



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

**MEME KANSERİNDE ING3 GEN EKSPRESYONU  
VE ROLÜ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Mehmet ÇAKIR  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. M. Emin KALENDER**

**EYLÜL-2014**

**T.C.  
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**MEME KANSERİNDE ING3 GEN EKSPRESYONU  
VE ROLÜ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Mehmet ÇAKIR  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. M. Emin KALENDER**

**EYLÜL-2014**

## I. ÖNSÖZ

Bu çalışmada bana destek veren bana yön veren değerli tez hocam, asistanlık eğitimimde bilgi ve deneyimleri ile mesleki bakış açımın gelişmesinde sonsuz emeği geçen, hekimlik sanatının incelikleri ve etik değerlerini kendisinin klinik pratiği üzerinden izleme fırsatı bulduğum çok değerli tez hocam Doç. Dr. M. Emin Kalender'e ve Onkoloji Bilim Dalı hocamız Prof. Dr. Celaletdin Camcı'ya, çalışmamda bana destek veren fizyoloji anabilim dalında Doç. Dr. Beyhan Cengiz'e ve çalışmamın her basamağında değerli bilgilerini aktaran Yrd. Doç. Dr. Serdar Öztucu'ya: İç hastalıkları Anabilim Dalı başkanı Prof. Dr. Ahmet Mesut Onat'a, İç Hastalıkları Anabilim Dalındaki çok değerleri hocalarıma, beraber çalıştığım personel hemşire ve sevgili asistan arkadaşlarıma, her zaman yanımda varlığını hissettiğim sevgili eşim Suna'ya ve bana ilham veren oğlum Deniz'e sonsuz sevgi saygı teşekkürlerimi sunarım.

## II. İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VI
SİMGE VE KISALTMALAR.....	VII
TABLO LİSTESİ.....	VIII
ŞEKİL LİSTESİ.....	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Memenin Anatomisi.....	3
2.2. Meme Kanseri Tarihçesi.....	3
2.3. Meme Kanseri Epidemiyolj .....	4
2.4. Meme Kanserinde Bulgular.....	4
2.5. Meme Kanserinde Risk Faktörleri .....	5
2.5.1. Yaş ve Cinsiyet.....	5
2.5.2. Hormonal Faktörler.....	6
2.5.3. Aile Öyküsü ve Kalıtsal Geçiş.....	6
2.5.4. Diyet .....	7
2.5.5. İyonize Radyasyon.....	7
2.5.6. Kanser Öyküsü.....	8
2.6. Meme Kanseri İçin Riskli Hastaların Takibi.....	8
2.7. Meme Kanseri Prognostik ve Prediktif Faktörleri.....	9
2.7.1. Aksiller Lenf Nodu Metastazı.....	10
2.7.2. Tümör Boyutu.....	10
2.7.3. Yaş.....	10
2.7.4. Histoloji Grad .....	10
2.7.5. Östrojen ve Progesteron Reseptör Pozitifliği.....	10
2.7.6. Her2/neu.....	11
2.8. Meme Kanseri Histolojisi.....	11
2.8.1. Karsinoma in-situ.....	11
2.8.1a Duktal Karsinoma in-Situ.....	12

2.8.1b Lobüler Karsinom in-Situ.....	12
2.8.2. İnvaziv Duktal Karsinom .....	12
2.8.3. İnvaziv Lobüler Karsinoma .....	13
2.8.4. İnflamutuar Karsinom .....	14
2.8.5. Tubuler Karsinom .....	14
2.8.6. Müsinöz Karsinom .....	14
2.8.7. Medüller Karsinom .....	15
2.8.8. Paget Hastalığı.....	15
2.8.9. İnvaziv Papiller Mikrokarsinom.....	15
2.8.10. Sekretuar Karsinom.....	15
2.9. Meme Kanserinde Moleküler Sınıflama .....	16
2.10. Meme Kanserinde Evreleme .....	17
2.10.1. TNM Evrelemesi.....	17
2.10.2. Meme Kanserinde Klinik Evreleme.....	21
2.11. Meme Kanserinde Tedavi.....	22
2.11.1. DCIS ve LCIS (Evre 0) Tedavi .....	22
2.11.2. Erken Evre Meme Kanserinde Tedavi.....	23
2.11.2.a. Cerrahi Tedavi.....	23
2.11.2.b. Radyoterapi.....	24
2.11.2.c. Meme Kanserinde Adjuvan Sistemik Kemoterapi.....	25
2.11.3 Yaygın Hastalık Tedavi Yaklaşımı .....	28
2.11.3.a Hormon Reseptör Pozitif Metastatik Meme Kanseri .....	28
2.11.3.b Kemoterapi .....	29
2.12 ING-3 Geni.....	30
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	34
3.1 Meme Kanseri Hastalarından Biyopsi Örneklerinin Toplanması.....	34
3.2. Meme Kanseri Hastalarından Alınan Biyopsi Örneklerinden mRNA Eldesi.....	34
3.3. mRNA Örneklerinden Revers Transkriptaz PCR (RT-PCR) Yöntemi ile cDNA Eldesi.....	35

3.4. Elde Edilen cDNA 'lardan Kalite ve Miktar Tayini.....	36
3.5. ING3 İfade Düzeyi Ölçümü için Eş Zamanlı PCR (qRT-PCR)	
Yöntemi.....	36
3.5.1. Primer Seçimi.....	37
3.5.2. PCR bileşenleri.....	38
3.5.3. ING3 ifade düzeyi ölçümü için PCR bileşenleri.....	38
3.6. İstatistiksel Analiz.....	39
4. BULGULAR.....	40
5.TARTIŞMA.....	45
6. SONUÇ.....	49
7. KAYNAKLAR.....	50

### III. ÖZET

#### MEME KANSERİNDE ING3 GEN EKSPRESYONU VE ROLÜ

Dr. Mehmet ÇAKIR  
Uzmanlık tezi, İç Hastalıkları A.D  
Tez danışmanı: Doç. Dr. Mehmet Emin KALENDER  
Eylül 2014, 61 Sayfa

Meme kanseri kadınlarda en yaygın görülen kanserdir. Kanserden ölümler içinde akciğer kanserinden sonra ikinci sırada gelmektedir. Kanser oluşumunda, onkogenlerin yanı sıra tümör-baskılayıcı genler de rol oynamaktadır. ING tümör süpresör gen ailesi son on yıl içinde keşfedilmiş olup ING1-5'e kadar 5 farklı gen tespit edilmiştir. Hücre transkripsiyon düzenlenmesi, hücre bölünme döngüsünde kontrol, DNA tamiri, apoptozis gibi görevleri bulunmaktadır. ING3 geni şu ana kadar meme kanserinde ekspresyonu çalışılmayan bir gen olması nedeniyle biz de bu genin meme kanseri olan hastalardaki ekspresyonunu çalışmayı ve bunun neticesinde bu ilişkinin olup olmadığını ortaya koymayı amaçladık.

Çalışmamıza meme kanserli 46 kadın hasta alındı. Median yaş 49 saptandı. Hastalardan elde edilen tümör dokusu ve sağlıklı meme dokusu örneklerinden elde edilen ING3 gen ekspresyonu çalışılmış olup hastaların patolojik ve histolojik parametreleri ile değerlendirildi.

46 hastanın tümör dokusunda ve normal dokusunda ING3 gen ekspresyonu çalışıldı. Tümörlü doku ve normal dokuda ING 3 gen ekspresyon oranları karşılaştırıldığında tümörlü dokuda oran yüksek bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (  $p=0,001$ ). Östrojen reseptörü pozitif olan tümör dokusu ile negatif olanlar karşılaştırıldığında, reseptör pozitif olanlarda gen ekspresyonu oranı daha yüksek bulundu ( $p<0.001$ ). Progesteron reseptör pozitifliği olan tümör dokuları ile negatif olanlar karşılaştırıldığında reseptör pozitif olan dokularda gen ekspresyon oranı daha yüksek bulundu ( $p<0.001$ ). Meme kanseri ileri evre ( evre 3-4) olan hastaların tümörlü dokularında gen ekspresyonu erken evre hastalığı olanların dokularındakine göre daha yüksek oranda olup istatistiksel olarak zayıf anlamlı bulunmuştur ( $p=0.048$ ).

Sonuç olarak ING 3 gen ekspresyonu meme kanserinde ilk çalışma olup ING 3 geni ekspresyonunun reseptör pozitifliği ve ileri evre hastalık ile ilişkili olduğu görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Meme kanseri, ING 3 gen ekspresyonu

#### IV. ABSTRACT

### ING3 GENE EXPRESSION AND ITS ROLE AT BREAST CANCER

Dr. Mehmet ÇAKIR

Residency Thesis, Department of Internal Medicine

Supervisor: Dr. Mehmet Emin KALENDER

September 2014, 61 Pages

Breast carcinoma is most common malignancy of women. It is the most common cause of death by cancer after lung cancer. Tumor suppressor genes play a role in existence of cancer alongside oncogenes. ING gene family was discovered in last decade, there have been detected 5 types of the gene form ING 1 to 5. they have some roles such as regulation of transcription, control of cell cycle, repair of DNA and apoptosis. We aimed to study the expression of ING 3 gene in breast cancers and is there any relation between them due to the fact that there was any studies about ING 3 before.

In our study, we enrolled 46 women patients with breast cancer. Median age was 49. The expression of ING 3 in cancer tissue of patients and normal breast tissue and their histological and pathological parameters were assessed.

ING 3 gene expression in tumor tissue and normal tissue of 46 patients was studied. Statistically significant difference was found the expression of ING 3 gene between tumoral and normal tissues when it is compared (  $p=0,001$ ). Gene expression was found highly in estrogen receptor positive group according to negative group ( $p<0.001$ ). Gene expression was found highly in progesteron receptor positive group according to negative group ( $p<0.001$ ). the expression of gene was higher in advanced stage ( stage 3-4) compared to early stage( stage 1-2) and it was found statistically slightly significant (  $p=0,048$ ).

As a result there was not any study of ING 3 gene expression before and we found relationship between ING 3 expression and positive hormone receptors and the advanced stage.

**Keywords:** Breast cancer, ING 3 gene expression



**V. SİMGE VE KISALTMALAR**

<b>DKIS</b>	: Duktal karsinoma in-stu
<b>RT</b>	: Radyoterapi
<b>KT</b>	: Kemoterapi
<b>VKİ</b>	: Vücut kitle indeksi
<b>ING</b>	: İnhibitör of growth family (büyüme ailesi inhibitörü)
<b>LOH</b>	: loss of heterozygosity (heterozigotluk kaybı)
<b>LCIS</b>	: Lobüler carsinoma in-stu
<b>BRCA1</b>	: Meme Kanser Geni 1
<b>BRCA2</b>	: Meme Kanser Geni 2
<b>MRM</b>	: Modifiye radikal mastektomi
<b>MKC</b>	: Meme koruyucu cerrahi
<b>ALND</b>	: Axiller lenf nodu biyopsisi
<b>ER</b>	: Östrojen reseptör
<b>PR</b>	: Progesteron reseptör
<b>EGF</b>	: Epidermal büyüme faktörü
<b>HER2</b>	: Tirozin kinaz tip hücre yüzey reseptörü
<b>SHBG</b>	: Seks hormon bağlayıcı globulin
<b>mRNA</b>	: mesajcı RNA
<b>RT-PCR</b>	: reverz transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu
<b>SERM</b>	: Seçici österjen reseptör modülatorü
<b>HDAC</b>	: Histon deasetilaz
<b>HAT</b>	: Histon asetiltransferaz

## VI. TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Amerikan Kanser Cemiyetinin MRI kullanma kılavuzu.....	9
Tablo 2. Meme kanseri moleküler sınıflaması .....	16
Tablo 3. St. Gallen Konsensu2013 tedavi önerileri.....	17
Tablo 4. Primer tümör boyutuna göre sınıflama.....	19
Tablo 5. Lenf nodlarına göre tutlum.....	19
Tablo 6. Uzak Metastaz.....	20
Tablo 7. Histopatolojik Grad .....	20
Tablo 8. Patolojik sınıflama .....	21
Tablo 9. Meme kanseri klinik evreleme- AJCC -2009.....	22
Tablo 10. mRNA'dan cDNA elde etmek için uygulanan Revers Transkriptaz PCR reaksiyon karışımının içerikleri.....	35
Tablo 11. mRNA'dan cDNA eldesinde revers transkripsiyon için termal döngüleyici ayarları .....	36
Tablo 12. ING3 geninin ifade seviyelerinin belirlenmesi için kullanılan primer dizilimleri.....	38
Tablo 13. Tasarımı yapılan primerlerin özellikleri.....	38
Tablo 14. ING3 ifade düzeyinin ölçüldüğü eş zamanlı PCR reaksiyon karışımının içerikleri.....	38
Tablo 15. ING3 ifade düzeyinin ölçüldüğü eş zamanlı PCR ayarları.....	39
Tablo 16. Yaş dağılımı.....	40
Tablo 17. Meme kanseri hastaların tümörlerinin histopatolojik sınıflamasına göre dağılımları.....	41
Tablo 18. Meme kanseri hastaların evrelerine göre dağılımları.....	42
Tablo 19. Hastaların östrojen reseptör pozitifliği .....	42
Tablo 20. Meme kanseri hastaların progesteron reseptör pozitif oran ve dağılımları .....	42
Tablo 21. Meme kanseri hastaların tümörlü dokulardaki ING gen ekspresyonu ile aynı hastaları normal dokulardaki ING -3 gen ekspresyonu.....	43
Tablo 22. Meme kanseri hastaları ileri evre ve erken evre olarak birleştirildiğinde ING 3 gen ekspresyon oranları .....	44
Tablo 23. Östrojen reseptör ile ING3 gen ekspresyon karşılaştırması.....	44

**VII. ŞEKİL LİSTESİ**

Şekil.1. Meme anatomisi.....	3
Şekil 2. Meme Kanseri Tedavi Yönetimi.....	27
Şekil 3. Tümör dokuda ve normal dokuda ING3 gen ekspresyon oranı.....	38
Şekil 4. Hastalarımızın ING3 gen ekspresyon oranları.....	41
Şekil 5. Tümör dokuda ve normal dokuda ING3 gen ekspresyon oranı.....	43

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri kadınlardaki en sık görülen kanser olup kansere bağlı ölümlerde ikinci sırada gelmektedir (1). İngiltere’de ve Galler bölgesinde her 12 kadından biri meme kanserine yakalınırken bu oran Amerika Birleşik Devlet’inde her 9 kadından birinde olarak görülür (2). Etyopatogenizinde çeşitli faktörler rol oynar, bunlar; cinsiyet, yaş, genetik, aile öyküsü, diyet, alkol, obezite, yaşam tarzı, fiziksel hareketsizlik endokrin faktörler olarak sıralanabilir (3). Meme kanseri ile ilgili moleküler çalışma yapılmasına ve birçok anormallikler açıklanmasına rağmen meme kanserinde etkili olan genlerin büyük çoğunluğu hala bilinmemektedir. Kalıtsal olmayan kanserler ile yapılmış çalışmalarda üzerinde durulan nokta kanserin etyopatogenezinde endojen ve eksojen karsinojenler ve karsinojenlerin neden olduğu polimorfizm ve mutasyona bağlı genetik değişikliklerdir (4). Yapılan çalışmalarda meme kanserinde kalıtsal penetrasyon gösteren genler BRCA1 ve BRCA2, p53, PTEN, STK11/LKB1 ve CDH1 genleri ve biraz daha düşük penetrasyon gösteren ATM, check2, BRIP1, ve PALB2 genleri gösterilmiştir (5). Kanser oluşumunda, onkogenlerin yanısıra tümör-baskılayıcı genler de rol oynamaktadır. Onkogenler malign transformasyona neden olurken tümör baskılayıcı genler, hücre büyümesinde işlev gören genleri kontrol ederek tümör oluşumunu engellerler (6). Meme kanserlerinde p53’ün yaklaşık %60’ının nokta mutasyonu şeklinde bulunduğu, bunun birçok kanser tipinde kimyasal kanserojenlerle olduğu ileri sürülmüştür (7). Meme kanserlerinde 17p’nin kaybı ile malign histopatolojik özellikler arasında yakın ilişki vardır (8). P53 mutasyonlarının invaziv meme kanserlerinin gelişiminden önce ortaya çıktığı, özellikle yüksek histolojik dereceli DKIS’de, hastalığın önlenmesi ve tedavisi için önemli bir belirteç olduğu ileri sürülmektedir (9).

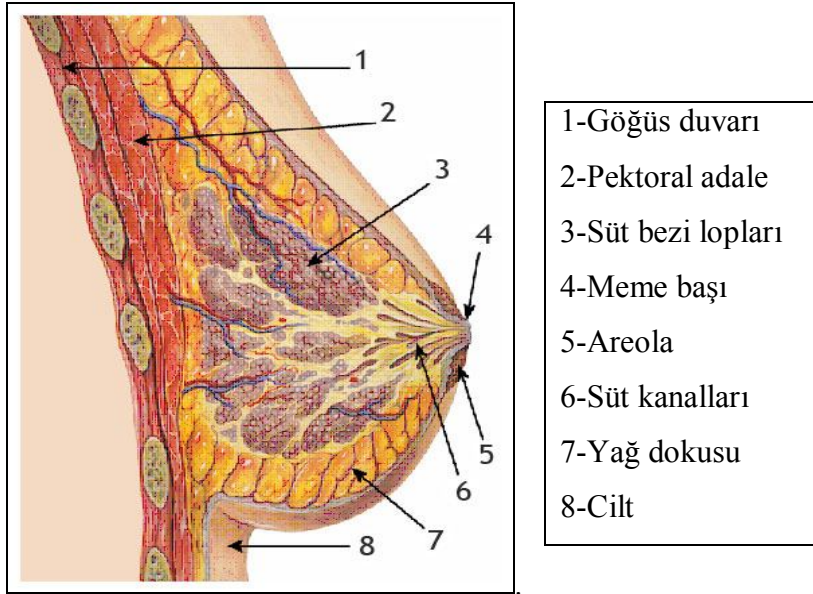
ING tümör supresor gen ailesi ise son on yıl içinde keşfedilmiş olup ING1-5 e kadar 5 farklı gen tespit edilmiştir. Hücre transkripsiyon düzenlenmesi, hücre bölünme döngüsünde kontrol, DNA tamiri, apoptozis kontrolü gibi görevleri bulunmaktadır (10). ING3 -histon 4 kompleksinin nukleozom asetil transferaz alt birimi olup, Fas aracılığı

ile transkripsiyonu CASPAS 8 yolağı ile apoptosizi kontrol eder (10). ING3 geni 7q31.3 lokalizasyonunda bulunmaktadır. 12 adet ekzondan oluşmakla birlikte 46.8 kDa ağırlığında bir protein sentez ederki bu da p53 gen ilişliki transkripsiyonu, hücresiklusunun kontrolünü ve apoptozisi kontrol eder (11). Baş-boyun tümörlerinde heterizigotluk kaybı nedeniyle ING3 gen ekspresyonu eksik olup skuamöz ING3 ekspresyonunun düşük olduğu tespit edilmiştir(12). Çalışmamızda meme kanseri olan hastaların kanserli dokularında ING3 gen proliferasyonu ile meme kanseri arasındaki ilişkinin araştırılması planlandı. ING3 geni şu ana kadar meme kanserinde bakılmayan bir gen olması nedeniyle bu genin meme kanseri hastalarındaki ekspresyonuna bakmayı amaçladık. Bunun neticesinde bu ilişkinin olup olmadığını ortaya koymayı amaçlıyoruz.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Memenin anatomisi

Meme yapısı kadın memesinde her biri meme başından başlayan, giderek daha ince dallara ayrılan ve terminal duktus lobul birimlerini oluşturarak sonlanan 6–10 adet kanallar sistemi bulunur. Terminal duktus lobul birimleri, tek bir duktusa açılan üzüm salkımı gibi keseciklerden oluşur. Bu kesecikler arasında hormona duyarlı stroma vardır. Her bir kesecik, bazal membran üzerinde miyoepitelyal hücreler ve bunlar üzerinde lümene bakan epitel hücrelerinden oluşur (13).



