron reseptörlerinin durumu ile MTHFR polimorfizmi arasında bir ilişki saptanmadı. (Tablo 3) Fakat meme kanserinin tipi ile MTHFR geni C677T polimorfizmi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu gözlenmiş olup ($p=0.038$) (Tablo 3). İstatistiksel olarak anlamlı olmasada TT homozigot bireylere, hasta popülasyonunda kontrollere göre daha sık rastlanmıştır.

Tablo 4: MTHFR gen polimorfizminin genotip ve allel dağılımlarının hasta ve kontrollerde karşılaştırılması

	Hastalar (n=199) (%)	Kontroller (n=195) (%)	P değeri	OR (%95 CI)
Genotipler				
CC	102 (51,3)	101 (51,8)	0.285	
CT	75 (37,7)	81 (41,5)		
TT	22 (11,1)	13 (6,7)		
CC+CT : TT	177 : 22	182 : 13	0.126	1.738 (0.85-3.65)
CC : CT+TT	102 : 97	101 : 94	0.915	1.022 (0.69-1.52)
Alleller				
C	279 (70,1)	283 (72,6)	0.445	1.128 (0.83-1.54)
T	119 (29,9)	107 (27,4)		

6. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Meme kanseri, Akciğer kanserinden sonra dünyada en sık görülen kanserdir. Kadınlarda ise en sık görülen kanserdir ve tüm kadın kanserlerinin %23'ünü oluşturmaktadır.(1-7). Amerika Birleşik Devletleri 2011 verilerine göre her 8 kadından biri yaşam boyu meme kanseri riski ile karşı karşıya kalacaktır .(8)Ülkemiz açısından da, kadınlar arasında en sık görülen on kanser tipi içerisinde meme kanseri birinci sırada yer almaktadır(9)

Meme kanserine yatkınlığa neden olan bir çok aday gen bildirilmiştir. Bunlar MTHFR, CYP19(11), SOD2(12), CASP8(62) ,SULT1A1(63), GSM1(64), COX2(65), Hogg1(66) vb.dir. MTHFR enzim aktivitesindeki değişiklikler ; DNA sentezi, tamiri ve metilasyonu süreçlerinde etkili olabildiğinden, MTHFR bu genler arasında birincil derecede önemli bir yere sahiptir.(146-149) MTHFR aktivitesindeki düşme; DNA'da üridilat hatalı eşleşmesine neden olduğu, DNA hasarından hücreleri koruyabilen ,sitozolik 5,10-metilentetrahidrofolatın artmış seviyeleriyle sonuçlanır. Birbirinden bağımsız bazı çalışmalar, MTHFR 677T allelinin kolon kanseri ve akut lenfositik lösemi riskini düşürdüğü hipotezini desteklemektedir. (150-152) Buna karşın MTHFR 677T alleli artmış endometrial kanser ve servikal intraepitelyal kanser riski ile birliktelik göstermektedir.(153,154)

Bu çalışmada, MTHFR C677T polimorfizminin meme kanseri ile olan ilişkisinin araştırılması amacıyla 199 meme kanserli kadın hasta ile kendisinde ve ailesinde herhangi bir kanser öyküsü olmayan sağlıklı ve 40 yaş üstü 195 kadın kontrol incelendi.

Hasta ve kontrollerin genotip ve allel sıklıkları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (sırasıyla $p=0.285$ ve $p=0.445$). Genotiplerden, CC+CT'ye karşılık TT veya CC'ye karşılık CT+TT karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak bir ilişki tesbit edilmedi (sırasıyla $p=0.126$ ve $p=0.915$). Aynı zamanda meme kanserli hastaların yaş, aile öyküsü, sigara kullanımı, klinik tanı, kanserin evresi, menarş ve menapoz yaşı, doğum sayısı ve ortalama emzirme süresi ile östrojen ve progesteron reseptörlerinin durumu ile MTHFR polimorfizmi arasında bir ilişki saptanmadı. Fakat meme kanserinin infiltratif duktal karsinom tipi için MTHFR geni

C677T polimorfizmi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu gözlenmiştir. ($p=0.038$) Ayrıca istatistiksel olarak anlamlı olmasa da TT homozigot olan hastalarda meme kanseri görülme sayısı kontrole göre daha yüksekti.

Son yıllarda yayınlanmış 2 büyük meta analizden ilki, 41 çalışmanın değerlendirildiği 16480 hastayla, 22388 kontrolün karşılaştırıldığı Qi ve ark. (2010) ait olandır. Qi ve ark. (2010), C677T polimorfizmi için yapılan genel analizlerde, meme kanseri riski açısından anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. (T vs. C: OR = 1.041, 95% CI = 1.009–1.073; TT vs. CC: OR = 1.132, 95% CI = 1.019–1.259; TT vs. CC + CT: OR = 1.119, 95% CI = 1.014–1.236)Etnisiteye bağlı alt grup analizlerinde özellikle Doğu Asya popülasyonunda yüksek risk bulunmuştur. (T vs. C: OR = 1.121, 95% CI = 1.016–1.237; TTvs. CC: OR = 1.331, 95% CI = 1.073–1.650; TT vs.CC + CT: OR = 1.265, 95% CI = 1.058–1.513)Ancak beyaz popülasyonda ve menopozal duruma bağlı olarak yapılan alt grup çalışmalarında istatistiksel olarak anlamlı bir birliktelik gösterilememiştir. Fonksiyonel MTHFR C677T polimorfizminin meme kanseri gelişiminde düşük penetranslı bir rol oynadığı sonucuna varılabilir denilmiştir. Yine bu araştırmada MTHFR polimorfizmi ile Doğu Asyalılardaki meme kanseri riski arasında önemli bir birliktelik gösterilmiştir. Ancak bu ilişki beyaz ırkta ve menopozal popülasyonda bu kadar anlamlı olarak bulunmamış ve bunda hastaların yaşadığı çevredeki ve genetik geçmişlerindeki, etnik farklılıkların olası bir rol oynadığı sonucuna varılmıştır. Meta-analiz 41 çalışmayı içeriyordu. Bunlardan 4'ü Türkiye'dendi. Ayrıca çalışmadaki bilgiler bizim çalışmamızın aksine; yaşa, aile öyküsü, sigara kullanımı, klinik tanı, kanserin evresi, doğum sayısı ve ortalama emzirme süresi ile östrojen ve progesteron reseptörlerinin durumuna göre değerlendirilememiş ve bu etkenlerinde değerlendirildiği bir çalışmanın daha değerli olacağına değinilmiştir.(155)