Şekil 1. Meme anatomisi

### 2.2. Meme Kanseri Tarihçesi

Milattan önce 3000-2500 yılları arasında Eski Mısır'da İmhotep tarafından yazıldığı tahmin edilen tıbbi bir papirusta meme kanseri ile ilgili ilk kayıtlara rastlanmıştır. İmhotep iyi hekim ve mimardır. Muhtemelen basamaklı piramid yapıyı M.Ö.30. yüzyılda planlayan kişidir. Edwin Smith'in ortaya çıkardığı bu papirusta 9 meme hastası anlatılmaktadır ve bu hastaların hepsi erkektir. İmhotep'in tanımladığı

lezyonların bir kısmı travma sonrası infeksiyon olabilir. Ancak bazı olgularda kitle oluşturan ve memeyi göğüs duvarını içine alan “soğuk” bir dokudan bahsedilmektedir. İmhotep soğuk tümörlerin hiçbir tedaviye cevap vermediğini, ellenmemesi gerektiğini vurgulamaktadır (14). İmhotep kanamayı durdurmak için koterizasyon (kızdırılmış demir aletleri ile) ve damarları bağlama tekniğini geliştiren hekimdir. Tarih öncesi dönemlerde yer alan diğer büyük kültürlerde, Hind, Çin, Aztek, Maya-İnka kazılarında meme hastalıkları ile ilgili ciddi araştırma yapılmamış veya kayıtlara rastlanmamıştır. Sadece M.Ö. 2698’de doğduğu belirtilen Çin imparatoru Huang-Di’nın yazdığı tıp kitabında genel olarak tümörlerin tanımlaması yapılmakta ve tedavi yöntemleri anlatılmaktadır. Ancak meme kanseri ile ilgili özel bir bölüm mevcut değildir (15).

### **2.3. Meme Kanseri Epidemiyolji**

Dünyada kadınlar arasında en sık meydana gelen tümör olup, kadınlarda görülen tüm kanserlerin %32’sini oluşturmaktadır (16). Amerika’da ve Batı Avrupa ülkelerinde her 8 kadından birinin hayatı boyunca meme kanserine yakalanma riski söz konusudur (17). Meme kanseri riski yaşla beraber artmakta olup, en büyük artış 40 yaşından sonra görülmektedir. En önemli risk faktörü ailevi yatkınlık olarak bilirse de yaklaşık %85’inde herhangi neden bilinmemektedir (18). Akciğer kanserinden sonra kansere bağlı mortalitede meme kanseri ikinci sırada yer alır (19). Meme kanseri insidansı Kuzey Amerika ve Kuzey Avrupa’da en yüksek iken Afrika ve Asya’da meme kanseri insidansı düşüktür (20). Bu farklılaşma yağ tüktiminde artış, obezite, erken menarş, geç menopoz, az doğum sayısı, ileri yaşlarda doğum gibi faktörlerin etkili olduğu düşünülmüyor (21). Meme kanserinin büyük ölçüde zengin ülkelerin bir sorunu olduğu yönündeki yaygın yanlış kanıya rağmen her yıl meme kanserinden ölümlerin çoğunluğu gelişmiş ülkelerde değil, gelişmekte olan ülkelerde meydana gelmektedir. Gelecekte gelişmekte olan ülkelerde meme kanseri yükünün artış göstereceğinin muhtemel nedenleri olarak artan ortalama yaşam beklentisi ve artan meme kanseri riskiyle ilişkilendirilen değişen doğurganlık ve davranış şekilleri sayılmaktadır (22).

### **2.4. Meme Kanserinde Bulgular**

Meme kanserinde en erken bulgu hastanın kendi kendine yaptığı veya sağlık çalışanının yaptığı muayene sonucu ele gelen kitledir. 20 yaşından sonra ayda bir

kadınların ayda bir kendi kendilerine ayda bir meme muayenesi önerilir. 40 yaşından sonra yılda bir mamografi, ancak meme kanseri için yüksek risk faktörü varsa 30 yaşından itibaren yıllık meme ultrasonu önerilir. Günümüzde artan bu önerilerle ile muayene ile fark edilen kitleler daha fazla tanı erken tanı almaktadır. Daha az sıklıkta bulgular ise meme cildinde kızarıklık, kendiliğinden oluşan akıntı, kızarıklık meme başında ülserasyon olarak belirti verebilir (23).

## **2.5. Meme Kanserinde Risk Faktörleri**

Meme kanserinin büyük bir çoğunluğunda etyolojiye yönelik birşey bulunamazken, bu hastalık için en önemli risk faktörleri yaş ve cinsiyet olarak söylenebilir, diğer risk faktörleri olarak çevresel, doğurganlıkla ilgili, hormonal ve genetik özellikler olarak belirtilebilir (23). Meme kanseri, en çok lobül ile terminal duktus birleşme yerindeki epitel hücrelerinin malign transformasyonu sonucu oluşan bir adenokanserdir (24). Genel olarak hücrel malign transformasyon; genetik ve epigenetik değişikliklerin genel hücre kontrol mekanizmasını bozarak, kontrol dışı hücre çoğalmasına yol açmasıyla oluşur. Burada karsinogenez, 3 gen gurubu ile ilişkilidir; proto-onkogenler, tümör supresör genler, Deoxyribonucleic acid (DNA) tamiriyle ilgili genler. Bu genlerin aktivasyonu, inaktivasyonu veya fonksiyonlarının kaybı genetik bir predispozisyonun sonucu olabileceği gibi, fiziksel (örneğin; radyasyon), kimyasal (örneğin; karsinojenler, diyet içeriği), biyolojik (örneğin; virüsler) ve diğer çevresel etmenler sonucu da olabilir. Maalesef bu karışık karsinogenetik olaylara neden olan spesifik biyokimyasal ve moleküler mekanizmalar, halen tam olarak açıklanamamaktadır (24).

### **2.5.1. Yaş ve Cinsiyet**

Risk faktörleri arasındaki en önemli faktörler kadın cinsiyet ve yaştır. Meme kanseri kadınlarda 90-100 kat daha fazla görülür. Amerika'da 2010 yılında 207000 invaziv meme kanseri görülmesine karşın erkeklerde sadece 2000 tane meme kanseri görülmüştür (25). Meme kanserinin 45-50 yaşından sonra meme kanseri insidansı hızla artmaktadır. Özellikle post menopozal dönemde daha sık görülür. Ancak aile öyküsü olanlarda meme kanseri daha erken yaşlarda görülmektedir (26).



### 2.5.2. Hormonal Faktörler

Memenin uzun süre endojen östrojene maruz kalması kanser riskini artırır. Endojen östrojen menopoz öncesi dönemde, gebelikte overlerde yapılırken, postmenopozal üretimi böbrek üstü bezlerinden üretilen dehidroepiandestriondur. Meme kanseri ile ilgili olarak erken menarş, geç menopoz, 30 yaşından sonra doğum yapma, emzirmeme gibi faktörler kanser riskini artırır (27,28). Erken menarş meme kanseri riskini artırırken, geç menarş kanser riskini azaltıyor. Yapılan bir çalışmada 1.5-2 yıl geç olan menarş meme kanseri riskini % 10 azaltmaktadır (29).

Geç menopoz da meme kanseri riskini artırıyor. 40 yaşından önce bilateral oofektomi yapılmış kadınlarda meme kanseri riskinin % 50 azaldığı saptanmıştır (30). Hiç doğum yapmayanlarda doğum yapan kadınlara göre meme kanseri gelişme riski daha fazladır. Gebeliğin getirdiği koruyucu etki doğum sonrası 10 yıl kadar devam eder (31).

Meme kanseri olan hastalarda yapılan kohort ve vaka-kontrol çalışmalarda emzirmenin kanser gelişimine karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (32). Yapılan birçok çalışmada oral kontroseptif kullanımı ile meme kanseri arasındaki ilişki tam olarak aydınlanmamıştır. Ancak yapılan analizlerde oral kontraseptif kullanımının meme kanseri riskini düşük oranda artırdığını gösterilmiştir (33).

Hormon replasman tedavisi alanlar ile hormon pozitif meme kanseri arasında ilişki gösterilmiştir. Östrojen ve progesteron kullanımı meme kanseri riskini artırmaktadır (34).

### 2.5.3. Aile Öyküsü ve Kalıtsal Geçiş

Meme kanseri olan hastaların sadece %4-9' unda ailede meme kanseri öyküsü vardır. Ailesinde birinci derecede orta veya genç yaşta meme kanseri olan bayanlarda meme kanseri riski 1.5-2 kat artmaktadır. Bununla birlikte ailesinde ileri yaşta meme kanseri öyküsü olan bir kadının meme kanseri riski normal kadınlara göre çok az artmıştır (35). BRCA -1 (17q21 kromozuna lokalize) ve BRCA-2 (13q12 kromozuna lokalize) tümör supresyon genlerinde mutasyon olan kadınlarda meme kanseri gelişme riski artmıştır (36). Yapılan çalışmalarda BRCA-1 ve BRCA-2 over kanseri ve ailesel meme kanseri ile ilişkili olduğu saptanana 2 gendir. 35 yaşından önce kadınlarda görülen meme kanserinde % 6.1 BRCA1 mutasyonu saptanmıştır (37). BRCA-1 veya

BRCA-2 mutasyonu olan bireyler hayatları boyunca % 40-75 oranında meme kanserine yakalanma ihtimalleri vardır. BRCA-1 mutasyonuna bağlı meme kanseri olan hastalar daha genç yaşlarda olup tümör dokuları yüksek mitotizm, düşük diploid oranı, daha fazla proliferasyon oranı ve daha çok östrojen progesteron reseptör negatif özellik taşırlar (38). BRCA-2 mutasyonu da erken yaşlarda görülen meme kanseri, over kanseri ve erkek meme kanseri ile ilgili olup tümör dokuları düşük mitotizm, yüksek proliferasyon ve daha fazla tubül formasyonuna sahiptir (38). BRCA-1 ve BRCA-2 Askenazi Yahudilerinde daha fazla saptanmıştır (39). Yeni tanı konmuş meme kanseri olgusu tanı sırasında 40 yaş ve altında ise, iki taraflı meme kanseri varsa, Aşkenaz kökenli ise ya da BRCA1 fenotipik özellikte kanserlere sahip ise, özellikle de az sayıda kadın yakını varsa genetik danışmanlığa yönlendirilmelidir(39). Hücre G1 siklusunda DNA tamirinde rol alan CHECK-2 mutasyonu ailesel ve sporadik meme kanseri olgularında gösterilmiş olup CHECK-2 mutasyonu erkek meme kanserinde 10 kat risk bayan meme kanserinde 2 kat riski artış yapıyor (40). PTEN, TP53, CDH1 ve STK11/LKB1 gen mutasyonları meme kanserinde çok az görülen yüksek risk oluşturan gen olup otozomal dominant geçiş gösterirler. Meme kanseri riskini 7-8 kat artırır (41).

#### **2.5.4. Diyet**

Yapılan çalışmalarda beslenme alışkanlıkları ve yaşam tarzının meme kanseri gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Sedanter yaşam, alkol ve obezite meme kanseri için risk faktörüdür (42). Obezite premenopozal irregüler ve anovulotuar sıklulara neden olarak kanser riskini azaltabiliyor, buna karşılık post menopozal dönemde meme kanseri riskini arttırabilir. Vücut kitle indeksi (VKİ) 31 olan kadınların VKİ 22 olan kadınlardan meme kanserinin riskinin 2.5 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir (42). Postmenopozal kadınlarda androjenlerin yağ dokuda aromatasizyonu, azalmış seks hormonu bindirici globulin (SHBG) ve artmış IGF -1 ile meme dokusunun fazla östrojene maruz kalması sonucu obezite meme kanseri riskini arttırmaktadır (43). Mobil bir yaşam meme kanseri riskini azaltır. Haftada düzenli olarak en az 3-4 saat egzersiz yapmanın meme kanseri riskini % 30-40 azaltıldığı gösterilmiştir (44).

#### **2.5.5. İyonize Radyasyon**

Memenin iyonize radyasyona maruz kalması bireylerde meme kanseri riskini artırır. Radyasyon maruziyeti 20 yaşından önce olmuşsa meme kanseri gelişme riski

yüksektir (45). Lenfoma tanısı almış olup 15 yaşında toraks duvarına radyoterapi almış kadınlarda sonraki yaşamlarında meme kanseri en sık görülen solid tümör olup bu kadınların meme kanseri açısından yakın takibi gerekir (46).

### **2.5.6. Kanser Öyküsü**

Özgeçmişinde meme kanseri ve over kanseri öyküsü olan kadınlarda meme kanseri gelişme riski artıyor. Bir memede tümör oluşmuşsa diğer memede tekrar tümör gelişme insidansında yıllık % 0.7-1.8 artış oluyor. Tümör görülen memede aynı memede kanser gelişme riski 10 yılda % 10'dur (47). Benign meme lezyonlarından proliferatif atipili lezyonlarda meme kanseri riski 3-4 kat, proliferatif atipsiz lezyonlarda ise risk 2 kat artmıştır (48). Fibrokistik meme hastalığının meme kanseri riskini artırmadığı gösterilmiştir (48).

### **2.6. Meme Kanseri İçin Riskli Hastaların Takibi**

Meme kanseri için yüksek risk oluşturan bireylerde riski azaltmaya yönelik olası önlemler; yakın meme takibi, selektif östrojen modülatörleri (SERMs) kullanma ve profilaktik cerrahidir. Meme kanseri için yüksek risk oluşturan kişilerde; aylık kişisel meme muayenesi yıllık mamografi, yılda 2 kez klinik muayene yapmanın bu kişilerde meme kanserinin erken tanı almasında katkı olup olmadığı hala bilinmemektedir (49). BRCA1 ve BRCA2 mutasyonu bilinen veya şüphelenilen yüksek riskli kadınlarda, manyetik rezonans görüntülemenin (MRI) geleneksel takip stratejileri ile kıyaslandığında meme kanserinin erken tespit edilmesinde daha etkili olduğunu göstermektedir. Kuhl ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, BRCA1 ve BRCA2 mutasyonu bilinen ya da şüphelenilen asemptomatik 529 kadında mamografi, ultrason ve MRI ile taramanın sonuçları karşılaştırılmıştır. Ortalama 5.3 yıllık takip sonrasında 43 meme kanseri vakası tanımlanmıştır. Duyarlılık sırasıyla mamografi, ultrason, MRI için %33, %40, %91 olarak bildirilmektedir (50). Amerikan Kanser Cemiyeti tarafından 2007'de düzenlenen uzman panel toplantısında MRI görüntülemesi için bir kılavuz geliştirildi. Amerikan Kanser Cemiyeti, meme kanseri gelişme riski %15'in altında olanların takibinde MRI kullanımını önermemektedir. Amerikan Kanser Cemiyetinin, takipte MRI kullanma kılavuzu Tablo 1'te gösterilmiştir (51).

Tablo 1: Amerikan Kanser Cemiyetinin MRI kullanma kılavuzu (51)

<b>A.KANITA DAYALI YILLIK MRI ÖNERİLENLER</b>
1.BRCA mutasyonu
2.BRCA taşıyıcısı birinci derece akrabası olan test edilmemişler
3.Yaşam boyu meme kanseri gelişme riski %20-25 olanlar
<b>B.UZMAN GÖRÜŞLERİNE DAYALI OLARAK YILLIK MRI TAKİBİ ÖNERİLENLER</b>
1.10 ve 30 yaşları arasında göğüsden radyasyona maruziyet
2.Li-Fraumeni sendromu ve birinci derece akrabalarda Cowden sendromu
<b>C.MRI TAKİBİ İÇİN YETERLİ KANIT OLMAYAN YA DA ÖNERİLMİYEN DURUMLAR</b>
1.Yaşam boyu kanser beklentisinin %15-20 olanlar
2.Atipik hiperplazi
3.Mammografide heterojen ya da aşırı derecede yoğun meme
4.DCIS içeren kişisel meme kanseri öyküsü
5.DCIS: Ductal karsinom in situ

Raloksifen osteoporozun azaltılmasında kullanılan bir SERMs'tir. Raloksifen kullanan bayanlarda meme kanseri insidansı azaldığı gösterilmiştir. Tamoksifende meme kanseri insidansı azaltıldığı gösterilmiştir. ER negatif meme kanserine bir etkileri olduğu gösterilmemiştir. ER negatif meme kanseri önleyici medikal tedavi yoktur (52).

Bilateral mastektomi veya oofektomi gibi koruyucu cerrahiler meme kanserini riskini azaltmak için uygulanan diğer yöntemlerdir. ABD de yapılan bir araştırmada 1960 ile 1993 arasında meme kanseri için orta-yüksek riskli kişilerde koruyucu amaçlı yapılmış bilateral mastektomili 639 kadın taranmış meme kanseri insidansında %90-%94, meme kanserine bağlı ölümlerde % 90-%100 azalma görülmüştür (53).

### **2.7. Meme Kanseri Prognostik ve Prediktif Faktörleri**

Meme kanseri için prognostik ve prediktif etmenler Amerika Patoloji Cemiyeti tarafından belirtilmiştir (54). Meme kanseri için prognostik faktörler;

- Aksiller lenf nodu metastazı
- Tümörün büyüklüğü

- Hastanın yaşı
- Lenfatik invazyonu
- Tümör histoljisi
- Tümör grade
- Neoadjuvan kemoterapiye yanıt
- ER/PR pozitifliği
- Her2 over ekspresyonu

### **2.7.1. Aksiller Lenf Nodu Metastazı**

Meme kanserinin aksiller lenf noduna metastaz yapması kanseri diğer organlara yayılma ihtimalinin artırır. Lenf nodu tutulumu sayısı direkt hastanın yaşam süresi ile ilgilidir. Lenf nodu tutulumu olmayan hastalar 5 yıllık sağ kalım % 70 üzerinde olup, 5 yılda tekrarlama riski % 20 nin altındadır. 10'dan fazla lenf nodu tutulumu olduğunda 5 yılda tekrarlama riski % 70-% 80 dir (55).

### **2.7.2. Tümör Boyutu**

Tümörün boyutu meme kanserin takiplerinde tekrarlama ve meme kanserine bağlı ölümlerde direkt prognostik faktördür. Tümör boyutu 2 cm den büyük olması meme kanseri için yüksek riskli kabul edilir (56).

### **2.7.3. Yaş**

Yaşın ilerlemesi ile meme kanserinde risk artmaktadır. 35 yaşından küçüklerde görülen meme kanseri daha kötü seyirli olup daha mortal seyirlidir. 35 yaş ve daha küçük hastalar yüksek riskli kabul ediliyor (57).

### **2.7.4. Histoloji Grade**

Histolojik grade'nin sağ kalım üzerine etkileri tam olarak açıklanamamıştır. Metastatik olmayan meme kanserli hastalar grade 2-3 hastalar orta riskli kabul edilmektedir (58).