İkinci büyük meta analiz olan, Zhang ve ark (2010). meta analizinde 15.260 vaka ve 20.411 kontrol grubu kişinin içinde bulunduğu 37 çalışma bulunmaktadır. Sonuçta meta-analizin içindeki tüm çalışmalar için içine katıldığında, dominant genetik modelde ve homozigot TT genotipinin olduğu varyantlarda meme kanseri riski önemli ölçüde artmıştır. (TT vs. CC:OR = 1.11, 95% CI = 1.01–1.23; dominant model:OR = 1.04, 95% CI = 1.00–1.09) Bizim çalışmamızda da istatistiksel olarak anlamlı olmasada

TT homozigot bireylere, hasta popülasyonunda kontrollere göre daha sık rastlanılmıştır. Etnisiteye göre yapılan alt grup analizlerde, Asyalılar arasındaki TT allel taşıyıcıları için önemli ölçüde artmış risk bulunmuştur. (TT vs. CC:OR = 1.18, 95% CI = 1.04–1.35; resesif model:OR = 1.15, 95% CI = 1.03–1.29) Çalışma yerlerine göre sınıflandırılma yapıldığında ,istatistiki olarak hastane kaynaklı çalışmalarda riskin, önemli ölçüde arttığı gözlenmiştir. (TT vs. CC: OR = 1.18,95% CI = 1.02–1.38; resesif model: OR = 1.17, 95%CI = 1.05–1.29). Bizim çalışmamızın aksine „menopozal duruma bağlı yapılan alt-grup analizlerde, istatistiki olarak post-menopozal kadınlarda riskin ,önemli ölçüde arttığı bulunmuştur. (CT vs. CC: OR = 1.12,95% CI = 1.02–1.23; dominant model: OR = 1.11, 95%CI = 1.01–1.22). Sonuç olarak Zhang ve ark.(2010) metaanalizinde, MTHFR T allelinin meme kanseri için düşük penetranlı bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir.(156)

Zhang ve ark (2010) tarafından yapılan çalışma ,ilk araştırmada bahsedilen 4 çalışmayı da(Türkiye'den)içeren toplam 37 çalışmayı kapsamaktaydı. Yazarlar, meta-analizi, etnik gruplara göre ve tümü birlikte olmak üzere iki sınıfta incelemişlerdir. Bu araştırma sonucunda ,TT varyant genotipi; hem Asyalılarda hem de genel sonuçlarda ,önemli ölçüde meme kanseri riskiyle ilişkili bulundu. Yazarların bu 37 çalışmayı bir araya getirip büyük bir meta-analiz oluşturmasına ve değişik etnisiteleri sınıflandırmasına rağmen(Beyaz ırk ,Asyalı, karışık popülasyon, sınıflandırılmamış) etnik alt gruplara bağlı olarak yapılan analizlerde sadece iki etnik grubun incelendiği sonuçlar bulunmaktaydı.(Beyazlar ve Asyalılar)Eğer diğer iki etnik alt grup meta-analizin dışında bırakılmasaydı ,yapılan araştırma sonuçları daha fazla dikkat çekecekti. Ayrıca bir önceki araştırmanın aksine bu araştırmada Türkler beyaz ırk olarak değil karışık ırk olarak değerlendirilmiştir. Bu nedenle bu çalışmanın türk popülasyonuna genellenmesi üzerine çekinceler oluşmaktadır. Tüm bu yapılan çalışmalar göstermektedir ki MTHFR C677T polimorfizmi etnik kökene göre büyük değişiklikler göstermektedir. Ayrıca folat alımı durumunun çalışmalara net olarak dahil edilememesi tartışılabilir bir diğer durumdur. Bundan önceki çalışmalarda, diyetle alınan folat ve MTHFR C677T genotipinin kanserle olan birlikteliği birlikte değerlendirilmişti.Shrubsole ve ark. (2004). Shangai Breast Cancer Study'deki araştırmalarda ,MTHFR C677T polimorfizminin meme kanseri ve diyetle alınan folat'ın emilimi arasındaki ilişkiyi değiştirdiğini ileri sürmüştür (157). Bizim çalışmamızda serum folat seviyeleri veya

diyetle alınan folat alımı ölçülmedi. Bu yüzden biz MTHFR C677T polimorfizmi ile diyetle alınan folat alımı veya folat seviyeleri arasındaki ilişki hakkındaki tartışmaya bir şey katamıyoruz.

Türk popülasyonunda yapılan çalışmalara bakıldığında ilk önemli çalışma, Ergül ve ark. (2003) sporadik meme kanserli 118 premenapozal beyaz kadın ve 193 kontrol grubu kadın ile yapılan çalışmadır. Meme kanserli hastalarda MTHFR 677T allel sıklığı %31.36ydı. Bu oran kontrol grubunda %28.76 olup istatistiki olarak anlamlıydı. MTHFR C677C,C677T ve T677T genotiplerinin sıklıkları,meme kanserli hastalarda sırasıyla %50.8 , 33.9 ve 14.4tü. Bu oranlar kontrol grubunda %48.7 , 45.1 ve 6.2ydi.T677T genotipinin meme kanseri için 2.539 kat artmış risk bulunmuştur. C677C genotipinin ,60 meme kanserli vakada (50.8) ve 94 kontrol grubu kadında (48.7) olduğunu;C677T genotipinin, 41 meme kanserli vakada %33.9 ve 87 kontrol grubu kadında (45.1) ve T677T genotipinin, 17 meme kanserli vakada (14.4) ve 12 kontrol grubu kadında olduğu bulunmuştur. MTHFR 1298 ve MTHFR 677T polimorfizmlerinin ortak etkilerinin araştırıldığı analizin sonuçlarına göre C677C/A1298A bileşik genotipli bireylerin meme kanseri için koruyucu bir etkiye sahip olduğunu bulunmuştur..Bununla birlikte C677C/C1298C ve T677T/A1298A bileşik genotipli bireylerde meme kanseri gelişimi için sırasıyla 2.301 ve 4.472 kat artmış risk gözlenmiştir. Bu çalışmada T677T/C1298C genotipi gözlenmemiştir.(158)

Türk popülasyonunda yapılmış ikinci çalışma, Deligezer ve ark.(2005) 189 hasta ve 223 hastanın karşılaştırdığı çalışmadır. .Meme kanserli hastalardaki ve kontrol grubundakilerdeki allel sıklıkları karşılaştırıldığında, valin allellinin(677T) hastalarda, kontrol grubundakilerden daha sık görüldüğü sonucu ortaya çıkmıştır.(%30.1-%23.9)Bu fark ,zayıf derecede önemli bir birliktelik olduğu sonucunu oluşturmaktadır denilmiştir. Bizim çalışmamızda da istatiksel olarak anlamlı olmasada TT homozigot bireylere, hasta popülasyonunda kontrollere göre daha sık rastlanmıştır.