### **2.7.5. Östrojen ve Progesteron Reseptör Pozitifliği**

Meme kanseri olan hastalarda ER/PR reseptör pozitifliği iyi seyirli olup, reseptörler patoloj tarafından dokular immünohistokimyasal olarak bakılmaktadır (59).

### 2.7.6. Her2/neu

Meme kanserli hastaların % 20'sinde her2 overekspresyonu vardır. Transtuzumab kullanımından önce her2 over ekspresyonu meme kanseri için kötü bir prognostur. Yapılan çalışmalarda her2 over ekspresyonu olan hastalar antrasiklinli kemoterapilere daha iyi yanıt verdiği gösterilmiştir. Aynı zamandan bu hastaların paklitaksel'de iyi yanıt verildiği gösterilmiştir (60).

İmmünohistokimyasal ile yapılan kemik iliği mikrometastazlarını saptamak, tümörlü dokuda plazminojen aktivatör inhibitör-1 yoğunluğu, timidin ile boyanan hücrelerin Ki-67 hücresel proliferasyonunu ve mitotik endeksi prognostik faktörleri arasına girmiştir (61).

## 2.8. Meme Kanseri Histolojisi

Dünya Sağlık Örgütünün meme kanserinin klinik ve patolojik özelliklerine göre yapmış olduğu sınıflama meme kanserinin takip ve tedavisinde uzun süre kullanılmıştır. Son zamanlarda meme kanserinin tümörlü dokusunda tümörün biyolojisinin ve genetiğinin daha iyi anlaşılması sonucu meme kanseri molüler alt sınıfta ayrılmış olup kemoterapiye yanıt prognost açısından değerlendirilmektedir (62).

### 2.8.1. Histolojik Sınıflandırma

Meme kanseri histolojik in situ karsinom ve invaziv karsinom olarak 2 guruba ayrılır; insitu karsinomlar meme kanserinin % 15-%20 sini, invaziv karsinomlar % 75-% 80 ninin oluştururlar.

İn situ karsinom;

- İn situ duktal karsinom
- İn situ lobuler karsino

İnvaziv karsinom;

- İnvaziv duktal karsinom
- İnvaziv lobuler karsinom
- Tubuler karsinom
- İnvaziv kribriform karsinom
- Medülller karsinom
- Müsinöz karsinom

- İnvaziv papiller karsinom
- İnvaziv mikropapiller karsinom
- Apokrin karsinom
- Sekretuar (juvenil) karsinom
- Adenoid kistik karsinom
- Metaplastik karsinom
- Nöroendokrin karsinom
- İnflamatuvar karsinom

### **2.8.1.a. Duktal Karsinoma in Situ**

En çok görülen noninvaziv meme kanseri türüdür. Tümör hücreleri duktuslara proliferere olmakta ve çevre dokulara invaze olmamaktadırlar (63). Yeni tanı almış meme kanseri olguların % 20'si duktal karsinoma insitudur. Herhangi bir müdahale edilmediği takdirde düşük proliferasyonlu olanlar 25-30 yıl içinde, yüksek proliferasyonlu olanlar 5 yıl içinde invaziv duktal karsinoma dönüşmektedir (64).

### **2.8.1.b. Lobüler Karsinom in Situ**

Sadece kadınlarda görülür. Hastaların %90'nı premenapozal dönemdedir. Terminal duktus epitelinden ve asinulardan gelişir. Asinularda proliferere olmuş tümör hücreleri bulunur. LKİS saptanan hastalarda hayat boyu invaziv karsinom gelişme riski her yıl % 1 oranındadır. Cerrahi tedavi sonrası RT veya konvansiyonel kemoterapi yapılmamaktadır (65).

### **2.8.2. İnvaziv Duktal Karsinom**

Meme kanserinin en büyük gurubunu invaziv duktal karsinom (IDK) oluşturur. Görülen meme kanserinin % 45 -% 77 'i invaziv duktal karsinomdur (66). Prognozunu aksiler lenf nodu tutulumu, tümör boyutu, patolojik özellikleri, tümörün greydi ve lenfovasküler tutulum belirler (67). İnvaziv duktal karsinomun içinde çok odakta duktal karsinoma in situ odakları vardır. IDK genellikle 50 yaş üzeri kadınlarda palpasyon ve mamografi ile tesbit edilen bir kitle şeklinde kendini gösterir. Palpe edilen kitle genellikle 2-3 cm çapındadır. Deri fiksasyonu, ödem, meme başı çekilmesi ve akıntısı Paget hastalığı ve üzeri ülserle büyük tümörler gibi ağır tablolar 1980'li yıllardan önce

sık görülüyordu. Günümüzde çok ağır meme kanseri nadiren görülmektedir. IDK diğer infiltratif karsinoma göre daha kötü bir prognoza sahiptir. Makroskopik olarak İDK, iyi sınırlı veya yıldız şeklinde infiltratif ve dışarıya doğru itilmiş kitle şekillerinin kombinasyonu şeklinde görülebilir. Yaygın fibrozis olursa "skiröz karsinom" olarak adlandırılır. Skiröz karsinom merkezde bir kitle ve bu kitleden meme dokusuna doğru uzanan uzantılar gösterir. Rengi genellikle sarımsı olup tebeşirimsi beyaz çizgilere sahiptir. Tümörler iyi sınırlı nodüler yuvarlakça veya lobüle ve yaygın değildir. Kistik değişiklikler diğer tiplere nazaran daha nadirdir. Tümörün büyüklüğü birkaç milimetreden 14 cm' yi aşan boyutlara ulaşabilir. Bilindiği üzere tümör boyutu önemli bir prognostik parametredir. Mikroskopik olarak tümör duktusları döşeyen ve içini dolduran solit hücre yuvaları, tubuluslar, bez yapıları, birbirleri ile birleşen kitleler ve tüm bunların karışımları şeklinde yapılar oluşturan malign hücrelerden meydana gelir. Tümör hücreleri; küçük, kromatinden orta derecede zengin ve nükleusları düzenli hücrelerden; iri, düzensiz ve hiperkromatik nükleuslu hücrelere kadar değişen diferansiyasyon dereceleri gösterebilir. Sıklıkla perivasküler ve perinöral invazyonlar görülür ve % 20 olguda yoğun bir lenfoplazmositer iltihabi hücre infiltrasyonu mevcuttur. Tubuler ve hücre yuvaları mioepitelyal hücrelerle çevrelenmez ve bazal membran içermezler. Tipik olarak kemik, akciğer ve karaciğere metastaz yaparlar (67).

### **2.8.3. İnvaziv Lobüler Karsinoma**

Meme kanserinin % 5 ile % 10 nünü oluşturur. Genelde oluşturduğu kitle sert ve sınırları belirsizdir. Görülme yaşı ortalama olarak 45- 57 yaşlar arasındadır. Diğer kanserlerde olduğu gibi palpe edilebilen bir kitle olarak kendini gösterir. Büyük tümörler üstteki deriye fikse hale gelebilir ya da meme başı akıntısı oluşturabilir. Paget hastalığı infiltratif lobüler karsinom (ILK) ile birlikte görülmez. ILK' lerin vakaların % 14- 31'inde multisentrik, % 4-28' inde ise bilateral olduğu bildirilmiştir. Makroskopik olarak ya düzensiz, infiltratif ya da iyi sınırlı, sertleşmiş kitleler olarak karşımıza çıkabileceği gibi bazen lezyon gözle görülemeyebilir. Mikroskopik olarak ise ILK kısa, tek sıra, düz "indian file" damarlar, duktuslar ve lobüller etrafını çevreler şekilde dizilimler yapan yer yer de lobüler bir yapılanma oluşturan uniform, küçük, yuvarlak, düşük grade nükleer özelliklere sahip hücreler tarafından karakterize edilir. Ayrıca ILK solit, alveoler, miks ve pleomorfik varyantları da bulunmaktadır. ILK' ler birkaç



milimetre boyutlardan sınırları belli olmayan yoğun geniş alanlar oluşturabilir ya da tüm memeyi tutacak şekilde masif bir tümör haline gelebilir (68).

#### **2.8.4. İnflamatuvar Karsinom**

İnflamatuvar meme kanserinin bir alt gurubunda yer alır. Meme kanserinin en kötü prognoza sahip olanıdır. Yeni tanı almış hastaların %1-2 sini oluşturur. Meme derisinde eritem, ödem ve endürasyonun oluşturduğu (peau, d orange) vardır (69).

#### **2.8.5. Tubuler Karsinom**

Duktal karsinomun bir alt tipidir. Meme kanserinin % 2'sini oluşturur. Prognozu iyi olup axiller lenf nodu metastazı % 10'nun altındadır. Sıklıkla 23-87 yaşlar arasında görülür. Ortalama yaş 50'dir. Bu tümörler % 28 multisentrik, % 12-38 oranında da bilateral olarak karşımıza çıkmaktadır. Makroskobik olarak tubuler karsinomlar 0,2- 12 cm' ye varan değişik boyutlarda olabilir. Tipik olarak sert, beyaz, yıldızvari bir görünüme sahiptir. Mikroskobik olarak yuvarlak, oval ya da angule şekilli küçük gland ya da tubullerden meydana gelir. Glandlar belirgin elastozi gösteren merkezde daha yoğun olan fibröz bir stroma içerisinde uniform olarak dağılmıştır. Tümörün periferine gidildikçe stromanın yoğunluğu azalır. Malign gland yada tubulleri, tek sıra, düşük grade 'li sitolojik ve nükleer özelliklere sahip, küboidal yada silindirik hücreler döşer. Hastaların % 65 kadarında kribriform yada mikropapiller duktal karsinoma in situ mevcut olabilir. Tübüler karsinomlar tipik olarak ER/PR pozitiflerdir. Bu tümörler fokal sklerozan adenozis ve radial skarlarla karıştırılabilirler.

#### **2.8.6. Müsinöz Karsinom**

Yeni tanı meme kanserlerinin % 2-4'nü oluşturmuş olup. Daha çok 60 yaş üstü bayanlarda gözüktür. Tümör görüntü olarak yumuşak dokulu ve jelatinöz bir yapısı var, boyutu 1 cm ile 20 cm arasında değişir. Tümör mikroskopik olarak tipik kolloid karsinom geniş müsin gölcükleri içerisinde yüzen, dar, eozinofilik sitoplazmalı, uniform, yuvarlak hücrelerin küçük gruplarından meydana gelir. Geleneksel olarak müsinöz karsinomun saf ve miks varyantları tanımlanmıştır. İnfiltratif duktal karsinom miks tümörlerde kolloid paternle birlikte bulunan en yaygın tümördür (69).

### **2.8.7. Medüller Karsinom**

Meme kanserinin % 1-5 ini oluşturur. Görülme sıklığı 50 yaş altı bayanlarda ve BRCA1 pozitif olanlarda daha fazladır. Genellikle 2-3 cm büyüklüğünde, mobil, yuvarlak, palpe edilebilen bir kitle olarak tesbit edilir. Makroskopik olarak lezyonlar fibroadenomlara benzeyen iyi sınırlı, lobüle, grimsi- beyaz renkte, yumuşak ve homojen kıvamda kitlelerdir. Mikroskopik olarak ise tümör hücreleri önemsenecek miktarlardaki gevşek fibroblastik konnektif doku ile ayrılan, anastomozlaşan kordonlar ve tabakalar oluşturan bir sinsityum olarak büyür. Tümörü oluşturan hücreler bir veya daha fazla nükleol içeren, yuvarlak veziküle nükleuslu ve geniş sitoplazmalıdır. Skuamöz metaplazi vakaların %10-16' sinda mevcut olabilir. Bundan başka % 10 oranında da atipik tümör dev hücreleri gözlemlenebilen diğer bir mikroskopik özelliktir (69).

### **2.8.8. Paget Hastalığı**

Sir. James Paget tarafından 1874' te tanımlanmış olan bu lezyon bütün meme karsinomlarının % 1-5' ini oluşturur ve meme başının yüzey epitelyumu içinde belirgin nükleoluslu, geniş ve soluk sitoplazmalı, büyük hücrelerin mevcudiyeti ile karakterizedir. Başlangıçta meme başında kızarıklık ve areolayı da içine alan kaşıntı vardır. Daha sonra pullanma, ülserasyon ve erozyonla karakterize sulantılı egzamatoid değişiklikler göze çarpar. Vakaların % 50' sinde altta ağırlı bir kitle mevcut ve genellikle tek taraflıdır.

### **2.8.9. İnvaziv Papiller Mikrokarsinom**

İnvaziv meme karsinomlarının %1-2'sini oluşturur. Genellikle mikst tipte invaziv karsinomlarda bulunur. Özellikle invaziv duktal karsinoma eşlik eden ikinci bir komponent şeklindedir. Bu tümörlerde lenfatik invazyon, lenf nodu metastazı ve multifokalite çok olduğundan prognozları kötü değildir.

### **2.8.10. Sekretuar Karsinom**

Meme karsinomların % 1 ni oluştururlar. Genellikle daha genç bayanlarda görülür.

Çok daha nadir görülen meme karsinomları metaplastik, apokrin ve nöroendeokrin karsinomlardır.

### 2.9. Meme Kanserinde Moleküler Sınıflama

Son yıllarda yapılan çalışmalar ile meme kanserinin moleküler biyolojik ve genetik davranışları daha iyi anlaşılmış olup, Perou ve ark. meme kanseri fenotipik çeşitliğinin tümörün genetik çeşitlilikle ilgili olduğu anlaşılmıştır (70). Gen ekspresyon profiline yeniden sınıflandırılmıştır. Bunlar;

Tablo 2. Meme kanseri moleküler sınıflaması

-Luminal A
-Luminal B
-Normal meme benzeri
-Her2 over eksprese eden
-Bazal benzeri meme kanseri

olarak sınıflandırılır (71). Luminal A ve Luminal B tipi tümörler hormon reseptörlerini eksprese ederler. Luminal A ER ilişkili genleri daha fazla eksprese ederken Luminal B daha çok proliferatif genleri eksprese eder ve Luminal B de prognoz daha kötüdür (71). Normal meme benzeri tümörlerin gen ekspresyon profili normal meme epiteline benzer, prognoz luminal B tipine benzerdir. Her2 overeksprese eden grup ise kromozom 17' de bulunan Her2 geninde amplifikasyon ve bu gene komşu genlerde de ko-amplifikasyon ve overekspresyon vardır. Bu tümörlerin çoğu hormon reseptör negatiftir. Her2 over eksprese eden tümörlerde sağkalım luminal A, luminal B, normal meme benzeri grublardan daha kötüdür (72). Bazal benzeri meme kanseri gurubu normal meme de bulunan bazal hücre ve myoepitelyal hücre özelliklerini taşır. PR, ER Her2 reseptör negatif ve kötü gidişli bir klinik tabloları vardır. Moleküler alt grup içinde en kötü prognozu olan grup bazal benzeri meme kanseri gurubudur (72). St. Gallen Konsensu na açıklamalarına göre moleküler alt sınıflamasının tedavi önerileri:

Tablo 3. St. Gallen Konsensu2013 tedavi önerileri

Luminal A	Endokrin tedavi
Luminal B (HER-2 negatif)	Sitotoksikler ±endokrin tedavi
Luminal B (HER-2 pozitif)	Sitotoksikler + anti-HER2+ endokrin tedavi
HER-2 pozitif (non-luminal)	Sitotoksikler + anti-HER2
Triple negatif (duktal)	Sitotoksikler

### 2.10. Meme Kanserinde Evreleme

Meme kanserinde evreleme bize tümörün yayılımı ve ciddiyeti ve prognozu hakkında belli standartlara göre bilgi verir. Hastalığın anatomik yayılımını esas alarak fizik muayene çeşitli laboratuvar parametreleri ve görüntüleme yöntemlerine göre belirlenen klinik evreleme hastalarda prognoz hakkında her zaman en doğru bilgiyi vermemektedir. Klinik evreleme tümörün hormon reseptör durumu, grade ve büyüme hızı göstergeleri gibi önemli prognoz ölçütlerini içermemektedir. Oysa cerrahi olarak çıkartılan materyalin incelenmesi ile yapılan patolojik evreleme gerçekte prognoz tayininde değerlidir. Meme kanseri evrelemesi için TNM sınıflandırılması kullanılır. T tümörün boyutunu N lenf nodu tutulumunu M ise uzak organ metazını belirtir. TNM sistemini özellikle hastalıklarının prognozu, tedavi planlanması ve verilen tedavinin takibi, tedavi veren merkezlerin aralarında daha iyi kordinasyon sağlaması ve tümör araştırmalarında yardımcı olmaları açısından kullanılır (73). TNM evreleme sistemin prensipleri ve kodları 1953 yılında G.cerrah Pierre Doneix tarafından geliştirildi ve 1968 yılındada yayınlandı. American Joint Committee on Cancer (AJCC) tarafından 7 defa ve en son 2010 yılında revize edilmiştir (74).

#### 2.10.1. TNM Evrelemesi

AJCC evreleme sistemi meme kanserini tümör boyutu (T) lenf nodu durumu (N) metastaz durumuna (M) durumuna göre 4 ayrı sınıfa ayırmaktadır. Primer tümör değerlendirilmesi fizik muayene, mamografi ve ultrasonografi ile yapılabilir. Fizik muayenede tümör saptansada, mamografi yapılmalı ve hem aynı hem de karşı memede gizli başka kanser varlığı araştırılmalıdır. Fizik muayenede saptanan tümör çapı ile patolojik incelemede belirlenen gerçek tümör çapının aynı olma oranı % 54 iken

görüntüleme yöntemleri kıyaslandığında bu oran % 59'dur. Bölgesel lenf düğümü metastazı olasılığı, nüks ve ölüm oranlarının tümör çapı ile doğrudan bağlantılı olduğu gösterilmiştir. Özellikle lenf düğümü tutulumu negatif olan olgularda hayatta kalımda primer tümörün çapı çok önemli bir prognostik belirleyici haline gelmektedir. T1a tümörlerde aksiller lenf düğümü metastazı riski % 8 iken T1b tümörlerde bu risk %12'ye çıkmaktadır (75). Tümör boyutunun lenf düğümü tutulumundan bağımsız olarak prognoz üzerinde etkili olduğu gözlenmektedir. Tümör çapı 1 cm' nin altında olan lenf düğümü tutulumu negatif hastalarda 10 yıllık sağkalım oranları % 90 veya daha iyidir. Oysa çapı 2-4 cm arasındaki tümörlerde bu oran yaklaşık % 55'tir (76).

Evrelendirme için bölgesel lenf düğümlerinin değerlendirilmesi yalnızca fizik muayene ile yapılır. İnvaziv kanserli hastalarda tutulan aksiller lenf düğümü sayısı hayatta kalımdaki en önemli prognostik belirleyicidir. 10 yıllık sağ kalım oranı aksiller lenf düğümü tutulumu negatif olgularda % 65 iken 4 ya da daha fazla lenf düğümü tutulumu olan olgularda bu oran % 15'tir. Ayrıca level 3'te çapı 2 cm'den daha büyük metastatik lenf düğümünün olması prognozu daha kötü hale getirmektedir. Eskiden komplet aksiller disseksiyon amacıyla level 1, 2 ve 3 lenf düğümlerinin tamamı çıkarılmaya çalışılırken günümüzde artık bunun gereksiz olduğu ve toplam 10 adet lenf düğümünün çıkarılmasının yeterli olduğu düşünülmektedir. Günümüzde aksiller mikrometastazların belirlenmesinde geleneksel hemotoksilen eozin boyama tekniklerinin yanısıra sitokeratin gibi immünohistokimyasal teknikler ve polimeraz zincir reaksiyonuna bakılması gibi yöntemlere de başvurulmaktadır (77).

Meme kanserinde uzak metastaz taraması kliniklere göre farklılık gösterir. Ortak görüşe göre invaziv olmayan meme kanserinde uzak tarama yapılmamasıdır. Meme kanseri en sık kemiğe metastaz yapar, ama erken evre meme kanserinin kemiğe metastazı çok az orandadır. Sintigrafi kemik metastazlarını erken evrede gösteren duyarlılığı yüksek özgüllüğü düşük bir testtir. Kemik taraması metastaz için yapılabilir. Farklı bir lezyon görüldüğü takdirde BT, MR gibi ileri görüntüleme yöntemleri kullanılabilir (77). Meme kanserli hastalarda yaşam beklentisi tümörün evresiyle ilgilidir. Evre 0 için 5 yıllık yaşam beklentisi % 99-100, evre I için %95, evreII için % 85 evre III için % 57 evre IV için % 20 dir. Hastalığın takip tedavi ve seyri için prognostik faktörler ER/PR durumu ve hastalığın evresi iyi belirlenmelidir (78). TNM evrelemesi tabloları:

Tablo 4. Primer tümör boyutuna göre sınıflama (75)

-Tx: Primer tümör de ğerlendirilemiyor -T0: Primer tümöre ait kanıt yok
-Tis: (DCIS) karsinoma in situ -Tis: (LCIS) karsinoma in situ -Tis: Tümör olmadan meme ba şında pağet hastalığı
-T1: Tümör boyutu 2 cm ve daha küçük -T1mic: mikroinvazyon 0.1 cm ya da daha küçük -T1a: Tümör 0.1-0.5 cm arasında -T1b: Tümör 0.5-1 cm arasında -T1c: Tümör 1-2 cm arasında
-T2: Tümör 2cm-5 cm arasında
-T3: Tümör >5 cm
-T4: Tümör çapı gözetilmeksizin gö ğüs duvarı ve cilt invazyonu -T4a: Gö ğüs duvarı invazyonu (pektoral kas invazyonu yok) -T4b: Ciltte ödem ya da ülserasyon ya da aynı memede satellit cilt nodüllerin varlığı -T4c: Hem T4a ve T4b'nin olması -T4d: İnflamatuvar meme

Tablo 5. Lenf nodlarına göre tutlum (75)

Bölgesel Lenf Nodülleri (N) Klinik Sınıflama.
NX: Saptanamayan bölgesel lenf nodları ( daha önce çıkartılmış ) .
N0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok.
N1: ipsilateral lenf nod(lar)ında metastaz (fikse değil).
N2: Fikse veya gruplaşmış ipsilateral aksiller lenf nodlarında metastaz veya klinik olarak belirgin aksiller lenf nodu metastazı olmadığı durumlarda klinik olarak belirgin ipsilateral internal mammaryal nodlarında metastaz: N2a: Birbirlerine veya çevre dokulara fikse ipsilateral aksiller lenf nodlarında metastaz . N2b: Sadece klinik olarak aksiller lenf nodu metastazı olmadığında klinik olarak belirgin ipsilateral internal mammaryal nodlarda metastaz olduğunda.
N3: Aksiller lenf nodu tutulumu olsun ya da olmasın ipsilateral infraklavikular lenf nod(ları) metastazı veya klinik olarak belirgin ipsilateral internal mammaryal lenf nodları metastazı ile birlikte klinik olarak belirgin aksiller lenf nodu metastazı; veya aksiller ya da internal mammaryal lenf nodu metastazı olsun ya da olmasın ipsilateral supraklavikular lenf nod(ları) metastazı N3a: İpsilateral infraklavikular lenf nod(lar)ında metastaz N3b: İpsilateral internal mammaryal lenf nod(lar)ında veya aksiller lenf nod(ları)nda metastaz N3c: İpsilateral supraklaviküler lenf nod(ları)nda metastaz

Tablo 6. Uzak Metastaz (75)

MX: Uzak metastaz bulunamıyor
M0: Uzak metastaz yok
M1: Uzak metastaz var ( Tumorün olduğu tarafta supraklaviküler lenf nodları ve karşı memenin bölgesel lenf nodlarına metastazlar dahil ).

Tablo 7. Histopatolojik Grad

Gx: Değerlendirilemiyor.
G1: İyi diferansiye.
G2: Orta derecede diferansiye.
G3: Kötü Diferansiye.
G4: İndiferansiye.

Meduller karsinom dışındaki tüm invaziv meme kanserleri derecelendirilmelidir. Buna invaziv lobuler ve müsinöz karsinomlar dahildir.

Tablo 8. Patolojik sınıflama

pNx: Bölgesel lenf nodları saptanamamakta (örn. patolojik inceleme çıkartılmamış veya daha önce çıkartılmış) .
pN0: Histolojik olarak bölgesel lenf nodu metastazı olmayan, izole tümör hücreleri (ITH) için ek inceleme yok. pN0(i-): Histolojik bölgesel lenf nodu metastazı yok, negatif IHK. pN0(i+): Histolojik bölgesel lenf nodu metastazı yok, pozitif IHK, 2 mm ‘den geniş IHK kümesi yok. pN0(mol-): Histolojik bölgesel lenf nodu metastazı yok, negatif moleküler bulgular (RT- PCR: reverse transcriptase/polimerase chain reaction). pN0(mol+): Histolojik bölgesel lenf nodu metastazı yok, pozitif moleküler bulgular (RT- PCR).
pN1: Mikrometastaz veya 1-3 adet aksiller lenf nodunda metastaz veya Sentinel lenf nodu diseksiyonu ile internal mammaryal nodlarda mikroskopik hastalık olarak saptanan metastaz fakat klinik olarak belirgin değil. pN1mi: Mikrometastaz (0.2mm’den geniş ve/veya 200hücreden büyük, 2.0mm’den geniş değil) . pN1a : 1-3 adet aksiller lenf nodunda metastaz. pN1b: Sentinel lenf nodu diseksiyonu ile internal mammaryal nodlarda mikroskopik hastalık olarak saptanan metastaz fakat klinik olarak belirgin değil. pN1c: 1-3 adet aksiller lenf nodunda ve internal mammaryal nodlarda sentinel lenf nodu diseksiyonu ile mikroskopik olarak saptanan metastaz fakat klinik olarak belirgin değil. ( 3 aksiller lenf nodundan fazla pozitif nod varsa artmış tümör yükünü göstermek için internal mammaryal lenf nodları pN3b olarak sınıflandırılır pN1a + pN1b ).
pN2: 4-9 aksiller lenf nodunda metastaz veya aksiller lenf nodu metastazı olmadığında internal mammaryal lenf nodlarında klinik olarak belirgin metastaz. pN2a: 4-9 aksiller lenf nodunda metastaz ( 2 mm’den büyük en az bir tümör odağı ). pN2b: Aksiller lenf nodu metastazı yokken internal mammaryal lenf nodlarında klinik olarak belirgin metastaz.
pN3: On veya daha fazla aksiller lenf nodunda veya infraklaviküler lenf nodlarında veya 1 ya da daha fazla aksiller lenf nodu pozitif olduğunda klinik olarak belirgin ipsilateral internal mammaryal lenf nodlarında metastaz veya internal mammaryal lenf nodlarında klinik olarak negatif mikroskopik metastazla birlikte 3’ten daha fazla aksiller lenf nodunda metastaz veya ipsilateral supraklaviküler lenf nodlarında metastaz. pN3a: On veya daha fazla aksiller lenf nodunda metastaz (2 mm’den büyük en az bir tümör odağı ) veya infraklaviküler lenf nodlarına metastaz. pN3b: Bir veya daha fazla pozitif aksiller lenf nodu varlığında klinik olarak belirgin ipsilateral internal mammaryal lenf nodu metastazı veya sentinel lenf nodu diseksiyonuyla saptanan fakat klinik olarak belirgin olmayan mikroskopik hastalıkla birlikte 3 veya daha fazla aksiller lenf nodunda veya internal mammaryal lenf nodlarında metastaz. pN3c: İpsilateral supraklaviküler lenf nodlarında metastaz.

### 2.10.2. Meme Kanserinde Klinik Evreleme

Meme kanserli hastalarda yaşam beklentisi tümörün evresi ile ilgilidir. Evre 0 için 5 yıllık yaşam beklentisi % 99-100 evre I için % 95 evreII için % 85 evre III için %



57 evre IV için % 20 dir (76). Hastalığın takip tedavi ve seyri için prognostik faktörler ER / PR durumu ve hastalığın evresi iyi belirlenmelidir (78)

Tablo 9. Meme kanseri klinik evreleme- AJCC -2009

	<b>Evre 0</b>	<b>Tis</b>	<b>N0</b>	<b>M0</b>
<b>Erken evre</b>	<b>Evre I</b>	<b>T1</b>	<b>N0</b>	<b>M0</b>
	<b>Evre IIA</b>	<b>T0</b>	<b>N1</b>	<b>M0</b>
		<b>T1</b>	<b>N1</b>	<b>M0</b>
		<b>T2</b>	<b>N0</b>	<b>M0</b>
<b>Lokal ileri evre</b>	<b>Evre IIB</b>	<b>T2</b>	<b>N1</b>	<b>M0</b>
		<b>T3</b>	<b>N0</b>	<b>M0</b>
	<b>Evre IIIA</b>	<b>T0</b>	<b>N2</b>	<b>M0</b>
		<b>T1</b>	<b>N2</b>	<b>M0</b>
		<b>T2</b>	<b>N2</b>	<b>M0</b>
		<b>T3</b>	<b>N1</b>	<b>M0</b>
		<b>T3</b>	<b>N2</b>	<b>M0</b>
	<b>Metastatik</b>	<b>Evre IIIB</b>	<b>T4</b>	<b>N(herhangi)</b>
<b>Evre IIIC</b>		<b>T(herhangi)</b>	<b>N3</b>	<b>M0</b>
<b>Evre IV</b>		<b>T(herhangi)</b>	<b>N(herhangi)</b>	<b>M1</b>

## 2.11. Meme Kanserinde Tedavi

Meme kanseri önemli bir sağlık sorunu için tedavi planını iyi düzenlemek son derece önemlidir (79). Meme kanserin evresine göre tedavi cerrahi, radyoterapi, kemoterapi hormonoterapi, immüno terapi gibi yöntemleri içerir. Genel olarak meme kanserinde tedaviyi lokal ve sistemik olarak 2 guruba ayırsakta invaziv olmayan meme kanseri, erken evre meme kanseri, ileri evre meme kanser, metastatik meme kanserinde tedavi olarak ayırabiliriz (80). Lokal tedavi cerrahi ve radyoterapi, sistemik tedavi ise kemoterapiler (adjuvan neoadjuvan) hormonoterapi immünoterapi olarak sınıflandırabiliriz.

### 2.11.1. DCIS ve LCIS ( Evre 0 ) Tedavi

Duktal karsinoma in situ ve lobüler karsinoma in situ her ne kadar invaziv olmayan bir tümör olsada yapılan çalışmalarda lezyonların % 35 invaziv duktal karsinoma ilerlediği gösterilmiştir. DCIS ta aksiler lenf nodu %97- % 100 negatifler. Multisentrik olan DCIS mastektomi önerilmektedir ve % 98 tam kür sağlanır. Tek odakta olanlara meme koruyucu cerrahi önerilir. NSABP B-17 çalışması 818 DCIS'lu hasta MKC ile tedavi edilip başka bişey yapılmayan ve tedavi edilip radyoterapi alanlar

randomize edildi. Bu çalışma 8 yıllık izlemde RT alanların aynı tarafta lokal nüksü % 27 den % 12 ye düşürüldüğü gösterilmiştir.

NSABP-B24 çalışmasında ise MKC yapılmış RT alan 1804 kadının ya tamoksifen ( 20 mg /gün 5 yıl ) alma yada plasebo şeklinde verilmiştir. Takiplerde meme kanseri kümülatif sıklıkları % 8 ve % 13 olarak görülmüştür (80).

Lobüler karsinoma in situ pek çok otorite tarafından malign olmayan bir hastalık olarak değerlendirilir. LCIS % 30 multisentrik ve bilateral olma eğilimindedir. LCIS için rutin olarak cerrahi önerilmez. Yıllık tanısal mamografi bu hastalara önerilir (80).

### **2.11.2. Erken Evre Meme Kanseri Tedavi**

Evre I-II ve IIIA meme kanseri erken evre meme kanseri olarak adlandırılıp tedavi cerrahi, radyoterapi ve adjuvan sistemik tedavi olarak sınıflandırılır.

#### **2.11.2.a. Cerrahi Tedavi**

Meme kanseri tedavisinin en önemli tedavi şekli cerrahi tedavidir. Yirmi yıldır erken evre meme kanserinin tedavisinde büyük değişiklikler olmuştur (81). Modifiye radikal mastektominin ( MRM ) yerini MKC tedavi almıştır. Yirmi yıldan uzun süren çalışmalarda MRM ile MKC' nin sağ kalım üzerine etkileri aynı bulunmuştur (82). Operasyon esnasında sentinel lenf nodu biyopsisinin değerlendirilip pozitif olup olmadığına göre aksiler lenf nodu diseksiyon yapılması cerrahi sonrası koplikasyonlarının azalmasına sebep olmuştur. MKC ile mastektomi oranları cerrahi merkezlere göre farklılık göstermektedir. Meme koruyucu cerrahi için uygun hasta kriterleri, az kozmetik sorunu, adjuvan kemoterapilerin verilmesi gibi konular netlik kazanmamıştır. Meme koruyucu cerrahide hedef kanser nüksünü yıllık % 1'in, 10 yıllık nüksü % 10'nun altında tutmaktır (83). Yapılan bir araştırmada Closky ve arkadaşları 8 yıl sonra lokal nüksü % 7 bulmuştur. Lokal nüks hastanın yaşına tümör greydine, verilen radyoterapiye adjuvan kemoterapi ile ilişkili bulunmuştur (84). Memede çok odakta tümör varsa meme koruyucu cerrahi için uygun değildir.

#### **-Meme koruyucu cerrahi**

Tümör dokunun temiz kenara ulaşımına kadar olan çıkartımı demektir. T1 ve tümör dokusu 3 cm den küçük olanlar meme koruyucu cerrahi için adaydırlar. Temiz

kenar kısmı tartışmalı olup kenarda yaklaşık bir 3 cm normal doku ile beraber tümörlü dokunun beraber çıkartılmasıdır. En iyi sonuçlar büyük göğüslü ve tümörün üst dış kadranda olanlardır. Bu tümörler kozmetik açıdanda yüz güldürücüdür (85).

### - Mastektomi

Meme, meme başı, areola, meme derisi ve pektoral majör ve minör kasın çıkartılmasıdır. Bununla beraber aksiler lenf nodu diseksiyonu (ALND) yapılırsa modifiye radikal mastektomi (MRM) olur. MRM meme de birden fazla tümör odağı varsa ve aksiler lenf nodu pozitif ise tercih edilebilir. ALND yapımaksızın sadece memenin alınmasında basit mastektomidir (86). Radikal mastektomi lokal ve bölgesel kontrolde etkili olmasına rağmen ciddi biçimde fiziksel bozukluklara ve morbiditeye sebep olmasının yanında sadece radikal mastektomi uygulananların %57'sinin meme kanserinden ölmesi, böylesi geniş cerrahilerin sorgulanmasına sebep oldu. NSABP B-04 çalışması radikal mastektomi ile basit mastektomi aksiller örnekleme (Pozitif gelirse aksiller küraj) ardından nodal ışınlamayı karşılaştırdı ve arada her hangi bir sağkalım farkı tespit edemedi (87). Meme koruyucu cerrahinin rölatif kontrendike olduğu mastektominin endike olduğu durumlar söz konusu olabiliyor (88). Bunlar ;

- Meme büyüklüğü (Tümöre göre küçük meme).
- Hastanın radyoterapi almak istememesi.
- Kollajen doku hastalıkları ( RT verilemeyecek olması)
- BRCA 1 ve BRCA2 mutasyonu olanlar.
- Gebelik (RT verilemeyecek olması)
- Meme koruyucu cerrahi sonrası gelişen nüksler
- Hastanın radyoterapi hizmeti alamayacak olması
- Erkek hasta
- Tümörün memede çok odaklı olması
- Daha önce memeye herhangi bir sebeple radyoterapi almış olması
- Lokal eksizyon sonrası pozitif cerrahi sınır

### 2.11.2.b. Radyoterapi

Erken evre ( Evre I-II ) meme kanseri olan hastalar genelde cerrahi olarak meme koruyucu cerrahi (MKC) ile opere olmaktadır. Aksiler lenf nodu diseksiyonu ise

sentinel lenf nodu örnekleme yapılarak karar verilmektedir. MKC olan hastalar operasyon sonrası adjuvan kemoterapi sonrası kontrendikasyon yoksa radyoterapi planlaması ve verilmesi gerekir. MKC sonrası radyoterapi verilen ile MKC sonrası radyoterapi verilmeyen hastaların karşılaştırmasında lokal nüks oranlarında belirgin bir yükseklik saptanmıştır (89). Erken evre meme kanserinin çok az bir kısmına ise mastektomi uygulanmaktadır. Randomize çalışmalarda mastektomi ve MKC tedavi karşılaştırması yapılmış olup sağ kalım ve lokal nüks açısından birbirine üstünlükleri gösterilmemiştir (90). Erken evre meme kanserinin adjuvan kemoterapi ve hormonoterapi ile 10 yıllık sağkalım % 80 lere ulaşırken radyoterapi alanlarda lokal nüks oranları daha iyidir (91). MKC sonrası radyoterapi artık bütün hastalara verilmektedir. Opere olan hastalarda RT endikasyonları;

- T4 tümör
- Pectoralis kas invazyonu
- 5 cm den büyük tümör
- 4 ten fazla lenf nodu tutulumu
- Tümörün cerrahi sınıra olan yakınlığı
- Tümör kapsül invazyonu
- Çok odakta tümör