Vaka ve kontrol grubu arasındaki genotip sıklıklarının karşılaştırılması, homozigot alaninler (677CC)referans alınarak yapılmış, allel sıklıkları arasındaki farklılıkların, hastalardaki valin homozigotları(677TT)'nın önemli ölçüde daha yüksek sıklıkta bulunması nedeniyle olduğunu bulmuşlar (12.1-%5.4) Yine bizim çalışmamızla benzer şekilde, heterozigot valin'ler(677 CT) her iki grupta da (36% vs. 37.2%) benzer bir dağılım göstermiştir.Bu nedenle heterozigot+homozigot valin kombinasyonu sıklıkları(48.1% vs. 42.6%) arasında gruplar arasında istatistiki olarak önemli bir fark bulunamamış. Valin allelinin sıklığı sağlıklı Türk kadınlarda(%23.9) diğer popülasyonlara göre biraz daha az bulunmuştur. Örneğin bu değer,Yunanistan'da %35,Kore'de %39,Kuzey İngiltere'de %30 ve ABD'de %27-29 olarak bulunmuştur.Bununla birlikte varyant allellinin tüm popülasyondaki sıklığına bakıldığında ise(cinsiyete bakılmaksızın)dünya genelindeki dağılımların dikkat çekici şekilde farklı olduğu görülmektedir.Afrikanlı-Amerikalı 'larda bu oran %10 iken Kuzey Çin'de bu oran%63'e kadar çıkmaktadır.Bu çeşitlilik, kanser riskinin C677T polimorfizmi ile olan birlikteliği göz önüne alınarak ,değişik coğrafi alanlarda yapılan çalışmalarda gözlenen farklılıkların temelinde yatan durumdur denilmiştir.(159)

Türk popülasyonunda yapılan üçüncü önemli çalışma Hekim ve ark. (2007) ait olan 40 meme kanserli hasta (ortalama yaş:44.64+/-5.55) ve 68 sağlıklı kontrol grubu kişiyi(ortalama yaş:47.12+/-11.62) içeren çalışmadır. . Hastalarda CC,CT,TT genotipleri için MTHFR polimorfizmi sıklıkları sırayla %55,%40, ve %5 olarak bulunmuştur. .Kontrol grubunda ise bu oranlar %56,%38 ve %6 olarak gözlenmiştir.Bizim çalışmamızla benzer şekilde MTHFR genotipleri ve meme kanseri arasında istatistik olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Ayrıca hastaların aile öyküsü, metastatik risk ve MTHFR genotipleri arasında da bir ilişki gözlenmemiştir.(160)

Türk popülasyonunda yapılan dördüncü önemli çalışma Çam ve ark.(2009) ait olan. 110 meme kanserli hasta ve 95 sağlıklı kontrol grubunu içeren çalışmadır. Vaka ve kontrol grubundaki denekler karşılaştırıldığında bizim çalışmamızla benzer şekilde, MTHFR C677T genotipinin dağılımı veya meme kanserli vakalardaki allel sıklığında herhangi bir fark gözlenmedi. Yine bizim çalışmamızla benzer şekilde meme kanserli hastalarda,TT genotipinin sıklığı hafif artmış olarak bulundu ancak bu istatistiki olarak önemli değildi. Her ne kadar ,plazma homosistein seviyelerini,folat konsantrasyonlarını

ve diyet folat emilimini ölçmemiş olsak da; genotipik sonuçlarımız,meme kanseri riskiyle MTHFR C677T polimorfizminin bir ilişkisi olmadığını göstermiştir.Bununla birlikte,daha geniş serilerle yapılacak çalışmalar,nihai bir sonuca ulaşmak için gereklidir denilmiştir.(161)

MTHFR polimorfizminin etnik kökene göre büyük farklılıklar göstermesi, yapılan meta analizlerde türk popülasyonunun bazen beyaz ırk, bazense karışık ırk olarak değerlendirilmesi, Türkiyede yapılan çalışmaların hasta sayısı nedeniyle çelişkili sonuçlar vermesi üzerine, bizim çalışmamız ve türkiyede yapılmış diğer çalışmaların için içine katılacağı geniş bir türk popülasyonuna yönelik metaanaliz yapılması gerekliliği doğmuştur. Türk populasyonunda bizim ve farklı araştırmacıların yaptığı MTHFR C667T (rs1801133, Ala222Val) polimorfizmi ile meme kanseri arasındaki ilişkiliyi inceleyen vaka-kontrol çalışmalarının özellikleri aşağıdaki tablo 5 de gösterilmiştir

Tablo 5: Türk popülasyonunda MTHFR C667T (rs1801133, Ala222Val) polimorfizmi ile meme kanseri arasındaki ilişkiliyi inceleyen olgu-kontrol çalışmalarının özellikleri

İlk yazar	Yıl	Bölge	Olgu sayısı	Kontrol sayısı	Olgular					Kontroller				
					Genotipler			Alleller		Genotipler			Alleller	
					CC	CT	TT	C	T	CC	CT	TT	C	T
Ergul E. (158)	2003	Kocaeli	118	193	60	41	17	161	75	94	87	12	275	111
Deligezer U. (159)	2005	İstanbul	189	223	98	68	23	264	114	128	83	12	339	107
Hekim N. (160)	2007	İstanbul	40	68	22	16	2	60	20	38	26	4	102	34
Cam R. (161)	2009	Ankara	110	95	48	49	13	145	75	47	42	6	136	54
Mevcut çalışma	2013	Samsun	199	195	102	75	22	279	119	101	81	13	283	107
Bütün çalışmalar			656	774	330	249	77	909	403	408	319	47	1135	413

Türk popülasyonu üzerinde MTHFR için yapılan yukarıda anlatılmış olan 4 farklı çalışma ve bizim çalışmamız dahil edildiğinde, 656 vaka ve 774 kontrol değerlendirilmiştir. Yapılan analizin özeti aşağıdaki tabloda özetlenmiştir.(Tablo 6)

Tablo 6: Türk populasyonunda MTHFR C667T (rs1801133, Ala222Val) polimorfizmi ile meme kanseri arasındaki ilişkinin OR, %95CI ve p değerlerinin özetleri

Analiz modeli	OR	%95CI	p
Tüm çalışmaların etkileri (5 çalışma)			
T : C	1.128	1.035-1.434	0.017
TT : CC	2.024	1.372-3.007	0.0003
TT + CT : CC	-	-	0.363
TT : CT + CC	2.056	1.41-3.019	0.0001

Türk popülasyonu üzerinde yapılmış ilk meta analiz olan çalışmamızın alel ve genotip frekanslarına göre yapılan analizde; T:C (OR 1.128, %95CI 1.035-1.434, p 0.017) , TT:CC (OR 2.024, %95CI 1.372-3.007, p 0.003) ve TT:CT +CC (OR 2.056, %95CI 1.41-3.019 p 0.001) de istatistiksel olarak anlamlı derecede meme kanserinde risk artışı tespit edilmiştir.

Türk populasyonunda yapılan meta analiz sonucunda MTHFR gen polimorfizmi ile meme kanseri arasında ilişki olduğu tespit edilmiştir. Daha önce yapılmış çalışmalarda vaka - kontrol sayıları ve elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında , vaka – kontrol sayıları arttırıldığında daha duyarlı bir değerlendirme yapılmıştır.

7. KAYNAKLAR

1. Greenlee RT, Murray T, Bolden S, et al. Cancer Statistics. Cancer J Clin 2000; 50: 7-33.
2. Baring CC, Squires TS, Tang T. Cancer Statistics. Cancer J Clin 1993; 43: 426.
3. Silvenberg E, Lubera J: Cancer Statistics. Cancer J Clin 1987; 37: 19.
4. Contesso G. and Omar S. Breast Cancer. National Cancer Institute, Cairo University. 2001; 1-8.
5. Pisani P. Estimates of worldwide mortality from eighteen major cancers in 1985. Implication for prevention and projection of future burden. Int J Cancer 1993; 55: 891-903.
6. Ünal A. Meme Kanseri, bölüm 29. Ed: Ünal A. Klinik Cerrahi Onkoloji Ankara 1997; 389-404.
7. Ayhan F, Yorgancıoğlu R. Meme Kanseri ve Rehabilitasyon. Türkiye Klinikleri J Int Med Sci 2006; 2: 39-48.
8. Saip P, Keskin S, Özkan M, Kaplan MA, Aydoğan F, Demirağ GG , Uzunoğlu S, Engin H, Başaran G, Güler N, Uygun K, Demirkan B, Özdemir F, Çubukçu E, Salepçi T, Çiçin İ. "Türkiye'de Meme Kanseri Hastalarının Tanı Ve Tedavi Yöntemlerine Ulaşım Hızı; Çok Merkezli Gözlemsel Çalışma", Meme Sağlığı Dergisi 2011;7:2
9. T.C Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Daire Başkanlığı. Kanser bildirimlerinin değerlendirilmesi, 1991-1992. Ankara 1994: 554
10. Ozmen V, Breast cancer in the World and Turkey, J Breast Health, 2008; 4: 6-12.
11. Dunning ve ark, 1999; Weber ve Nathanson, 2000; Nathanson ve ark., 2001; Sunpaweravong ve Sunpaweravong, 2005
12. Miki ve ark., 1994; Wooster ve ark., 1995; Nelson ve ark., 2005.

13. Wooster ve ark., 1995; Blackwood ve Weber, 1998; Nathanson ve Weber, 2001; Pharoah ve ark., 2002
14. Tempfer CB, Simoni M, Destenaves B, et al. Functional genetic polymorphisms and female reproductive disorders: part I - endometriosis. *Hum Reprod Update*, 2009, 15:97-118.
15. Rady PL, Tying SK, Hundnall SD, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) The incidence of mutations C677T and A1298C in the Ashkenazi Jewish population. *Am J Med Genet*. 1999; 86:380-384.
16. Tonetti C, Burtscher A, Bories D, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase deficiency in four siblings: A clinical, biochemical, and molecular study of the family. *Am J Med Genet*. 2000; 91:363-367.
17. Goyette P, Pai A, Milos R, et al. Gene structure of human mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Mammalian Genome*, 1998; 9:652-656.
18. Goyette P, Rozen R. The thermolabile variant 677CT can further reduce activity when expressed in cis with severe mutations for human methylenetetrahydrofolate reductase. *Hum Mutat*, 2000; 16:132-138.
19. Schneider JA, Rees DC, Liu YT, et al. Worldwide distribution of a common methylenetetrahydrofolate reductase mutation. *Am J Hum Genet*, 1998; 62:1258-1260.
20. Sell SM, Lagemwa PR. Development of a highly accurate, rapid PCR-RFLP genotyping assay for the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Genet Test*, 1999; 3:287-289.
21. Demuth K, Moatti N, Hanon O, Benoit MO, Safar M, Girerd X. Opposite effects of plasma homocysteine and the methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutation on carotid artery geometry in asymptomatic adults. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998; 18:1838-43.

22. Ryan BM, Molloy AM, McManus R, Arfin Q, Kelleher D, Scott JM, Weir DG. The methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene in colorectal cancer: role in tumor development and significance of allelic loss in tumor progression. *Int J Gastrointest Cancer*. 2001;30:105-11.
23. Jang H, Mason JB, Choi SW. Genetic and epigenetic interactions between folate and aging in carcinogenesis. *J Nutr*. 2005;135:2967S-2971S.
24. Anna P. Batschauer • Nathalia G. Et al HFE, MTHFR, and FGFR4 genes polymorphisms and breast cancer in Brazilian women *Mol Cell Biochem* (2011) 357:247–253
25. Bassam Lajin & Amir Alhaj Sakur et al. Association of polymorphisms in one-carbon metabolizing genes with breast cancer risk in Syrian women, *Tumor Biol*. (2012) 33:1133–1139
26. Ragip Cam , Aydan Eroglu ve ark. Dihydrofolate reductase (DHRF) 19-bp intron-1 deletion and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphisms in breast cancer
27. Jian Zhang • Li-Xin Qiu, MTHFR C677T polymorphism associated with breast cancer susceptibility: a meta-analysis involving 15,260 cases and 20,411 controls, *Breast Cancer Res Treat* (2010) 123:549–555
28. Donegan WL. History of Breast Cancer in Breast Cancer DJ Winchester, DP Winchester, CA Hudis and L. Norton. Editors. DC Decker Inc. Ontario 2006, p.1-14.
29. Eren, N., ed. Çağlar Boyunca Toplum, Sağlık ve İnsan. Somgür Eğitim Hizmetleri Yayıncılık Ticaret Limited Şirketi, ed. N. Eren. 1996: Ankara.
30. Beenken SW, Wanger FB, Bland KI. History of the therapy of breast cancer in *The Breast*, KI Bland and EM Copeland III. Saunders – Elsevier, St.Louis 2004, p.3-18