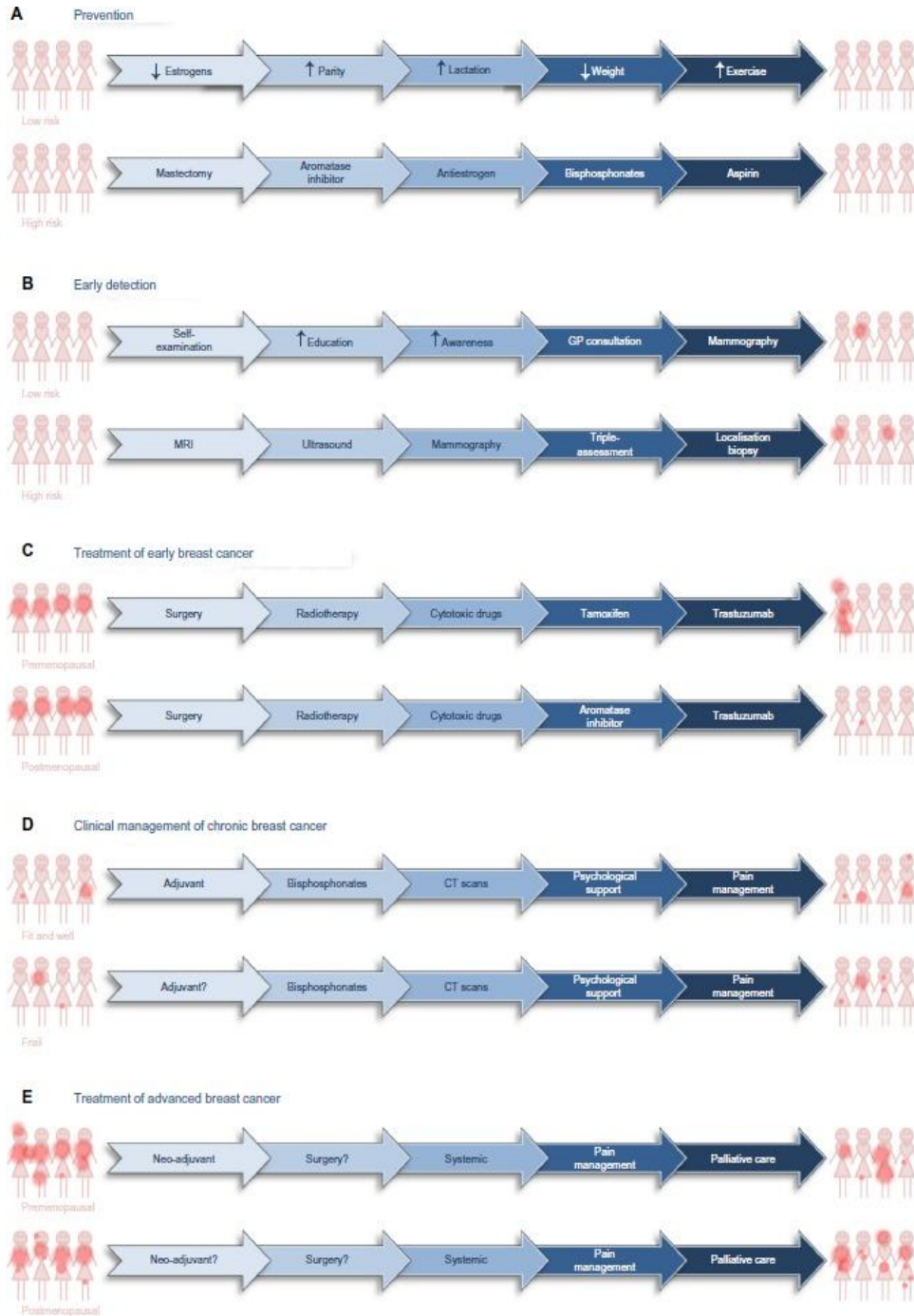
### **2.11.2.c. Meme Kanserinde Adjuvan Sistemik Kemoterapi**

Meme kanserinde adjuvan sistemik tedavi opere olan meme kanseri sonrası sistemik verilen kemoterapi ve hormonoterapi mikrometazmaları önlemek ilerleyen zamanlarda lokal nüksü önlemek hastalısız sağkalımı amaçlamayı içerir. Adjuvan kemoterapiye uygun yeterince yüksek riski olan kadınların hemen tamamı aksiler lenf nodülü pozitif ile nodül negatif hastalığı olup da çok yüksek risk faktörü olan kadınları içerir. Adjuvan kemoterapiye aday olan hastaların risk faktörleri şunlardır (92).

- Hormon reseptör negatif, yüksek grade veya kötü diferansiye tümörler
- HER2 aşırı ekspresyonu olanlar
- Artmış mitotik indeks, yüksek Ki67, artmış S-faz fraksiyonu
- Lenfatik, damar invazyonu olanlar

Bu özellikli hastalara adjuvan kemoterapi planlanması gerekmektedir. Meme kanseri çok fazla görülen tümör olduğundan adjuvan kemoterpi ile ilgili randomize

çalışmalar çok sayıda yapılmış olup hastalara başlayacağımız kemoterapi protoklleri hakkında iyi bir rehberdirler. Bunlar EBTCG (Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group) ve St Galen Konsensusu iyi bir yol göstericidir. Amerika Birleşik Devletleri'nde Ulusal Kanser Enstitüsü'nün (NCI) konsensus toplantıları ve ulusal kanser ağının (NCCN) da sürekli güncellediği bir tanı, tedavi ve meme kanserini önleme ile ilgili bilgilerin olduğu bir veri tabanı da bulunmaktadır. National Institute of Health (NHI)'in 200'den fazla kontrollü çalışmaya dayanarak yayınladığı konsensus raporları ve EBTCG'in yürüttüğü prospektif randomize çalışmaların metaanalizleri sonucu erken evre meme kanserinde sistemik tedavilerin rolü konusunda birçok sonuca ulaşılmış ve bu konudaki çalışmalar sürmektedir (93). EBTCG meta analiz sonuçları; adjuvan kemoterapi meme kanseri nüks etmesini ve meme kanserine bağlı ölümler oranlarını düşürmektedir, adjuvan KT 50 yaş altı bayanlarda daha etkili görülmesine karşın tüm yaşlarda etkinliği var, çoklu KT tekli rejimlere göre daha üstündür, antrasiklinli rejimler diğer rejimlere göre daha etkili bulunmuştur, adjuvan KT verilme süresinin 6 aydan fazla olması bir faydası gösterilmemiştir, antrasiklin ve taksan içeren rejimleri 3 haftada bir yerine büyüme faktörü desteği ile 2 haftada bir uygulamanın hastaliksız ve genel sağkalım oranlarını arttırdığı görülmüştür, post menopozal hastalarda aromataz inhibitörleri tamoksifenden daha etkili bulunmuştur, premenopozal hastalarda adjuvan over ablasyonu nüks oranını düşürmektedir, post menopoza hastalarda 5 yıl tamoksifen kullanımından sonra 5 yıl aromataz inhibitörlerinin kullanılması sağ kalımı artırmaktadır (94) .



Şekil 2. Meme Kanseri Tedavi Yönetimi

The National Comprehensive Cancer Network (NCCN) 2007 meme kanseri pratik klavuzunda sunulan adjuvan kemoterapi rejimleri aşağıda belirttiğimiz şekildedir;

-AC ardından taksan: 4 kür adriamisin (60 mg/m<sup>2</sup>) ve siklofosfamid (600 mg/m<sup>2</sup>) ardından 4 kür paklitaksel (175 mg/m<sup>2</sup>) veya 4 kür dosetaksel (100 mg/m<sup>2</sup>) 3

haftada bir verilir. AC sonrası, haftalık paklitaksel (80 mg/m<sup>2</sup>) toplam 12 haftada uygulanabilir. Doz-yoğun uygulamada kürler 2 haftada bir verilmektedir (95).

-TAC: Adriamisin (50 mg/m<sup>2</sup>) dosetaksel (75 mg/m<sup>2</sup>) ve siklofosfamid ( 500 mg/m<sup>2</sup> ) üç haftada bir 6 kür verilir.

-FEC-Taksan: Üç kür fluorourasil (500 mg/m<sup>2</sup>) epirubisin (100 mg/m<sup>2</sup>) siklofosfamid (500 mg/m<sup>2</sup>) sonrası 3 kür dosetaksel (100 mg/m<sup>2</sup> ) verilir. Diğer bir uygulama şekli 4 kür FEC sonrası 8 hafta boyunca haftalık paklitaksel (100 mg/m<sup>2</sup>) verilmesidir.

-FEC: Fluorourasil (500 mg/m<sup>2</sup>) epirubisin (100 mg/m<sup>2</sup>) siklofosfamid (500 mg/m<sup>2</sup>) 3 haftada bir, 6 kür uygulanır.

-CMF: Siklofosfamid (600 mg/m<sup>2</sup>) metotreksat (40 mg/m<sup>2</sup>) ve 5-fluorouracil (600 mg/m<sup>2</sup>) 3 haftada bir 6 kür verilir. Alternatif olarak siklofosfamid (100 mg/m<sup>2</sup>) oral olarak her kürün 1-14. günleri arasında verilebilir kür aralığı 28 gündür.

-TC: Dosetaksel (75 mg/m<sup>2</sup>) ve siklofosfamid (600 mg/m<sup>2</sup>) 3 haftada bir 4 kür verilir.

Cancer and Acute Leukemia Group B (CALGB 9344) 4 kür Adriamisin – siklofosfamid (AC) sonrası 4 kür, 3 haftada bir verilen paklitaksel ile median 6-9 ay izlem ile nüks riskinde % 17, ölüm riskinde % 18 azalma olduğunu gösterdi. NSABP B-28 çalışması, CALGB 9344'e benzer şekilde AC ardından eklenen paklitaksel ile median 65 aylık izlemde nüks riskinde % 17 lik bir azalmayı gösterdi.

### **2.11.3. Yaygın Hastalık Tedavi Yaklaşımı**

Meme kanserinde özel durumlar hariç evre 4 hastalar yaygın hastalık olarak ele alınıp genellikle inopraple olarak tedavi edilirler. Yaygın hastalıkta hedef hastalıkla ilişkili semptomların palyasyonu olmalıdır.

#### **2.11.3.a. Hormon Reseptör Pozitif Metastatik Meme Kanseri**

Yaşamı tehdit etmeyen ER pozitif yada PR pozitif meme kanseri olan hastalar için tek ajan hormon tedavisi önerilir. Kemoterapi pulmoner metastazı ileri derece karaciğer gibi yaşamı tehdit eden metastazı olan hastalara hastalara verilir.

1-Postmenopozal meme kanseri için:

- a. Aromataz inhibitörleri:
  - Anastrozol oral 1 mg /gün
  - Eksementan oral 25 mg /gün
  - Letrazol oral 2.5 mg / gün
- b. Tamoksifen 20 mg /gün
- c. Fulvestran 250 mg / ay
- d. Megesrol asetat 40 mg / gün
- e. Fluoksimestron 10 mg / gün
- f. Dietilstilbesteron 5 mg/ gün.

2- Postmenopozal kadınlar için:

- a. Tamoksifen
- b. LHRH agonisti, cerrahi yada RT ile ooferektomi
- c. Megestrol asetat

### **2.11.3.b. Kemoterapi**

Yaygın evre meme kanserinde altın standart bir kemoterapi protokulu yoktur. Tercih edilen ajanlar antrasiklinler (doksorubisin, epirubisin) taksanlar (paklitaksel, dosetaksel) kapesitabin veya vinorelbinden oluşur. Yeni kullanılan ajanlar gemsitabin, platoinidler vinblastin irinotekan mitomisini kapsar. ECOG E (2100) tarafından metaztatik hastalara paklitaksele bevasizumab ilave edilip edilmeme şeklinde randomize bir çalışma yürütmektedir. Progresyonsuz sağ kalıma anlamlı bir düzelmeye görüldü. HER-2 pozitif meme kanserli hastalarda transtuzumab kullanımı yada kemoterapi ilaçlarıyla birlikte trastumab kombinasyonu desteklenmektedir. Transtuzumab, kardiyotokisite nedeniyle antrasiklinlerle kombine edilmemesi gerekir. Transtuzumab içeren tedavi sonrası progresyon gelişmiş HER-2 pozitif meme kanseri kadınlarda HER-2 ve EGFR 'nin tirozin kinaz inhibitörü Lapatinip etkili bulunmuştur. Kemik metaztazi olan hastalarda dört ayda bir pamidronat ya da zoledronat kemik ağrılarına ve patolojik kırılmada azalmada etkilidir (96).



## 2.12. ING3 Geni

ING genleri ilk defa mayalarda tanımlanmıştır. Mayada bulunan histonasetilaz kompleksi olan NuA4 geni histon H4 ve H2a N-terminal uçların asetilasyonundan sorumludur. Bu proteinin katalitik bileşeni olan Esa1 hücre döngüsünün devamında görev alır. Bütün NuA4 bileşenleri aynı zamanda daha yüksek ökaryotik canlılarda da bulunmaktadır. Memeli hücrelerinde de bulunan NuA4 proteinin ING3 sayesinde p53 ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir (97). ING protein ailesinden özellikle ING1 ve ING3, histondeasetilaz kompleksi (HDAC) ve histonasetilaz kompleksi (HAT) üzerinden p53 üzerine etki etmektedirler. p53 üzerine etki ederek apoptozu düzenledikleri için ING gen ailesi ve oluşturduğu proteinlerin tümör süpresör olarak etki ettikleri düşünülmüştür ve literatürde bazı tümörlerde bu gen ailesinin delesyonu veya ekspresyonu mRNA ve proteinleri aracılığıyla araştırılmıştır.

Tümör süpresör genleri, mutasyonu veya kaybı neticesinde hücrelerin kontrolsüz olarak çoğalmalarına neden olan genlerdir. Bu nedenle kanserlerin daha iyi anlaşılması, moleküler tanı imkanları ve tedavinin düzenlenmesi açısından tümör süpresör genlerin bilinmesi büyük önem taşımaktadır. Şimdiye kadar birçok tümör süpresör gen tanımlanmış olup geçtiğimiz 20 yıl içerisinde tanımlanan tümör süpresör genleri arasında ING gen ailesi de yer almaktadır. ING geni ve proteinlerinin transkripsiyonu ve hücre döngüsünü düzenlediği, DNA hasarı tamirinde rol oynadığı, apoptozis, hücre senesens, anjiogenez ve nükleer fosfoinositidil sinyallenmesinde etkili oldukları düşünülmektedir (98). Büyüme inhibitörü genleri (inhibitor of growth-ING) anlamına gelen bu genlerin 5 tane (ING1-5) tanımlanmış olup tip 2 tümör süpresör gen ailesine dahildirler. ING1, ING2 ve ING3 proteinlerinin mSIN3a-HDAC kompleksi ile ilişkileri daha fazla ortaya konulmuşken, ING1, ING4 ve ING5'in HAT protein kompleksiyle olan ilişkisini gösteren çalışmalar da vardır. ING proteinleri planthomeodomain (PHD) parmak motifi olan bir protein ailesine dahildir. Bu proteinler kromatin yapısını düzenleyen transkripsiyon faktörleri ve proteinlerden oluşmaktadır. PHD parmak motifi sayesinde histon proteini üzerindeki belirli aminoasitlere direk olarak bağlanabilmektedir. PHD mutasyonu nedeniyle hücre senesens kabiliyeti bozulmaktadır. Tümörlerde ING1 ekspresyonuna bakıldığında nokta mutasyonlarının histon bağlanmasından sorumlu olan PHD parmak yapılarına daha çok lokalize olduğu görülmektedir (99).

ING1 geni insanda p47ING1a, p33ING1b, p27ING1d ve p24ING1c proteinlerini kodlamaktadır. P33ING1 fiziksel olarak p53 ile etkileşmektedir ve p53-bağımlı transkripsiyonel aktivasyonu düzenlemektedir bu nedenle karsinogenezde önemli rol oynamaktadır (100). P53 üzerindeki etkinin mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır ancak C-terminal bölgesindeki PHD-parmak motifi nedeniyle p53 işlevini bir transkripsiyon faktörü olarak etkilediği üzerinde durulmaktadır. Yng1, Yng2 ve pho23 isimli mayalarda bulunan 3 tane proteinin de C-terminal bölgesinde PHD parmak motifi bulunmaktadır ve p33ING1 ile homojenite göstermekte olup bir histonasetiltransferaz kompleksiyle ilişkilidirler. Bu nedenle ING proteinlerinin kromatinin yeniden düzenlenmesine olan etkilerinin histon asetilasyonu yoluyla ilişkili olduğu düşünülmektedir (99). Toyama ve arkadaşlarının (1999) yaptığı çalışmada ING1 geninin normal hücrelere oranla tümörlerin % 44'ünde azalmış ekspresyon gösterdiği ancak 377 primer meme kanseri hastasında tümörlerin %23'ünde artmış ekspresyon gösterdiği, bu nedenle ING1 proteinin izoformlarının hücre çoğalmasının kontrolünde sahip oldukları N-terminal serilerine bağlı olarak değişik işlevlere sahip olabilecekleri kaydedilmiştir. Yani ING ailesi proteinlerinin birbirleriyle ilişkileri karmaşıktır ve birbirlerini etkilliyor olabilirler (101).

Azalmış ING1 ekspresyonu meme, over, baş-boyun karsinomları ve melanom gibi çeşitli tümörlerde gösterilmiştir (102,103). ING2 ise akciğer kanseri ve melanom gibi tümörlerde azalmış ekspresyon gösterebilmektedir (103). ING2 geni ING2a (p33ING2) ve ING2b proteinlerini kodlamaktadır. p33ING2 de p53 işlevini etkileyebilmektedir. Etkili bir anti-tümör yolak olarak olan hücre senesens olayında ING1 ve ING2'nin tümör supresör protein olarak yer aldığı düşünülmektedir. Hücre senesens hücre siklusunun genellikle G0/G1 fazında durmasını ifade etmektedir. Bu hücreler bölünmeseler bile canlıdır, metabolik olarak aktiftirler ve apoptozise uğramamaktadırlar. Telomer kısalması replikatif senesense neden olabileceği gibi Ras veya oksidatif hasar gibi onkogenlerin neden olduğu stres uyaranları prematürsenesense neden olabilir. Epigenetik değişiklikler gen ekspresyonunun düzenlenmesini ve senesens-ilişkili heterokromatik bölgelerin (senescence-associated heterochromatic foci-SAHFs) ortaya çıkmasını etkileyebilir.

p47ING3 geni ilk defa p33ING1b and p33ING2 ile homoloji gösteren ve ING gen ailesine ait olarak tanımlanmıştır. p47ING3'ün C-terminal bölgesinde aynı

p33ING1 ve p33ING2 gibi PHD-parmak motifi vardır. İnsan papilloma virüsü tarafından p53 inaktive edilmiş hücreler üzerinde p47ING3'ün etkisi incelenmiştir ve hücre döngüsünde S fazında olan hücre sayısında azalma gösterilirken G0/G1 fazında olan hücre sayısında artış tespit edilmiştir. Ayrıca p53 bağımlı olarak apoptozisi artırdıkları tespit edilmiştir. p33ING2 hücre büyümesinin kontrolünü post-translasyonel modifikasyon olarak p53 asetilasyonu sayesinde gösterirken, p47ING3 geninin post-translasyonel modifikasyon üzerine etkisinin olmadığı gösterilmiştir (104). Diğer yandan p47ING3 geninin p53 bağımlı olarak p21/waf1 ve Bax genlerinin de aktivitesini artırdığı saptanmıştır. Ayrıca genotoksik stres sonrasında p33ING2 protein düzeyinin arttığı saptanmış, aynı etki p47ING3 proteini için gösterilememiştir. Co-immunopresipitasyon (Co-IP) deneylerinde p47ING3 ve p53 arasında in vivo olarak p33ING1b de olduğu gibi fiziksel bir etkileşim gösterilememiştir. Histon deasetilaz proteinleri p53'ün lizin kalıntıları deasetile ederek p53 işlevi üzerine etki göstermektedirler. P53 asetilasyonundaki değişikliklerin p53'ün DNA'ya bağlanmasını ve işlevini değiştirdiği düşünülmektedir (105).

Ayrıca nükleozomal histon H4 ve H2A'nın asetilasyonu seçilmiş bazı genlerin transkripsiyonel aktivasyonunu sağlamaktadır ve NuA4 HAT kompleksi tarafından gerçekleştirilmektedir. Bu nedenle bu kompleks onkogen ve protoonkogen bağımlı çoğalma inhibisyonu, tümör supresör bağımlı çoğalmanın durması ve replikatif senesensin gelişmesi, apoptozis ve DNA hasarı ile ilgili yollarda rol oynayabilir. ING3'ün ise NuA4 HAT kompleksinin bir bileşeni olarak bütün süreçleri etkilediği düşünülmektedir (103).

Tümör supresör genlerin araştırılmasında önemli adımlardan birisi heterozigosite kaybının araştırılmasıdır (loss of heterozygosity-LOH). Bir kromozomal bölgeye sık LOH görülmesi bu bölgede tümör supresör gen olduğunun belirteçidir. Baş ve boyun kanserlerinde ve diğer birçok kanser türünde kromozom 7q31 bölgesinde heterozigosite azalmasının sıklıkla gösterilmesi, bu bölgenin tümör supresör gen olarak etki ettiğini düşündürmektedir. Heterozigosite kaybının görüldüğü diğer kanser türleri arasında meme, prostat, kolon, over, tiroid ve renal hücreli kanserler vardır. Ayrıca intakt kromozom 7'nin skuamöz hücreli kanser ve agresif prostat kanser hücre serilerine eklenmesi bu hücrelerin tümörojenitesini azaltmıştır. Bir çalışmada baş ve boyun kanseri hastalarının %48'inin incelenmesinde kromozom 7q31 bölgesinde allel

delesyonlar tespit edilmiştir. Bu bölgede yer alan tümör süpresör gen adayları arasında Caveolin-1 geni, PPP1R3 geni ve TESTIN genleri bulunmaktadır. En sık delesyon olan bölgelerin ise D7S643 ve D7S486 çevresinde olduğu, ING3 geninin ise D7S643 bölgesine yakın olarak bulunduğu tespit edilmiştir. Northern blot analizi ile 1.9 kb boyutunda ING3 gen transkripti insan kalp, iskelet kası, timus, dalak, böbrek, karaciğer, plasenta, meme ve periferik lökositlerinde olduğu tespit edilmiştir (106).

Meme kanserinde ING3 ekspresyonu araştıran bu çalışma Türkiye’de bu konuda yapılan ilk çalışmadır. Meme kanserinin uzun sağkalıma sahip olması tıp ve bilim dünyasını bu alanda daha yoğun araştırmalara yöneltmiştir.

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. Meme Kanseri Hastalarından Biyopsi Örneklerinin Toplanması**

Bu çalışmada kullanılan doku örnekleri Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Şahinbey Araştırma ve Uygulama Hastanesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı ve Tıbbi Onkoloji Bilim Dalında takip edilmiş meme kanseri hastalarından alınmıştır. Çalışma, Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 24.02.2014/84 kararıyla uygun bulunmuştur. Meme kanseri tanısı konulmuş hastalardan ameliyat sırasında sağlıklı ve tümörlü dokularından örnek alınmıştır. Çalışmaya, 2010-2013 yılları arası Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Onkoloji Bölümü'ne gelen 18-85 yaş arası toplam 46 hasta dahil edilmiştir. Kontrol dokusu olarak aynı kişilerin tümörsüz meme dokuları kullanılmıştır. Çalışmaya dahil edilen hastalar ayrıca yaş, meme kanseri evresi ve histopatolojisi ve hormon reseptör durumu bakımından değerlendirilmiştir.

#### **3.2. Meme Kanseri Hastalarından Alınan Biyopsi Örneklerinden mRNA Eldesi**

Cerrahi operasyonla alınan normal ve tümörlü dokular sıvı azota konulmuştur. Örnekler çalışma için yeterli sayıya ulaşınca kadar -80oC'de saklanmıştır. Daha sonra çalışma öncesinde -80oC'de toplanan doku örnekleri çıkartılıp çözünmesi sağlanmıştır. Toplanan dokulardan mRNA izolasyonu için RNeasy Mini Kit (QiagenGmbH, Hilden, Almanya) kullanılmıştır.

Kitin çalışma prosedürü şu şekildedir:

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

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

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

Elde edilen total RNA içindeki mRNA'yı cDNA'ya çevirmek için Ipsogen RT Kit (Qiagen, GmbH, Hilden, Almanya) kullanıldı.

Test edilecek (10 µl) her bir RNA örneğinin 1 µg'ı 65°C'de 5 dakika süreyle inkübe edildi. Hemen 5 dakika buzda bekleterek soğutuldu. Tüpün altındaki sıvıyı toplamak için kısa süreli santrifüj edildi. Revers Transkriptazön karışımı buzda hazırlandı ve buzda tutuldu (Tablo 10).

Tablo 10. mRNA'danc DNA elde etmek için uygulanan Revers Transkriptaz PCR reaksiyon karışımının içerikleri

Bileşenler	Örnek başına hacim (µl)
5x ReversTranskriptaz tamponu	5
dNTP	2
Randomprimer (100 µM)	5.25
RNaz İnhibitörü (40 U/µl)	0.5
Ters transkriptaz (200 U/µl)	1
DTT	1.25
RNaz içermeyen su	0.5
Örnek başına RT ön karışım hacmi	15.5

Ön karışım dikkatlice karıştırıldı, kısa süreli santrifüj edildi ve her bir RNA örneğinin 10 µl'si için (40 ng/µl için) ön karışımdan 15 µl eklendi. Her bir tüp dikkatlice karıştırıldı ve kısa süreli santrifüj edildi. Veriti™ Dx 96-Well ThermalCycler (AppliedBiosystem, Foster City, CA, USA) cihazındaki kayıtlı revers transkripsiyon programı çalıştırıldı (Tablo 11). Tüpün altındaki cDNA'yı toplamak için kısa süreli santrifüj edildi ve qPCR gerçekleştirilene kadar -20°C'de saklandı.

Tablo 11. mRNA'dan cDNA eldesinde revers transkripsiyon için termal döngüleyici ayarları

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

Tepkime tamamlandıktan sonra elde edilen tek sarmal cDNA örneklerinin dondurulup çözülerek oluşan kaybı önlemek için 0.2 ml'lik PCR tüplerine 2 µl eşit miktarlarda dağıtıldı. Eşit miktarlarda bölme işlemi yapıldıktan sonra cDNA'ların kullanım ömrünü uzatmak için -80oC'de muhafaza edildi.

### 3.4. Elde Edilen cDNA'lardan Kalite ve Miktar Tayini

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

### 3.5. ING3 İfade Düzeyi Ölçümü için Eş Zamanlı PCR (qRT-PCR) Yöntemi

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

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

### 3.5.1. Primer Seçimi

Gen ifadesi primerleri genin ifade edilip edilmediğini anlamak için kodlanan bölgelerin herhangi bir yerinde olabilir. Fakat kodlanan bir RNA ürünü söz konusu olduğu için ilgili RNA ürününden başka bir kirliliği çoğaltmamak için primer dizayn ederken primerlerden bir ya da her ikisinin ekzon-ekzon kesişim bölgesini içermesine dikkat edilmelidir. Aksi takdirde çoğalan ürünün ortamı kirleten DNA ürününden mi kaynaklı olup olmadığını bilemeyiz. Bu bağlamda ING3 primerleri, NCBI veritabanında yer alan “Gene” arayüzü (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primerblast/>) kullanılarak tasarlandı. Kullanılan primerlerin ileri ve geri primer dizilimleri Tablo 12’de gösterilmiştir. Hamarat –housekeeping- gen olarak BETA-ACTIN geni kullanıldı. Kısmi miktarlara dayalı yöntemde ölçümü yapılan ING3 geninin ölçüm değerleri BETA-ACTIN geni ile normalize edilmiştir. Referans olarak alınan BETA-ACTIN geni belirli şartlar altında ifade düzeyi değişmeyen, her doku ya da hücrede bazal düzeyde ve hücreler arası varyasyon göstermeden ifade edilen hamarat genlerdir.

qRT-PCR yönteminde Cp (Crossingpoints) değerleri elde edilmiştir. qRT-PCR sonuçlarında ilgili genin referans gene göre kıyaslaması için  $2^{-\Delta Ct}$  formülü kullanılmıştır (Şekil 3). Bu değer bize o genin referans gene göre hangi oranda ifade düzeyinin değiştiğini gösterir; yani, göreceli ifade bilgisi edinilir.

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

Şekil 3.  $-\Delta Ct$  formülü



Tablo 12. ING3 geninin ifade seviyelerinin belirlenmesi için kullanılan primer dizilimleri.

Primer Adı	İleri Dizi (F)	Geri Dizi (R)
ING3	CAGGTGCAGAATGCAATGGA	GGTTTGCCAACTGAACCTTCT
BETA-ACTIN	CTGGAACGGTGAAGGTGACA	AAGGGACTTCCTGTAACAATGCA

Tasarımı yapılan primerlerin % GC oranı, Tm değerleri, ürün uzunlukları ve primer uzunlukları gibi primer özellikleri tablo 13’de gösterilmiştir.

Tablo 13. Tasarımı yapılan primerlerin özellikleri

Primer Adı	Ürün boyutu (bç)	Tm (oC)	% GC	Primer uzunluğu (bç)	
ING3	242	F	59.05	50.00	22
		R	58.41	41.67	24
BETA-ACTIN	140	F	59.89	55.00	20
		R	60.18	43.48	23

### 3.5.2. PCR bileşenleri

Eş zamanlı PCR reaksiyonu -Rotor Gene 6000 Real-Time PCR Machine-(QiagenGmbH, Hilden, Almanya) cihazı kullanılmıştır. ING3 ifade analizi için hazırlanan ön karışımda RT<sup>2</sup> SYBR Green ROX FAST Mastermix (QiagenGmbH, Hilden, Almanya) kullanıldı.

### 3.5.3. ING3 ifade düzeyi ölçümü için PCR bileşenleri

Tablo 14’e göre eş zamanlı PCR ön karışımı buzda hazırlandı. Karıştırıldı ve buza konuldu. Eş zamanlı PCR ön karışımı cDNA haricinde ifade analizi reaksiyonu için gerekli olan her şeye sahipti.

Tablo 14. ING3 ifade düzeyinin ölçüldüğü eş zamanlı PCR reaksiyon karışımının içerikleri

Bileşenler	Hacim (µl)
RT <sup>2</sup> SYBR Green ROX FAST Mastermix	12.5
F Primer (10 µM)	0.5
R Primer (10 µM)	0.5
Rnaz/Dnaz içermeyen su	10.5
cDNA (50 ng)	1
Total	25

Her örneğe ait cDNA, eş zamanlı PCR ön karışımı içeren her tüpe eklendi. Yavaşça karıştırıldı, kısa bir şekilde sentrifüz edildi ve buza tekrar konuldu.

Rotor Gene 6000 Real-Time PCR Machine (QiagenGmbH, Hilden, Almanya) cihazındaki kayıtlı programı çalıştırıldı (Tablo 15).

Tablo 15. ING3 ifade düzeyinin ölçüldüğü eş zamanlı PCR ayarları

	Sıcaklık (oC)	Süre(sn)	
Enzim aktivasyonu	95	600 sn	
Denaturasyon	95	15	40 döngü
Primer bağlanması/uzama	60	60	
Erime eğrisi	65	1	
	95	devamlı	

### 3.6. İstatistiksel Analiz

Tanıtıcı istatistik olarak ortalama±std. sapma değerleri verilmiştir. İstatistiksel analizler için SPSS for Windows version 22.0 paket programı kullanılmış ve  $P<0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluk kontrolünde Kolmogorov Smirnov testi kullanılmıştır. Normal dağılıma sahip olmayan değişkenlerin 2 bağımsız grup karşılaştırılmasında Mann Whitney U Testi 2'den fazla bağımsız grup karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testleri kullanılmıştır. Sayısal değişkenler arasındaki ilişkiler Spearman rank korelasyon katsayısı ile test edildi.

#### 4. BULGULAR

Çalışmamızda kullanılan doku örnekleri Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Şahinbey Araştırma ve Uygulama Hastanesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı ve İç Hastalıkları Tıbbi Onkoloji Bilim Dalına başvuran meme kanserli 46 kadın hasta alınmıştır. Hastaların yaş ortalaması  $49.3 \pm 12.77$  (median) olarak saptandı (tablo 16). Hastalarımızın % 65'i invaziv duktal karsinom tanısı almış olup % 15'i invaziv lobüler karsinom tanısıyla takip edilmiştir. Hastaların evreleri ise % 41.3 evre 2, % 39.7 ile evre 3 idi. Çalışmamızdaki hastaların % 67.4 östrojen reseptör pozitif % 82.4 progesteron reseptör pozitif saptanmıştır. Östrojen reseptör pozitif olan hastaların ING 3 gen ekspresyonu % 75.6 oranda yüksek bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.01$ ). Progesteron reseptör pozitif olan hastaların ING 3 gen ekspresyonu % 92.7 oranda pozitif bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.001$ ). Çalışmamızdaki 46 hastanın meme tümör dokusunda ING3 gen ekspresyonu çalışıldı, ve aynı hastaların normal dokudaki ING 3 gen ekspresyonu çalışıldı. Hastaların ING3 gen ekspresyonu normal dokulardaki ile tümörlü dokulardaki gen ekspresyon oranları karşılaştırıldığında tümör olan dokudaki ING 3 gen ekspresyonu daha yüksek bulunmuştur. Bu oran istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0.001$ ). Hastaları evrelerine göre ING3 gen ekspresyonu bakıldığında ise evre 3 ve evre 4 kadın hastalarda ING3 gen ekspresyonu hafif yüksek saptandı, Evre 1 ve evre 2 hastalarda yükseklik saptanmadı.

Tablo 16. Yaş dağılımı

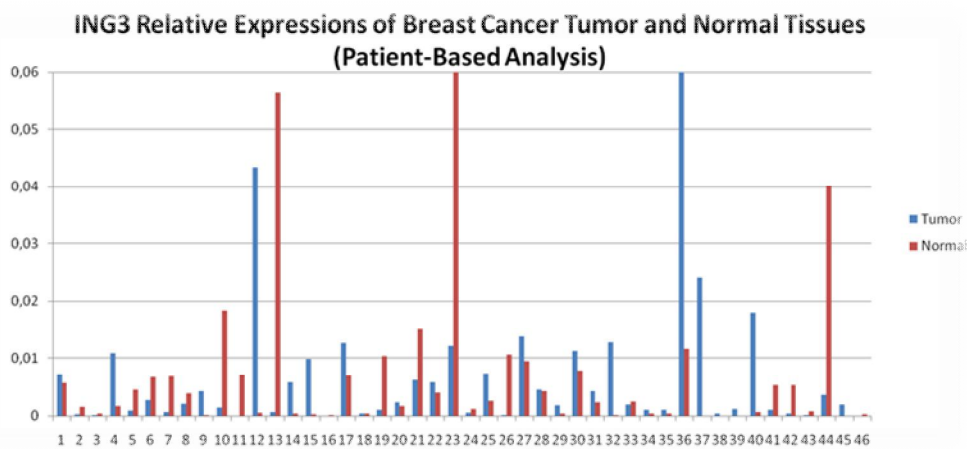
	Hasta sayısı	Minimum yaş	Maksimum yaş	Ortalama yaş	Standart sapma
Tanıda Yaşı	46	21,0	84,0	49,348	12,7771

Hastalarımızın toplam sayısı 46 olup minimum 21, maksimum 84 yaşında hastalardan oluşmaktaydı ve yaş ortalaması  $49.3 \pm 12.7$  saptandı.

Tablo 17. Meme kanseri hastaların tümörlerinin histopatolojik sınıflmasına göre dağılımları

Patolojik Tanılar	Hasta Sayısı	Hasta Yüzdesi
Apokrin karsinom	1	2,2
İnvaziv duktal karsinom	29	63,0
İnvaziv lobüler + invazif duktal (mikst)	1	2,2
İnvaziv lobüler karsinom	7	15,2
İnvaziv lobüler karsinom (pleomorfik tip)	1	2,2
İnvaziv lobüler karsinom+ invaziv duktal karsinom (Mikst)	1	2,2
Malign epitelyal tümör	1	2,2
Meme malign neoplazmı	1	2,2
Metaplastik karsinom	1	2,2
Metastatik karsinom-bazal like karsinom	1	2,2
Mikroinvaziv duktal ca (kribriform patern)	1	2,2
Mikroinvaziv duktal karsinom	1	2,2
Toplam	46	100,0

Patolojik tanılara göre hasta grupları incelendiğinde en fazla sayının 46 hastadan 29'una (%63) sahip olan invaziv duktal karsinom olduğu saptandı. Diğer patolojik tanılar ise yüzdeler olarak daha az oranda saptandı.



Şekil 4. Hastalarımızın ING3 gen ekspresyon oranları

Buradaki tabloda ise hasta bazında bakılan ING3 gen ekspresyonunun normal doku ve tümörlü dokulardaki oranları tek tek görülmektedir. Bazı hastalarda normal dokularda da ING3 gen ekspresyonu yüksek saptanmasına rağmen tümörlü dokulardaki ING3 gen ekspresyonu daha yüksek saptanmıştır.

Tablo 18. Meme kanseri hastaların evrelerine göre dağılımları .

Hasta grupları	Hasta sayısı	Hasta yüzdesi (%)
Evre 1	2	4,4
Evre 2	19	42,2
Evre 3	18	40,0
Evre 4	6	13,3
Toplam	46	100,0

Bu tabloda hastalarımız % 42.2 evre 2, % 40 ile evre 3 hastaları oluşturmaktadı. Diğer evreler yüzdeler olarak verilmiştir.

Tablo 19. Hastaların östrojen reseptör pozitifliği

Östrojen reseptörü	Hasta sayısı	Hasta yüzdesi
Negatif	10	21,7
Pozitif	31	67,4
Tespit edilemeyen	5	10,9
Toplam	46	100,0

46 kadın hastanın % 67.4 ünde östrojen reseptör pozitif bulunmuştur. ER/ PR pozitifliği kanser için iyi prognostik faktördür. Hastalarda ER pozitifliği ile ING3 gen ekspresyon yüksekliği herhangi anlamlı bir ilişki kurulamamıştır.

Tablo 20. Meme kanseri hastaların progesteron reseptör pozitif oran ve dağılımları

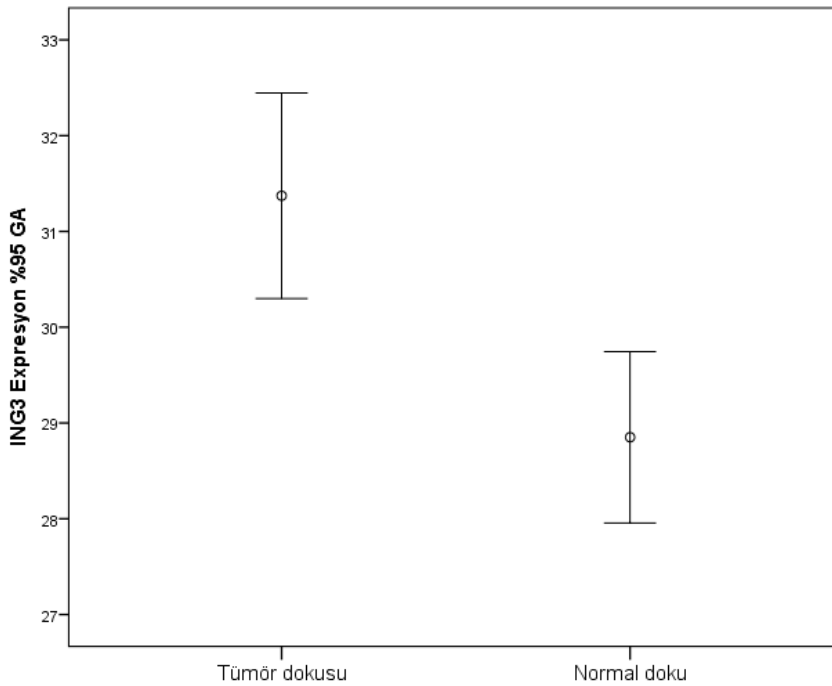
Progesteron reseptörü	Hasta sayısı	Hasta yüzdesi
Negatif	3	6,5
Pozitif	38	82,6
Tespit edilemeyen	5	10,9
Toplam	46	100,0

Bu tabloda hastaların % 82.6 (38) hasta PR pozitif bulunmuştur. PR pozitifliği ve ING3 gen ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki kurulamamıştır.