31. Kalaycı G, Acarlı K, Demirkol K, Ertekin C. Meme hastalıkları ve tarihçe. Editör Kalaycı G. Genel Cerrahi Cilt 1. Nobel; 534-535: 2002
32. Sanders-Goebel S. Crisis and Controversy: Historical Patterns in Breast Cancer Surgery. CBMH/BCHM 8:77-99; 1991.
33. Sikorak K, et al. Genes, dreams and cancer. BMJ: 308; 1217-21: 1994.
34. Guiliano AE, Kirgan DM, Guenter JM, Morton DL. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. Ann Surg. 231, 220:391-401, 1994.
35. Habel L, Shak S, Jacobs MK et al. A. Population – based study of tumor gene expression and risk of breast cancer death among lymph node – negative patients Breast Cancer Res. 2006;8;25
36. Haagensen CD. Physicians role in detection and diagnosis of breast disease. In: Haagensen CD,ed.Disease of the breast. 3rd edition. Philedelphia, London. W.B.Saunders: 516-576; 1986.
37. Ravdin PM, Cronin KA, Howlader N, Berg CD, Chlebowski RT, Feuer EJ, et al. The decrease in breast-cancer incidence in 2003 in the United States. N Engl J Med 2007;356(16): 1670-4.
38. Fisher B. Malignancies of the Breast. In: Cameron RB (eds), Practical Oncology. Appleton & Lange, Connecticut 1994, pp 417-434.
39. Hossfeld DK, Sherman CD, Love RR, Bosch FX. Manuel of Clinical Oncology. (5 th ed).UICC, Genova 1990, pp 236-248. (Türkçeye çevrilmiş besinci baskı, 1992. T.C. Sağlık Bakanlığı Kanseri Savas Dairesi Başkanlığı ve Türk Kanseri Arastırma ve Savas Kurumu işbirliği ile yayınlanmıştır)
40. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C and Parkin DM. GLOBOCAN 2008,Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10 [Internet]. Lyon,France: International Agency for Research on Cancer; 2010. Available from:URL:<http://globocan.iarc.fr>

41. Fidaner C, Eser SY, Parkin DM, Incidence in Izmir in 1993–1994: i rst results from Izmir Cancer Registry, Eur J Cancer, 2001; 37: 83–92. (PMID: 11165134)
42. Tuncer M, Kanserin ölkemiz ve dünyadaki önemi, hastalık yükü ve kanser kontrol politikaları,. İçinde: Tuncer M (ed), Türkiye’de Kanser Kontrolü, Sağlık Bakanlığı Yayınları, No: 707, Ankara, , 2007, s :5–9
43. Ozmen V, Dünyada ve Ölkemizde Meme Kanseri Tarama ve Kayıt Programları, İçinde: Tuncer M (ed), Türkiye’de Kanser Kontrolü, Sağlık Bakanlığı Yayınları, No: 707, Ankara, 2007; s: 335–43
44. Ozmen V, Anderson BO. The Challenge of Breast Cancer in Low- and Middle-income Countries—Implementing the Breast Health Global Initiative Guidelines. US Oncology, Touch briei ng. 76-79, 2008.
45. Kirby I.B., S.W.B., Edward M. Copeland, . , ed. Schwartz’s Principles of Surgery Cerrahinin İlkeleri. Meme, ed. A.D. İ. Ethem Geçim. Vol. chapter 16. 2009, Baskı evi:İstanbul.
46. Basro, S. and J.P. Apffelstaedt, Breast cancer in young women in a limited-resource environment. World J Surg, 2010. 34(7): p. 1427-33.
47. Nixon, A.J., et al., Relationship of patient age to pathologic features of the tumor andprognosis for patients with stage I or II breast cancer. J Clin Oncol, 1994. 12(5): p. 888-94.
48. Bland, K., Copeland, EM., . Second edition. 1998, ed. The breast comprehensive management of benign and malignant diseases. ed. W. Sanford H.B., J., Gradishar, AR.,Marshall MU.,. Vol. 2. 1992, W B Saunders: USA.
49. Albain, K.S., D.C. Allred, and G.M. Clark, Breast cancer outcome and predictors of outcome: are there age differentials? J Natl Cancer Inst Monogr, 1994(16): p. 35-42.

50. Brunicardi FC, Andersen DK, Billiar TR, Dunn DL, Hunter JG, Matthews JB, Schwartz's Principles of Surgery, 9th Edition chapter 17, 2009:550-600
51. Iglehart JD, Kaelin CM. Diseases of the Breast. Townsend, Beauchamp, Evers, Mattox (eds): Sabiston Textbook of Surgery W.B. Saunders Company, Philadelphia s.555-590, 2001
52. Elledge RM, Clark GM, Chamnes GC, et al. Tumor biologic factors and breast cancer prognosis among white women in the United States. J Natl Cancer Inst 1994; 86: 705-12.
53. Swanson GM, Ragheb NE, Lin C-S, Hankey BF, Miller B, Horn-Ross P, et al. Breast cancer among black and white women in the 1980's. Cancer 1993; 72: 788-98.
54. Freeman HP. Cancer in the socio-economically disadvantaged. C.A. Cancer J Clin 1987; 39: 267-87.
55. Buell P. Changing incidence of breast cancer in Japanese American women. JNCI 1974; 51: 479-87.
56. Locke FB, King H. Cancer mortality risk among Japanese in the United States. JNCI 1980; 64: 1149-56.
57. Campbell J.B. (2002) Breast Cancer-Race, Ethnicity, and Survival: A literature Review. Breast Cancer Research and Treatment; 74:187-192.
58. Korzeniowsky S. Reproductive history and prognosis in patients with operable breast cancer. Cancer 1994; 74: 1591-94.
59. MacMahon B, Cok P, Lin TM et al. Age at first birth and cancer of the breast. A summary of an international study. Bull WHO 1970; 43: 203-212.
60. Yuan JM, Yu MC, Ross RK et al. Risk factors for breast cancer in Chinese women in Shanghai. Cancer Res 1988; 48: 1949-1952.

61. Mollengaard A, Eweretz M, Lynge E. The association between the risk of breast cancer and age at first pregnancy and parity in Maribo county, Denmark. *Acta Oncol* 1995;29:705-711.
62. Box BA, Russel CA. Breast Cancer. In: Casciato DA (Ed.). *Manual of clinical oncology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2004. p233-53.
63. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and breastfeeding: collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50302 women with breast cancer and 96973 women without the disease. *Lancet* 2002;360(9328): 187-95.
64. Shapiro, S., et al., Does hormone replacement therapy cause breast cancer? An application of causal principles to three studies: Part 1. The Collaborative Reanalysis. *J Fam Plann Reprod Health Care*, 2011. 37(2): p. 103-9.
65. Kalache, A., et al., Oral contraceptives and breast cancer. *Br J Hosp Med*, 1983. 30(4):p. 278-83.
66. Lee, S.H., et al., Androgen imbalance in premenopausal women with benign breast disease and breast cancer. *Clin Biochem*, 1999. 32(5): p. 375-80.
67. Lu Y, Ma H, Malone KE, Norman SA, Sullivan-Halley J, Marchbanks PA. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2011 Jul;20(7):1391-7. Epub 2011 May 6.
68. Courtney M.T., Mark E, Daniel B., Kenneth L.M. *Sabiston Textbook of Surgery* 17.th Edition s.880-900
69. Bartow SA, Pathak DR. Prevalence of benign, atypical, and malignant breast lesions in populations of different risk for breast cancer. *Cancer* 60: 2751, 198