Tablo 21. Meme kanseri hastaların tümörlü dokulardaki ING gen ekspresyonu ile aynı hastaları normal dokulardaki ING -3 gen ekspresyonu

	Ortalama	Hasta sayısı	Standart sapma	P değeri (Mann-Whitney U)
Tümörlü dokudaki ING3	31,3722	46	3,61321	0,001
Normal dokudaki ING3	28,8509	46	3,01257	
Tümörlü dokudaki B-ACTIN	22,5233	46	3,46509	0,001
Normal dokudaki B- ACTIN	19,6287	46	2,41172	

Bu tabloda hastaların meme tümör dokusunda ve normal meme dokusunda ING3 ekspresyon oranları, tümör dokuda yüksek saptanmış (Şekil 5). İstatiksel olarak karşılaştırıldığında ise ING3 ekspresyon yüksekliği anlamlı bulunmuştur. B-ACTIN geni normal dokularda yapısı değişmeyen bir gen olup ING3 ekspresyonu B-ACTIN ile normalize edilmiştir. B-ACTIN gen ekspresyonunda tümör dokusunda yüksek bulunmuştur.



Şekil 5. Tümör dokuda ve normal dokuda ING3 gen ekspresyon oranı

Tablo 22. Meme kanseri hastaları ileri evre ve erken evre olarak birleştirildiğinde ING 3 gen ekspresyon oranları

	Evre	Hasta sayısı	Ortalama	Standart sapma	P değeri
Tümörlü dokuda ING3	Evre 1+Evre 2	21	30,2329	3,13481	0,048
	Evre 3+Evre 4	24	32,4417	3,80618	
Normal dokuda ING3	Evre 1+Evre 2	21	28,5743	3,02518	0.524
	Evre 3+Evre 4	24	28,8887	2,94681	

Hastalarda evrelerini erken evre (evre 1-2) ve ileri evre (evre 3-4) olarak ING3 gen ekspresyonu karşılaştırıldığında tümörlü dokuda ING3 ekspresyon oranı hafif yüksek saptandı. Bu yükseklik istatistiksel olarak zayıf anlamlı bulundu ( $p=0.048$ ).

Tablo 23. Östrojen reseptör ile ING3 gen ekspresyon karşılaştırması

	Östrojen reseptörü	Hasta sayısı	Ortalama	Standart sapma	P değeri (Mann-Whitney U)
Tümörlü dokuda ING3	Negatif	10	31,1040	3,23005	0,622
	Pozitif	31	31,7455	3,81952	
Normal dokuda ING3	Negatif	10	28,8390	2,71718	0,870
	Pozitif	31	29,2000	3,12313	

Bu tabloda hastaların östrojen reseptörünün pozitif yada negatif olması ING3 gen ekspresyonunu etkilemediği saptanmıştır. ING3 gen ekspresyon ile ER pozitifliği istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmedi ( $p = 0.622$ ).

## 5. TARTIŞMA

Meme kanseri kadınlardaki en sık görülen kanser olup kansere bağılı ölümlerde akciğer kanserinden sonra ikinci sırada gelmektedir (1). Yıllar içerisinde meme kanseri görülme sıklığında artış olmakla birlikte erken tanı ve tedavi modalitelerindeki gelişmeler sayesinde mortalite oranlarında düşüş görülmektedir. Sağlık Bakanlığı'nın verileri incelendiğinde ise Türkiye'de meme kanseri insidansının kadınlar arasında yüzbinde 35 oranında olduğu görülmektedir (107). Farklı kanserlerde yapılan aile çalışmaları; etkilenmiş olan hasta bireyin birinci ve ikinci derece yakınlarında kanser riskinin normal popülasyona göre artmış olduğunu göstermektedir (108).

Meme kanseri agresifliğini saptamaya yardımcı olan erken dönem markırları araştırmak için birçok çalışma yapılmıştır. Bunlarda bir tanesi de ING ailesine ait bakılan belirteçlerdir. ING tümör supresor gen ailesi ise son on yıl içinde keşfedilmiş olup ING1-5 e kadar 5 farklı gen tespit edilmiştir. Hücre transkripsiyon düzenlenmesi, hücre bölünme döngüsünde kontrol, DNA tamiri, apoptozis gibi görevleri bulunmaktadır. ING3 geni 7q31.3 lokalizasyonunda bulunmaktadır. 12 adet ekzondan oluşmakla birlikte 46.8-kDa ağırlığında bir protein sentez ederki bu da p53 gen ilişkili transkripsiyonu, hücre siklusunu ve apoptozisi kontrol eder. Bazı çalışmalarda ayrıca tümör hücrelerinde ING3 mRNA ekspresyonunu azaldığı gösterilmiştir. Ancak ING3 mRNA ekspresyonu ile evre, diferansiasyon, uzak metastaz, lenf nodu metastazı ve hayatta kalım arasında ilişki tespit edilememiştir. Yapılan çalışmalarda dil tümörlerinin %64'ü ile larenks tümörlerinin %63'ünde ING3 mRNA ekspresyonunda azalma olduğu gözlenmiştir anca bu oran hipofarenks ve orofarenks tümörleri için sadece %20 olarak bulunmuştur. Hayatta kalım açısından ING3 mRNA ekspresyonu azalan ve azalmayan tümörler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmasa da mRNA azalmış olanlarda hayatta kalımın 10 ay kadar daha kısa olduğu tespit edilmiş ve ING3 gen delesyonunun baş ve boyun tümörlerinde potansiyel bir prognostik faktör olabileceği ifade edilmiştir (106).



Başka bir çalışmada UV-radyasyonu sonrasında oluşan hücre hasarının ING3 ekspresyonunu hem mRNA hem de protein düzeyinde artırdığı saptanmıştır. Bu melanoma hücrelerinde UV-hasarına bağlı apoptozun arttığı gösterilmiştir. Ancak ING1b ve ING2 ile kıyaslandığında ING3'e bağlı apoptozisin p53 bağımlı olmadığı, aksine fas/kaspaz-8 yolağı aracılığı ile olduğu öne sürülmüştür(109). Bu çalışmanın devamında ise malign melanonda ING3 ekspresyonunun displastik nevuslara oranla önemli derecede azaldığı, ayrıca primer melanomda 5 yıllık hayatta kalım için prognostik olarak anlamlı bir gösterge olduğu öne sürülmüştür (110).

En sık görülen odontojenik tümör olan ameloblastomda tüm ING ailesinin ekspresyonu çalışılmıştır. En sık ING5 bölgesi ve solid tümör tipi arasında bağlantı kurulurken, ING3 bölgesi ve solid tümör tipi arasında anlamlıya yakın ilişki tespit edilmiştir (111). Hepatoselüler karsinomda hem ING3 mRNA'sı hem de proteini azalmış olarak bulunmuştur ayrıca kolorektal kanserde de ING3 ekspresyonunun azaldığı ancak bu azalmanın prognoz ile ilişkili olmadığı tespit edilmiştir.

Çalışmamızdaki 46 hastanın tümörlü dokuda ve aynı hastaların normal dokularının ING 3 gen ekspresyon sonuçlarını karşılaştırdığımızda tümörlü dokuda ING3 ekspresyonu daha yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Ancak hastaları evrelerine göre değerlendirdiğimizde ise ING-3 gen ekspresyonunu tümörlü ve normal dokularda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Sadece erken evre (evre I-II) ve ileri evreleri (evre III-IV) hastaları karşılaştığımızda ileri evre hastalarda ING3 ekspresyonu hafif yüksek bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ( $p = 0.048$ ).

Hastaların evreleri ise % 41.3 evre 2, % 39.7 evre 3 hastalarından oluştuğu saptanmış olup literatür ile uyumlu oranda olduğu görülmüştür. Çalışmamızdaki hastaların % 67.4 östrojen reseptör pozitif % 82.4 progesteron reseptör pozitif saptanmıştır. Östrojen reseptör pozitif olan hastaların ING 3 gen ekspresyonu % 75.6 oranda yüksek bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.01$ ). Progesteron reseptör pozitif olan hastaların ING 3 gen ekspresyonu % 92.7 oranda pozitif bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.001$ ). ER ve PR pozitifliği meme kanserinde iyi prognostik faktörlerdendir. Çalışmamızdaki hastaların dokularındaki ING3 gen proliferasyonun yüksek çıkması bize ING3'ün yüksek düzeyi ile iyi prognoz arasında doğru orantı olduğunu düşündürmüştür. Ancak literatürdeki bazı çalışmalardaki kanserli dokularda bakılan ING3 ile o kanserin prognozu arasında

ters orantı olduğu da bildirilmiştir. Gündüz M. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada baş-boyun kanserindeki mRNA düzeyindeki ING3'ün azalması prognostik indeks ile ING3 mRNA ekspresyonu arasındaki ters ilişkiyi ortaya koyduğu gösterilmiştir. ING'ün potansiyel bir tümör supresör molekül olduğu ve düşük ING3 düzeylerinin baş-boyun kanserlerinde daha agresif bir hastalık tablosuyla seyrettiği gösterilmiştir (112).

Bizim çalışmamızda ileri evre hastaların ING3 gen proliferasyonunun yüksek saptanması da prognoz ile ters ilişki olduğunu bize düşündürmektedir. Günümüzde meme kanserinde veya diğer kanserlerde yapılan gen analiz çalışmaları, saptanan mutasyon ya da farklılıkları aynı tümörlerin ya tedavisinde ya da prognostik faktör olarak düşünülmüştür. Ön analizde 70 gen profil analizi St. Gallen konsensus panelinde kullanılan klasik prognostik kriterlerin gösterdiğinden daha güçlü prognostik bulunmuş, 70 gen analizi "MamaPrint" ismiyle piyasaya sürülmüştür. Başka bazı çalışma grupları da nod negatif hastalarda yüksek riskli bir grubu saptayan 76 genlik "Rotterdam signatürü" ve orta histolojik gradeli meme tümörlerinde iyi ve kötü prognostik grupları ayırtan Genomik Grade İndeks (GGI) gibi prognostik gen ekspresyon işaretleri geliştirmişlerdir. ING3 tümör supresör gen proteinleri ileride yapılan çalışmalarda meme kanserinde prognostik faktör veya tedavi alternatifleri arasında yerini alabilecektir.

Satbir Thakur ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarında meme kanserinde ING1 gen ekspresyonunu değerlendirmiş (119). Çalışmalarında ING1 'in değişen düzeylerinin meme kanserinde bozulduğunu göstermişler. 532 meme kanseri kapsayan çalışmalarında: yüksek ING1 seviyeleri hastalısız sağkalı, hastalıklı sağkalım ve uzak metastazsız sağ kalım ile ilişkili bulunmuştur. Satbir T. ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmadaki veriler ING1'in metastazların yavaşlamasına rol oynadığını, ING1'in fazlalığının hücre migrasyonunu ve invazyonunu inhibe ettiğini düşündürmüştür (113). ING1'in dokularda PDGF-B ve PDGF-A genlerini regüle ettiği bulunmuş. ING1 'in % 90 dolayında azalması ciddi anlamda PDGF-B ve PDGF-A düzeyinde artış yapmakta ve bu genler invazyon ve metastaz ile ilişkili bulunmuştur (114). ING1 ve ING2'nin hücrel etkilerinin primer olarak epigenetik mekanizmalar üzerinden gen ekspresyonunu değiştirdiğine inanılmakta, özellikle HDAC kompleksine bağlanarak ve hedef olarak yapılmaktadır (115). Aynı çalışmada ING1 + GFB adenovirus ile infekte olan farelerde daha az metastaz bölgeleri görülmüş. ING gen ailesinden ING2 HDAC

inhibitör SAHA ‘ yı major olarak hedef almaktadır (116). Bizim çalışmada ileri evre ve erken evre olan hastaların ING3 gen ekspresyon oranlarına baktığımızda ileri evrede daha yüksek saptanmış olup (p:0.048) istatikselsel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu veriler sonucunda ileri evredeki meme kanseri olan hastaların tümörlü dokuların metatazta önlemek için vücudun savunma mekanizması olarak fazla oranda ING3 eksprese ettiğini düşünebiliriz. Satbir T. ve arkadaşların çalışmasında ING1 ‘in metatazta önlemeye çalıştığı görülmüştür. Bizim çalışmamızda hastalarda ING3 düzeyi düşüklüğünün negatif prognostik faktör olmadığını düşünebiliriz çünkü ING gen ailesi anti-kanser özelliği vardır.

Qinjuu W. ve arkadaşlarının ING4 ‘ün meme kanserinde hücre proliferasyonuna etkisini araştırmak için yaptıkları çalışmada: ING4 overekspresyonu ile oturmaş bir meme kanseri hücresi (MCF-7) oluşturup davranışları araştırılmış. MCF-7’deki eksojen ING4 overekspresyonunun G0/G1 arresti, S faz inhibisyonu ve apoptozis artışı yapıtığı gözlenmiş (117). Başka bir çalışmada ING4 over ekspresyonunun Bax ve p53’ e etki eden bcl-2 ilişkili proteinlerin artışına sebep olduğu gözlenmiş (118). Bizim çalışmamızda flow stometri yöntemi kullanılmadığından ING3 gen ekspresyonunun hangi proteinleri artırıp azalttığını ya da hücre bölünme fazlarından hangisine tam olarak etki ettiğini söylemek zordur.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Moleküler onkoloji alanındaki bilgi birikimi hızla artmakta ve kısa bir süre içinde, laboratuvar çalışmaları tıbbi uygulamalara dönüşmektedir. Meme kanserinde riskli gruplarının belirlenmesi, yeni moleküler hedeflerin tanımlanması ile yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi, gerek kemoterapiye gerekse radyoterapiye yanıtta bireysel farklılıkları belirleyen genetik çeşitliliğin ortaya konması ile kişiye özel tedavi yöntemleri gibi çalışmalar tıbbi uygulamalarda planlanmaktadır.

Meme kanseri tümör dokusunda ING3 gen ekspresyonu normal dokudaki ING3 gen ekspresyonundan daha yüksek bulundu. ING3 gen ekspresyonu ileri evre meme kanseri olan hastaların dokularında, düşük evre olan hastalara göre daha yüksek oranda olduğu tespit edilmiştir. Hasta sayılarımızın azlığı nedeniyle prognostik, prediktif ve patolojik sınıflara ayırdığımızda her grupta az hasta olması ING3 gen ekspresyonu ile muhtemel bazı ilişkileri göstermemiş olabilir. Ancak daha kapsamlı ve geniş vaka serileri ile ING3 genine ve buna benzer ilişkili olabilecek diğer prognostik öneme sahip ve HIDAC inhibitörleri tedavi çalışmalarında yer alabilmesi için daha geniş kapsamlı çalışmalarla bakılması gerekmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Dumitrescu RG, Cotarla I. Understanding breast cancer risk - where do we stand in 2005? *J Cell Mol Med.* 2005;9:208–21.
2. Russell RC, Bulstrode CJ, Williams NS. Bailey and Love's short practice of surgery. In: Williams N, Bulstrode C, O'Connell, editors. Chapter on Breast Cancer. 23rd ed. London: Arnold; 2000.
3. Abdulkareem IH. *Niger Med J.* 2013 Nov;54(6):371-5. doi: 10.4103/0300-1652.126284.
4. Foulkes WD. Inherited susceptibility to common cancers. *N Engl J Med.* 2008; 359(20): 2143.
5. Kuusisto KM, Bebel A, Vihinen M, Schleutker J, Sallinen SL. BRCA1 için tarama, BRCA2, CHEK2, PALB2, BRIP1, RAD50, ve yüksek riskli Fin BRCA1/2-founder mutasyon-negatif meme ve / veya yumurtalık kanseri bireylerde CDH1 mutasyonlar. *Meme Kanseri Araştırma .* 2011; 13(1, madde R20).
6. Dickson RB, Lipman ME, Oncogenes and Suppressor Genes In: Disease of the Breast Ed.Harris JR, Morrow M, Lippman ME, Hellman S., Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia-NewYork 1996, p:221-235.
- 7- Gelmann EP. Oncogenes in human breast Cancer. In:The Breast: Comprehensive management of benign and malignant Diseases. Vol I. Ed:Bland KI, Copeland EM. WB saunders Company, USA,1998, p:499-517.
8. Sirvent JJ, Fortuno Mar A, Olona M, Orti A. Prognostic value of p53 protein expression and clinicopathological factors in infiltrating ductal carcinoma of the breast. A study of 192 patients *Histol Histopathol* 16 (1):99-106, 2001.
9. Done SJ,Eskardarian S, Bull S,Redston M, Andrulis IL. p53 missense mutations in microdissected high-grade ductal carcinoma in situ of the breast. *J Natl Cancer Inst* 93(9):700-704, 2001.

10. Campos, E. I., Chin, M. Y., Kuo, W. H., and Li, G. (2004) *Cell Mol. Life Sci.* 61,2597–2613.
11. Nagashima, M., Shiseki, M., Pedoux, R. M., Okamura, S., Kitahama-Shiseki, M., Miura, K., Yokota, J., and Harris, C. C. (2003) *Oncogene* 22, 343–350.
12. Gunduz, M., Ouchida, M., Fukushima, K., Ito, S., Jitsumori, Y., Nakashima, T., Nagai, N., Nishizaki, K., and Shimizu, K. (2002) *Oncogene* 21, 4462–4470
13. Yoder BJ, Wilkinson EJ, Massoll NA. Molecular and morphologic distinctions between infiltrating ductal and lobular carcinoma of the breast. *Breast J* 2007; 13(2): 172-9.
14. 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.
15. Beenken SW, Wanger FB, Bland K. History of the therapy of breast cancer in The Breast, KI Bland and EM Copeland III. Saunders – Elsevier, St.Louis 2004, p.3-18.
16. Jemal A, Tiwari RC, Murray T, Ghafoor A, et al; American Cancer Society. Cancer statistics, 2004 *CA Cancer J Clin* 2004; 54: 8-29.
17. Scheer I, Frischbier HJ. Breast cancer screening projects: results In: Friedrich M, Sickles EA, Radiological diagnosis of breast diseases. Berlin-Heidelberg :Springer. 2000; 333-47.
18. Bassett LW, Manjikian III V, Gold RH: Mammography and breast cancer screening in Candy B, Bland KI. *The Surgical Clinics of North America* August 1996.
19. Abeloff M, Armitage J, Niederhuber J. Abeloff’s Clinical Oncology 4th Ed. *Cancer of the Breast* p: 1875-1943.
20. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T et al. Cancer Statistics, 2007. *CA Cancer J Clin* 2007;57: 43-66.
21. Berry DA, Cronin KA, Plevritis SK, et al. Effect of screening and adjuvant therapy on mortality from breast cancer. *N Engl J Med.* 2005; 353(17):1784.