70. Osborne MP. Breast development and anatomy. In: Haris JR, Lippman ME, Morrow M, Hellman S (eds). Diseases of the breast. New York: Lippincott-Raven 1996: 1–14.
71. Doll R, Peto R. The causes of cancer: Quantitative United States today. JNCI 1981;1191
72. Martin-Moreno JM, Willett WC, Gorgojo L, et al. Dietary fat olive oil intake and breast cancer risk. Int J Cancer 1994;58:774-780.
73. Cahen LA, Kendal ME, Zang E et al. Modulation of N-nitrosomethylurca-induced mammarytumor promation by dietary fiber and fat. JNCI 1991;83:496-198.
74. Knekt P, Aromoa A, Maatela J et al. Serum selenium and subsequent risk of cancer among Finnish men and women. JNCI 1991;82: 864-892.
75. Longnecker MP, Newcomb PA, Mittendorf R, Greenberg ER, Clapp RW, Bogdan GF, et al. Risk of breast cancer in relation to lifetime alcohol consumption. J Natl Cancer Inst 1995;87(12):923-9.
76. Herrington LJ. Do alcohol intake and mammographic densities interact in regard to the risk of breast cancer? Cancer 1993; 71: 3029-35.
77. Hankinson, S.E., et al., Circulating concentrations of insulin-like growth factor-I and risk of breast cancer. Lancet, 1998. 351(9113): p. 1393-6.
78. Thune, I. and A.S. Furberg, Physical activity and cancer risk: dose-response and cancer, all sites and site-specific. Med Sci Sports Exerc, 2001. 33(6 Suppl): p. S530-50; discussion S609-10.
79. Courneya KS, Katzmarzyk PT, Bacon E. Physical activity and obesity in Canadian Cancer survivors: population-based estimates from the 2005 Canadian Community Health Survey. Cancer In pres 2008.

80. Clavel-Chapelon F., Gerber M. (2002) Reproductive Factors and Breast Cancer Risk. Do They Differ According to Age At Diagnosis? Breast Cancer Research and Treatment;72
81. Bernstein L, Henderson BE, Hanisch R et al. Physical exercise activity reduces the risk of breast cancer in young women. JNCI 1991;86:1103-1107.
82. Manjer J., Berglund B.L., Garne J.P., Janzon L., Malina J. (2000) Breast Cancer Incidence in Relation to Smoking Cessation. Breast Cancer Research and Treatment;61:121-129
83. Garber J. Risk Factors. in: Silva EO, Zumda S (Eds.). Breast cancer. 3dh ed. Oxford: Elsevier Saunders; 2005. p26-53.
84. Kuzey GM, Meme k_s_m 22: Temel Patoloji, Canda T, Erhan Y, ed. Kuzey GM, Güneş Kitabevi, 2007; 705-744.
85. Boice JD, Harvey E, Blettner M et al. Cancer in the contralateral breast after radiotherapy for breast cancer. N Engl J Med 1992;326:781-787.
86. Iglehart, J., Kaelin, CM., Diseases of the Breast. , ed. Sabiston Textbook of Surgery. ed.C. Townsend, Beauchamp, RD., Evers, BM., Mattox, W.B. 2001, W.B. Saunders Company: Philadelphia, USA.
87. Kauff, N.D., et al., Risk-reducing salpingo-oophorectomy for the prevention of BRCA1-and BRCA2-associated breast and gynecologic cancer: a multicenter, prospective study. J Clin Oncol, 2008. 26(8): p. 1331-7.
88. Miki, Y., et al., A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. Science, 1994. 266(5182): p. 66-71.
89. Davidoff, A.M., et al., Maintenance of p53 alterations throughout breast cancer progression. Cancer Res, 1991. 51(10): p. 2605-10.

90. Garber J. Risk Factors. in: Silva EO, Zumda S (Eds.). Breast cancer. 3dh ed. Oxford: Elsevier Saunders; 2005. p26-53.
91. Wang D.Y., DeStavola B.L., Allen D.S., Fentiman I.S., Bulbrook R.D., Hayward J.L., Reed M.J. (1997) Breast Cancer Risk is Positively Associated with Height. *Breast Cancer Research and Treatment*;43:123-128.
92. Duthie SJ, Narayanan S, Sharp L, Little J, Basten G, Powers H. Folate, DNA stability and colo-rectal neoplasia. *Proc Nutr Soc.* 2004;63:571-8.
93. Jang H, Mason JB, Choi SW. Genetic and epigenetic interactions between folate and aging in carcinogenesis. *J Nutr.* 2005;135:2967S-2971S.
94. Baylin SB, Herman JG, Graff JR, Vertino PM, Issa JP. Alterations in DNA methylation: a fundamental aspect of neoplasia. *Adv Cancer Res* 1998;72:141–96.
95. Bird AP. The relationship of DNA methylation to cancer. *Cancer Surv* 1996;28:87–101
96. Jones PA, Laird PW. Cancer epigenetics comes of age. *Nat Genet* 1999;21:163–7.
97. Fang JY, Xiao SD. Folic acid, polymorphism of methyl-group metabolism genes, and DNA methylation in relation to GI carcinogenesis. *J Gastroenterol.* 2003;38:821-9.
98. Song C, Xing D, Tan W, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms increase risk of esophageal squamous cell carcinoma in a Chinese population. *Cancer Res* 2001;61:3272 – 5.
99. Miao X, Xing D, Tan W, et al. Susceptibility to gastric cardia adenocarcinoma and genetic polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase in an at-risk Chinese population. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002;11:1454 – 8.

100. Shrubsole MJ, Gao YT, Cai Q, et al. MTHFR polymorphisms, dietary folate intake, and breast cancer risk: results from the Shanghai Breast Cancer Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13:190 – 6.
101. Saffroy R, Pham P, Chiappini F, et al. The MTHFR 677C > T polymorphism is associated with an increased risk of hepatocellular carcinoma in patients with alcoholic cirrhosis. *Carcinogenesis* 2004;25:1443 – 8.
102. Lin J, Spitz MR, Wang Y, et al. Polymorphisms of folate metabolic genes and susceptibility to bladder cancer: a case-control study. *Carcinogenesis* 2004;25:1639 – 1647.
103. Cicek MS, Nock NL, Li L, et al. Relationship between methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C genotypes and haplotypes and prostate cancer risk and aggressiveness. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13:1331 – 6.
104. Piyathilake CJ, Macaluso M, Johanning GL, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphism increases the risk of cervical intraepithelial neoplasia. *Anticancer Res* 2000;20:1751 – 7.
105. Chen J, Giovannucci EL, Hunter DJ. MTHFR polymorphism, methylreplete diets and the risk of colorectal carcinoma and adenoma among U.S. men and women: an example of gene-environment interactions in colorectal tumorigenesis. *J Nutr* 1999;129:560 – 4S.
106. Ma J, Stampfer MJ, Giovannucci E, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, dietary interactions, and risk of colorectal cancer. *Cancer Res* 1997;57:1098 – 102.
107. Giovannucci E, Chen J, Smith-Warner SA, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase, alcohol dehydrogenase, diet, and risk of colorectal adenomas. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003;12:970 – 9.

108. Skibola CF, Smith MT, Kane E, et al. Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene are associated with susceptibility to acute leukemia in adults. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:12810 – 5.
109. Matsuo K, Suzuki R, Hamajima N, et al. Association between polymorphisms of folate- and methionine-metabolizing enzymes and susceptibility to malignant lymphoma. *Blood* 2001;97:3205 – 9.
110. Moskal A, Norat T, Ferrari P, Riboli E. Alcohol intake and colorectal cancer risk: a dose-response meta-analysis of published cohort studies. *Int J Cancer*.2007;120:664-71.
111. Zhu SS, Mason J, Shi Y, Hu YB, Li RR, Wang M, et al. The interventional effect of folic acid on the development of gastric and other gastrointestinal cancers—clinical trial and follow-up for 7 years. *Chin J Gastroenterol* 2002;7:73–8.117.
112. Homann N, Tillonen J, Salaspuro M. Microbially produced acetaldehyde from ethanol may increase the risk of colon cancer via folate deficiency. *Int J Cancer* 2000;86:169–73.
113. Kim YI, Fawaz K, Knox T, Lee YM, Norton R, Libby E, Mason JB. Colonic mucosal concentrations of folate are accurately predicted by blood measurements of folate status among individuals ingesting physiologic quantities of folate. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10:715–9.
114. Miller JW, Nadeau MR, Smith J, Smith D, Selhub J. Folate deficiency-induced homocysteinemia in rats: disruption of Sadenosylmethionine coordinate regulation of homocysteine metabolism. *Biochem J* 1994;298:415–9.
115. Lin D, Li H, Tan W, Miao X, Wang L. Genetic polymorphisms in folate-metabolizing enzymes and risk of gastroesophageal cancers: a potential nutrient-gene interaction in cancer development. *Forum Nutr.* 2007;60:140-5.

- 116.Urrutia R, DiMagno EP. Genetic markers: the key to early diagnosis and improved survival in pancreatic cancer? *Gastroenterology*. 1996;110:306-10.
- 117.Fang JY, Xiao SD. Folic acid, polymorphism of methyl-group metabolism genes, and DNA methylation in relation to GI carcinogenesis. *J Gastroenterol*. 2003;38:821-9.
- 118.Kim Y. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms, folate, and cancer risk: a paradigm of gene-nutrition interaction in carcinogenesis. *Nutr Rev* 2000;58:205–17.
- 119.Konings EJ, Goldbohm RA, Brants HA, Saris WH, van den Brandt PA. Intake of dietary folate vitamins and risk of colorectal carcinoma: results from The Netherlands Cohort Study. *Cancer* 2002;95:1421–33.
- 120.Fuchs CS, Willett WC, Colditz GA, Hunter DJ, Stampfer MJ, Speizer FE, et al. The influence of folate and multivitamin use on the familial risk of colon cancer in women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002;11:227–34.
- 121.Koorstra JB, Hustinx SR, Offerhaus GJ, Maitra A. Pancreatic carcinogenesis. *Pancreatology*. 2008;8:110-25.
- 122.Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. DNA methylation and genetic instability in colorectal cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:2545–50.
123. Li E, Beard C, Jaenisch R. Role for DNA methylation in genomic imprinting. *Nature* 1993;366:362–5.
- 124.Bor S, Vardar R, Ormeci N, Memik F, Suleymanlar I, Oguz D, Colakoglu S, Yucesoy M, Turkdogan K, Gurel S, Dogan I, Yildirim B, Goral V, Dokmeci G, Okcu N, Duman D, Simsek I, Demir A. Prevalence patterns of gastric cancers in Turkey: model of a developing country with

- high occurrence of *Helicobacter pylori*. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007;22:2242-5.
- 125.Rampersaud GC, Kauwell GPA, Hutson AD, Cerda JJ, Bailey LB. Genomic DNA methylation decreases in response to moderate folate depletion in elderly women. *Am J Clin Nutr* 2000;72: 998–1003.
 - 126.Jacob RA, Gretz DM, Taylor PC, James SJ, Pogribny IP, Miller BJ, et al. Moderate folate depletion increases plasma homocysteine and decreases lymphocyte DNA methylation in postmenopausal women. *J Nutr* 1998;128:1204–12.
 - 127.Fenech M, Aitken C, Rinaldi J. Folate, vitamin B12, homocysteine status and DNA damage in young Australian adults. *Carcinogenesis* 1998;19:1163–71.
 - 128.Fenech M. The role of folic acid and vitamin B12 in genomic stability of human cells. *Mutation Res* 2001;475:57–67.
 - 129.O’Broin S, Kelleher B. Microbiological assay on microtitre plate in serum and red cells. *J Clin Pathol* 1992;45:344–7.
 - 130.Pogribny IP, Basnakian AG, Miller BJ, Lopatina NG, Poirier LA, James SJ, et al. Breaks in genomic DNA and within the p53 gene are associated with they induce hypomethylation in livers of folate/methyldeficient rats. *Cancer Res* 1995;55:1894–901.
 - 131.Kim YI, Pogribny IP, Basnakian AG, Miller JW, Selhub J, James SJ, et al. Folate deficiency in rats induces DNA strand breaks and hypomethylation within the p53 tumor suppressor gene. *Am J Clin Nutr* 1997;65:46–52.
 - 132.Balaghi M, Wagner C. DNA methylation in folate deficiency: use of CpG methylase. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;193:1184–90.
 - 133.Choi SW, Mason JB. Folate and carcinogenesis: an integrated scheme. *J Nutr* 2000;130:129–32.