22. Dünya Kanser Raporu. Dünya Sağlık Örgütü, Uluslararası Kanser Araştırmaları Kurumu, 2008. Lyon.  
[http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789283204237\\_tur\\_p1-104.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789283204237_tur_p1-104.pdf)
23. Cancer Facts & Figures. American Cancer Society. GA: American Cancer Society; Atlanta, 2011;2,2011.
24. Harman Ö. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Medikal Onkoloji Bölümü'ne Bağıvuran Meme Kanserli Hastalarda Risk Faktörlerinin Dağılımı (tez). Ankara: Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2007.
25. Jemal A, Siegel R, Xu J, et al. Cancer statistics. CA Cancer J Clin 2010; 60 :277-300.
26. Malone KE, Dalling JR. BRCA1 mutation and breast cancer in general population analyses in women before age 35 years and in women before age 45 years with first degree family history. Journal of the American Medical Association 66 1998;279 :922-9.
27. Kelsey JL, Gammon MD, John EM. Reproductive factors and breast cancer. Epidemiol Rev 1993; 15 :36-47.
28. MacMahon B, Trichopoulos D, Brown J, et al. Age at menarche, urine estrogens and breast cancer risk. Int J Cancer 1982; 30 :427-31.
29. Hsieh CC, Trichopoulos D, Katsouyanni K, et al. Age at menarche, age at menopause, height and obesity as risk factors for breast cancer: associations and interactions in an international case-control study. Int J Cancer 1990; 46 :796-800.
30. Brinton LA, Schairer C, Hoover RN, et al. Menstrual factors and risk of breast cancer. Cancer Invest 1988; 6:245-54.
31. Bruzzi P, Negri E, La Vecchia C, et al. Short term increase in risk of breast cancer after full term pregnancy. BMJ 1988; 297 :1096-8.
32. Stuebe AM, Willett WC, Xue F, et al. Lactation and incidence of premenopausal breast cancer: a longitudinal study. Arch Intern Med 2009; 169 :1364-71.

33. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data on 53 297 women with breast cancer and 100 239 women without breast cancer from 54 epidemiological studies. *Lancet* 1996; 347 :1713-27.
34. Anderson GL, Limacher M, Assaf AR, et al. Effects of conjugated equine estrogen in postmenopausal women with hysterectomy: the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 2004; 291 :1701-12.
35. Bevers, T. et al. (2010). National Comprehensive Cancer Network Clinical Practice Guidelines in Oncology Breast Cancer Risk Reduction Version 1.2012.
36. Anderson DE, Badzioch MD. Familial breast cancer risks. Effects of prostate and other cancers. *Cancer* 1993;72:114-9.
37. Malone KE, Daling JR, Thompson JD, O'Brien CA, Francisco LV, Ostrander EA. BRCA1 mutations and breast cancer in the general population. Analyses in women before age 35 years and in women before age 45 years with first-degree family history. *JAMA* 1998;279:922-9.
38. Struwing JP, Hartge P, Wacholder S, Baker SM, Berlin M, McAdams M, Timmerman MM, Brody LC, Tucker MA. The risk of cancer associated with specific mutations of BRCA1 and BRCA2 among Ashkenazi Jews. *N Eng J Med* 1997;336:1401-8.
39. Eifel P, Axelson JA, Costa J, Crowley J, Curran WJ Jr, Deshler A, Fulton S, Hendricks CB, Kemeny M, Kornblith AB, Louis TA, Markman M, Mayer R, Roter D. National institutes of health consensus development conference statement: adjuvant therapy for breast cancer, November 1–3, 2000. *J Natl Cancer Inst*, 2001;93 (13): 979–989.
40. Hortobagyi GN, Esserman L, Buchholz T. Neoplasms of the Breast. Kufe DW, Bast RC, Hait WN, Hong WK, Pollock RE, Weichselbaum RR, Holland JF, Frei III e (eds). *Cancer Medicine*. 7th edition. Hamilton, Ontario 2006, pp:1585.
41. Stratton MR, Rahman N. The emerging landscape of breast cancer susceptibility. *Nat Genet*. 2008; 40(1):17.



42. Morimoto LM, White E, Chen Z et al. Obesity, body size, and risk of postmenopausal breast cancer: the Women's Health Initiative (United States). *Cancer Causes Control* 2002; 13: 741-751.
43. Hankinson SE, Willett WC, Colditz GA et al. Circulating concentrations of insulin-like growth factor-I and risk of breast cancer. *Lancet* 1998; 351: 1393-1396.
44. Thune I, Furberg AS. (2001) Physical activity and cancer risk: dose-response and cancer, all sites and site-specific. *Med Sci Sports Exerc* 2001; 33 (6 Suppl): S530-550; discussion S609-510.
45. Ronckers CM, Erdmann CA, Land CE. Radiation and breast cancer: a review of current evidence. *Breast Cancer Res* 2005; 7: 21-32.
46. Bhatia S, Yasui Y, Robison LL et al. High risk of subsequent neoplasms continues with extended follow-up of childhood Hodgkin's disease: report from the Late Effects Study Group. *J Clin Oncol* 2003; 21: 4386-4394.
47. Banelli B, Casciano I, Di Vinci A. et al. Pathological and molecular characteristics distinguishing contralateral metastatic from new primary breast cancer. *Ann Oncol* 2010; 21: 1237- 1242
48. Cil T, Fishell E, Hanna W et al. Mammographic density and the risk of breast cancer recurrence after breast-conserving surgery. *Cancer* 2009; 115: 5780- 5787.
49. Fisher B, Costantino JP, Wickerman DL, et al. Tamoxifen for prevention of the breast cancer report of the National Surgical Adjuvant breast and Bowel Project P-1 study. *J Natl Cancer Ins* .1998; 90(18) :1371-88.
50. Kuhl CK, Schrading S, Leutner CC, et al. Mammography, breast ultrasound and magnetic resonance imaging for surveillance of women at high familial risk for breast cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23(33): 8469-76.
51. Wood WC, Muss HB, Solin LJ, et al. Malignant Tumors of the Breast. Chapter 43. In: Burstein HJ, Haris JR, Morrow M (Eds). *Cancer principles and practise of oncology*, 8th ed, Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2008:1606-54.

52. Vogel VG, Costantino JP, Wickerham DL, et al. Effects of tamoxifen vs raloxifene risk of developing invasive breast cancer and other disease outcomes: the NSABP study Tamoxifen and Raloxifene (STAR) P-2 trial. *JAMA* 2006; 295(23): 2727-
53. Ostroumova E, Preston DL, Ron E, et al. Breast cancer incidence following low-dose rate environmental exposure: Techa River Cohort, 1956-2004. *Br J Cancer* 2008; 99(11) :1940-5.
54. Wood WC, Muss HB, Solin LJ, et al. Malignant Tumors of the Breast. Chapter 43. In: Burstein HJ, Haris JR, Morrow M (Eds). *Cancer principles and practise of oncology*, 8th ed, Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2008:1606-54.
55. Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status and survival in 24,740 Breast cancer cases. *Cancer* 1989; 63(1): 181-7.
56. Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, et al. Meeting highlights: International Consensus Panel on the Treatment of Primary Breast Cancer. Seventh International Conference on Adjuvant Therapy of Primary Breast Cancer . *J Clin Oncol*. 2001;19(18):3817-27.
57. Bilgel N. Meme Kanserinin Epidemiyolojisi. Ed: Kayhan E. *Meme Kanserleri* . Bursa; Nobel Tıp Kitabevi, 2005; 69-73.
58. Aydın A, Topuz E. *Onkoloji El Kitabı İstanbul: Turgut Yayıncılık*, 2006;149-198
59. Schnitt SJ. Estrogen receptor testing of breast cancer in current clinical practise: what's the question? *J Clin Oncol* 2006; 24(12): 1797-9.
60. Piccart-Gebhart MJ. Anthracyclines and tailoring of the treatment for early breast cancer. *N Engl J Med* 2006; 354(20): 2177-9.
61. Chang J, Hilsenbeck SG. Prognostic and predictive markers. In: Haris LM Jr. Eds. *Diseases of the breast*, 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins 2004: 675.
62. Casciato DA, Territo MC. *Manual of Clinical Oncology 6th Edition* 2009 Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins Breast Cancer p:237-265.

63. Ernster VL, Ballard-Barbash R, Barlow WE, et al. (October 2002). "Detection of ductal carcinoma in situ in women undergoing screening mammography". *Journal of the National Cancer Institute* 94 (20): 1546–54.
64. Sakorafas GH, Farley DR, Peros G. Recent advances and current controversies in the management of DCIS of the breast. *Cancer Treat Rev* 2008; doi: 10.1016/j.ctrv.2008.03.001 (PMID:18490111)
65. Foote FW Jr, Stewart FW. Lobular carcinoma in situ: a rare form of mammary cancer. *Am J Pathol* 1941;17:491-496.
66. Damjanov I, Linder J: *Anderson's Pathology*. 10. ed. St.Louis: Mosby 1996;2369-81.
67. Fukuda R, Hirota K, Fan F, Jung YD, Ellis LM, Semenza GL. Insulin-like growth factor 1 induces hypoxia-inducible factor 1- mediated vascular endothelial growth factor expression, which is dependent on MAP kinase and phosphatidylinositol 3-kinase signaling in colon cancer cells. *J Biol Chem* 2002;277:38205–38211.
68. AJCC, *Cancer Staging Manual*, 6th edn. Springer-Verlag, Berlin pp 257-281, 2002.
69. Singletary SE, Allred C, Ashley P, Bassett LW, Berry D, Bland KI, Borgen PI, Clark G, Edge SB, Hayes DF, Hughes LL, Hutter RV, Morrow M, Page DL, Recht A, Theriault RL, Thor A, Weaver DL, Wieand HS, Greene FL. Revision of the American Joint Committee on Cancer staging system for breast cancer. *J Clin Oncol*. 2002;20(17):3628-36.
70. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000; 406: 747-752.
71. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R. et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 10869-10874.
72. Brenton JD, Carey LA, Ahmed AA. et al. Molecular classification and molecular forecasting of breast cancer: ready for clinical application? *J Clin Oncol* 2005; 23: 7350-7360.

73. Bosze P. Prognostic factors and staging the rol of molecular markers CME J Gynecologic Oncology 2001 (6) 232-234.
74. International Union Against Cancer. TNM Classification of Malignant Tumours. Geneva, Switzerland: International Union Against Cancer; 1968.
75. NCCN Practice Guidelines. Invasive Breast Cancer. 2009;1:full text.
76. Donegan WL. Staging and primary treatment. In: Donegan WL, Spratt JS. Cancer of the breast, 4th ed. Philadelphia: W.B.Saunders, 1995: 375-442.
77. Sener SF, Lee LH. Staging of Breast Cancer. In: Singletory SE, Robb GL. Advanced Therapy of Breast Disease. Philadelphia: BC Decker Inc, 2000: 113-9.
78. Lippman ME. Breast Cancer. Chapter 76. Kasper D, Braunwald E, Hauser SL, et al (Eds). Harrisons's Principles of Internal Medicine 16th Ed, USA. MC Graw-Hill 2005;516-523.
79. Daghmoura H. Evre 2 Meme Kanserli Hastalarda Yeni Evreleme Sisteminin Prognostik Önemi (tez). Ankara: Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2006.
80. Karakuş F. Malatya Ğl Merkezinde Bulunan Birinci Basamak Sağlık Hizmetlerinde Çalışan Ebe ve Hemşirelerin Meme Kanseri Erken Tanı Uygulamaları Konusunda Bilgi, Tutum ve Davranışları (tez). Malatya: Ğnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2008.
81. Luini A, Gatti G, Galimberti V, et al. Conservative treatment of breast cancer:its evolution. Breast Cancer Research and Treatment 2005;94:195-198.
82. McCready D, Holloway C, Shelley W, et al. Surgical management of early stage invasive breast cancer:a practice guideline. Can J Surg 2005;48(3):185-194.
83. Schwartz GF, Veronesi U, Clough KB, et al. Consensus Conference on Breast Conservation. J Am Coll Surg 2006-10-04;203(2):198-207.

84. McCloskey SA, Botnick LE, Rose CM, et al. Long-term outcomes after breast conservation therapy for early stage breast cancer in a community setting. *Breast J* 2006;12(2):138-144.
85. Harris JR, *New England journal of Medicine* 327(6):390-398,1992.
86. Recth A. The return of postmastectomy radiotherapi. *J Clin Oncol* 1995;13:2861-84.
87. Fisher B, Redmond C, Fisher ER: Ten year results of randomized clinical trial comparing radical mastectomy and total mastectomy with or without radiotherapy. *N Engl J Med*; 1985;312:674.
88. Schwartz GF, Veronesi U, Clough KB, et al. Consensus Conference on Breast Conservation. *J Am Coll Surg* 2006-10-04;203(2):198-207.
89. Fisher B, Anderson S, Bryant J, et al. Twenty-year follow-up of a randomized trial comparing totalmastectomy, lumpectomy, and lumpectomy plus irradiation for the treatment of invasive breast cancer. *N Engl J Med* 2002;347:1233–41.
90. Veronesi U, Cascinelli N, Mariani L, et al. Twenty-year follow-up of a randomized study comparing breast-conserving surgery with radical mastectomy for early breast cancer. *N Engl J Med* 2002;347:1227–32
91. Levitt SH: Is there a role for postoperative adjuvant radiation in breast cancer? Beautiful hypothesis versus ugly facts: 1987 Gilbert H. Fletcher Lecture. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1988;14:787-796.
92. Paik S,Tang G,Shaks S, et al. Gene expresion and benefit of chemotherapy in women with node-negative breasr cancer.*J Clin Oncol* 2006 ;24;3726.
93. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group(EBCTG).Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on reccurence and 15-year survival:an overview of the randomised trials *Lancet* 2005;365:1687-717.
94. Harris, L, Fritsche, H, Mennel, R, et al. American Society of Clinical Oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25:5287.

95. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100:8418.
96. Woodward WA, Strom EA, Tucker SL, et al. Changes in the 2003 American Joint Committee on Cancer Staging for breast cancer dramatically affect stage-specific survival. *J Clin Oncol* 2003 ;21:3244.
97. Doyon, Y., et al., Structural and functional conservation of the NuA4 histone acetyltransferase complex from yeast to humans. *Mol Cell Biol*, 2004. 24(5): p. 1884-96.
98. Yemin Wang and Gang Li. ING3 Promotes UV-induced Apoptosis via Fas/Caspase-8 Pathway in Melanoma Cells. *The Journal of Biological Chemistry* Vol. 281, NO. 17, pp. 11887–11893, April 28, 2006.
99. Yannick Doyon, Christelle Cayrou, Mukta Ullah, Anne-Julie Landry, Valerie Cote, William Selleck, William S. Lane, Song Tan, Xiang-Jiao Yang, and Jacques Cote. ING Tumor Suppressor Proteins Are Critical Regulators of Chromatin Acetylation Required for Genome Expression and Perpetuation. *Molecular Cell* 21, 51–64, January 6, 2006 DOI 10.1016/j.molcel.2005.12.007.
100. Garkavtsev, I., et al., The candidate tumour suppressor p33ING1 cooperates with p53 in cell growth control. *Nature*, 1998. 391(6664): p. 295-8.
101. Toyama, T., et al., Suppression of ING1 expression in sporadic breast cancer. *Oncogene*, 1999. 18(37): p. 5187-93.
102. Nouman GS, Anderson JJ, Lunec J, Angus B: The role of the tumour suppressor p33 ING1b in human neoplasia. *J Clin Pathol* 2003, 56:491-496.
103. Doyon, Y, and Cote, J. The highly conserved and multifunctional NuA4 HAT complex. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 14, 147–154. (2004).
104. Nagashima, M., et al., DNA damage-inducible gene p33ING2 negatively regulates cell proliferation through acetylation of p53. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001. 98(17): p. 9671-6.

105. Nagashima, M., et al., A novel PHD-finger motif protein, p47ING3, modulates p53-mediated transcription, cell cycle control, and apoptosis. *Oncogene*, 2003. 22(3): p. 343-50.
106. Gunduz, M., et al., Allelic loss and reduced expression of the ING3, a candidate tumor suppressor gene at 7q31, in human head and neck cancers. *Oncogene*, 2002. 21(28): p. 4462-70.
107. Tuncer M. Significance of cancer in Turkey, the burden of disease and cancer control policies (Volume 74). In: Tuncer M., eds. *Cancer Control in Turkey*, Ankara, Onur Press, Health Ministry Publication, 2008: 5-9.
108. Lynch HT, Watson P, Conway TA, Lynch JF. Clinical/genetic features in hereditary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1990; 15: 63-71.
109. Wang, Y. and G. Li, ING3 promotes UV-induced apoptosis via Fas/caspase-8 pathway in melanoma cells. *J Biol Chem*, 2006. 281(17): p. 11887-93.
110. Wang, Y., et al., Prognostic significance of nuclear ING3 expression in human cutaneous melanoma. *Clin Cancer Res*, 2007. 13(14): p. 4111-6.
111. Borkosky, S.S., et al., Allelic loss of the ING gene family loci is a frequent event in ameloblastoma. *Oncol Res*, 2010. 18(10): p. 509-18.
112. Mehmet Gunduz, Levent Bekir Beder, Esra Gunduz, Hitoshi Nagatsuka, Kunihiro Fukushima, Davut Pehlivan, Eren Cetin, Noboru Yamanaka, Kazunori Nishizaki, Kenji Shimizu and Noriyuki Nagai. Downregulation of ING3 mRNA expression predicts poor prognosis in head and neck cancer. *Cancer Sci* 2008; 99: 531–538.
113. Taube JH, Herschkowitz JI, Komurov K, Zhou AY, Gupta S, Yang J, Hartwell K, Onder TT, Gupta PB, Evans KW, Hollier BG, Ram PT, Lander ES, Rosen JM, Weinberg RA and Mani SA. Core epithelial-to-mesenchymal transition interactome gene-expression signature is associated with claudin-low and metaplastic breast cancer subtypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010; 107(35):15449-15454.
114. Carvalho I, Milanezi F, Martins A, Reis RM and Schmitt F. Overexpression of platelet-derived growth factor receptor alpha in breast cancer is associated with tumour progression. *Breast cancer research : BCR*. 2005; 7(5):R788-795.

115. Pena PV, Davrazou F, Shi X, Walter KL, Verkhusha VV, Gozani O, Zhao R and Kutateladze TG. Molecular mechanism of histone H3K4me3 recognition by plant homeodomain of ING2. *Nature*. 2006; 442(7098):100-103.

116. Smith KT, Martin-Brown SA, Florens L, Washburn MP and Workman JL. Deacetylase inhibitors dissociate the histone- targeting ING2 subunit from the Sin3 complex. *Chem Biol*. 2010; 17(1):65-74.

117. Qinjuu WEI, Wei HE, Yajie LU, JUN YAO and XIN CAO Effect of the tumor suppressor gene ING4 on the proliferation of MCF-7 human breast cancer cells DOI: 10.3892/ol.2012.744

118. Zhang H, Cowan-Jacob SW, Simonen M, Greenhalf W, Heim J and Meyhack B: Structural basis of BFL-1 for its interaction with BAX and its anti-apoptotic action in mammalian and yeast cells. *J Biol Chem* 275: 11092-11099, 2000.

119. Thakur S. et al, Reduced ING1 levels in breast cancer promotes metastasis. *Oncotarget*, Vol. 5, No. 12.