134. Goyette P, Frosst P, Rosenblatt DS, Rozen R. Seven novel mutations in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and genotype/phenotype correlations in severe methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. *Am J Hum Genet.* 1995;56:1052-9.
135. Demuth K, Moatti N, Hanon O, Benoit MO, Safar M, Girerd X. Opposite effects of plasma homocysteine and the methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutation on carotid artery geometry in asymptomatic adults. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18:1838-43.
136. Ryan BM, Molloy AM, McManus R, Arfin Q, Kelleher D, Scott JM, Weir DG. The methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene in colorectal cancer: role in tumor development and significance of allelic loss in tumor progression. *Int J Gastrointest Cancer.* 2001;30:105-11.
137. Zeybek U, Yaylim I, Yilmaz H, Ağachan B, Ergen A, Arikan S, Bayrak S, Isbir T. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism in patients with gastric and colorectal cancer. *Cell Biochem Funct.* 2007;25:419-22.
138. Rosenblatt DS. Methylenetetrahydrofolate reductase. *Clin Invest Med.* 2001;24:56-9.
139. Song C, Xing D, Tan W, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms increase risk of esophageal squamous cell carcinoma in a Chinese population. *Cancer Res* 2001;61:3272 – 5.
140. Miao X, Xing D, Tan W, et al. Susceptibility to gastric cardia adenocarcinoma and genetic polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase in an at-risk Chinese population. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002;11:1454 – 8.
141. Shrubsole MJ, Gao YT, Cai Q, et al. MTHFR polymorphisms, dietary folate intake, and breast cancer risk: results from the Shanghai Breast Cancer Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13:190 – 6.

- 142.Saffroy R, Pham P, Chiappini F, et al. The MTHFR 677C > T polymorphism is associated with an increased risk of hepatocellular carcinoma in patients with alcoholic cirrhosis. *Carcinogenesis* 2004;25:1443 – 8.
- 143.Lin J, Spitz MR, Wang Y, et al. Polymorphisms of folate metabolic genes and susceptibility to bladder cancer: a case-control study. *Carcinogenesis* 2004;25:1639 – 1647.
- 144.Chen J, Giovannucci EL, Hunter DJ. MTHFR polymorphism, methylreplete diets and the risk of colorectal carcinoma and adenoma among U.S. men and women: an example of gene environment interactions in colorectal tumorigenesis. *J Nutr* 1999;129:560 – 4S.
- 145.Ma J, Stampfer MJ, Giovannucci E, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, dietary interactions, and risk of colorectal cancer. *Cancer Res* 1997;57:1098 – 102.
- 146.Taioli E, Garza MA, Ahn YO, Bishop DT, Bost J, Budai B, Chen K, Gemignani F, Keku T, Lima CS, Le Marchand L, Matsuo K, Moreno V, Plaschke J, Pufulete M, Thomas SB, Toffoli G, Wolf CR, Moore CG, Little J (2009) Meta- and pooled analyses of the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism and colorectal cancer: a HuGE-GSEC review. *Am J Epidemiol* 170:1207–1221.
- 147.Boccia S, Hung R, Ricciardi G, Gianfagna F, Ebert MP, Fang JY, Gao CM, Go'tze T, Graziano F, Lacasan~a-Navarro M, Lin D, Lo'pez-Carrillo L, Qiao YL, Shen H, Stolzenberg-Solomon R, Takezaki T, Weng YR, Zhang FF, van Duijn CM, Boffetta P, Taioli E (2008) Meta- and pooled analyses of the methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms and gastric cancer risk: a huge-GSEC review. *Am J Epidemiol* 167:505–516.
- 148.Kim YI (2005) 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and pharmacogenetics: a new role of single nucleotide polymorphisms in

the folate metabolic pathway in human health and disease. *Nutr Rev* 63:398–407.

149. Macis D, Maisonneuve P, Johansson H, Bonanni B, Botteri E, Iodice S, Santillo B, Penco S, Gucciardo G, D'Aiuto G, Rosselli Del Turco M, Amadori M, Costa A, Decensi A (2007) Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and breast cancer risk: a nested-case-control study and a pooled meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat* 106:263–271.
150. Chen J, Giovannucci EL, Hunter DJ: MTHFR polymorphism, methyl-replete diets and the risk of colorectal carcinoma and adenoma among US men and women: An example of gene-environment interactions in colorectal tumorigenesis. *J Nutr* 1999;129:560–564.
151. Slattery ML, Potter JD, Samowitz W, Schaffer D, Leppert M: Methylenetetrahydrofolate reductase, diet, and risk of colon cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999;8:513–518.
152. Skibola CF, Smith MT, Kane E, Roman E, Rollinson S, Cartwright RA, Morgan G: Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene are associated with susceptibility to acute leukemia in adults. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:12810–12815.
153. Esteller M, Garcia A, Martinez-Palones JM, Xercavins J, Reventos J: Germ line polymorphisms in cytochrome-P450 1A1 (C4887 CYP1A1) and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) genes and endometrial cancer susceptibility. *Carcinogenesis* 1997;18: 2307–2311.
154. Piyathilake CJ, Macaluso M, Johanning GL, Whiteside M, Heimburger DC, Giuliano A: Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphism increases the risk of cervical intraepithelial neoplasia. *Anticancer Res* 2000;20:1751–1757.
155. Xiaowei Qi • Xiangyu Ma • Xinhua Yang • Linjun Fan • Yi Zhang • Fan Zhang • Li Chen • Yan Zhou • Jun Jiang: Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and breast cancer risk: a meta-analysis from 41

- studies with 16,480 cases and 22,388 controls *Breast Cancer Res Treat* (2010) 123:499–506
- 156.Jian Zhang • Li-Xin Qiu • Zhong-Hua Wang •Xiang-Hua Wu Xiao-Jian Liu • Bi-Yun Wang •Xi-Chun Hu MTHFR C677T polymorphism associated with breast cancer susceptibility: a meta-analysis involving 15,260 cases and 20,411 controls *Breast Cancer Res Treat* (2010) 123:549–555
- 157.Shrubsole MJ, Gao YT, Cai Q, et al. MTHFR polymorphisms, dietary folate intake, and breast cancer risk: results from the Shanghai Breast Cancer Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13(2): 190-196.
- 158.Emel Ergul, Ali Sazci, Zafer Utkan, N. Zafer Canturk Polymorphisms in the MTHFR Gene Are Associated with Breast Cancer *Tumor Biol* 2003;24:286–290
- 159.UGUR DELIGEZER, E. EBRU AKISIK and NEJAT DALAY Homozygosity at the C677T of the MTHFR Gene is Associated with Increased Breast Cancer Risk in the Turkish Population in vivo 19: 889-894 (2005)
- 160.Nezih Hekim, Arzu Ergen, _Ilhan Yaylım, Hülya Yılmaz, ümit Zeybek, Oğuz öztürk and Turgay Isbir No association between methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism an breast cancer *Cell Biochem Funct* 2007; 25: 115–117. DOI:10.1027/cbf.1274
- 161.Ragip Çam , Aydan Eroglu , Yonca Egin , Nejat Akar Dihydrofolate reductase (DHRF) 19-bp intron-1 deletion and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphisms in breast cancer *Breast Cancer Res Treat* (2009) 115:431–432 DOI 10.1007/s10549-008-0054-x