



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

**MEME KANSERİNDE ÜROTENSİN 2 İLE KLİNİK  
VE PATOLOJİK PARAMETRELERİN İLİŞKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**TIBBİ ONKOLOJİ  
YANDAL UZMANLIK TEZİ**

**Uz. Dr. Ozan BALAKAN  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Celaletdin CAMCI**

**EKİM-2012**

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

**MEME KANSERİNDE ÜROTENSİN 2 İLE KLİNİK  
VE PATOLOJİK PARAMETRELERİN İLİŞKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**TIBBİ ONKOLOJİ  
YANDAL UZMANLIK TEZİ**

**Uz. Dr. Ozan BALAKAN  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Celaletdin CAMCI**

**Bu tez Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından TF.12.15 proje numarası ile desteklenmiştir.**

## I. ÖNSÖZ

Bu çalışmanın gerçekleşmesi için gerekli ortamı sağlayan ve araştırmanın başlangıcından sonuna kadar her aşamasında danışmanlık yapan, uzmanlık eğitimim boyunca olduğu gibi bitirme tezimde de değerli bilgileri, deneyimleri ile bana yön veren ve desteklerini esirgemeyen değerli tez hocam Prof. Dr. Celalettin CAMCI'ya, değerli hocalarım Prof. Dr. Alper SEVİNÇ ve Doç. Dr. Mehmet Emin KALENDER'e, tezimin hazırlanmasında fikir ve katkılarıyla bana destek olan Yrd. Doç. Dr. Serdar ÖZTUZCU, Doç. Dr. Beyhan CENGİZ ve biyolog Esmâ ÖZKARA'ya ve İç Hastalıkları Anabilim Dalındaki değerli hocalarıma, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalında beraber çalıştığım ve yardım ve dostluklarını unutmayacağım Uz. Dr. Özlem Nuray SEVER, Uz. Dr. Ali SÜNER ve Doç. Dr. Hakan BÜYÜKHATİPOĞLU'na ve tüm mesai arkadaşlarıma, emeklerini asla ödeyemeyeceğim anama ve babama, göstermiş olduğu sabırdan dolayı sevgili eşime ve kızıma teşekkür eder, sevgi ve saygılarımı sunarım.

Uz. Dr. Ozan Balakan  
Ekim 2012 Gaziantep

## II. İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VI
SİMGE VE KISALTMALAR.....	VII
TABLO LİSTESİ.....	VIII
ŞEKİL LİSTESİ.....	X
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Epidemiyoloji.....	4
2.2. Belirtiler.....	4
2.3. Meme Kanserinin Risk Faktörleri.....	5
2.3.1. Yaş.....	6
2.3.2. Mammografik artmış meme dansitesi.....	6
2.3.3. Memenin benign hastalıkları.....	6
2.3.4. Kanser öyküsü.....	6
2.3.5. Fiziksel aktivite.....	6
2.3.6. Radyasyon.....	7
2.3.7. Alkol.....	7
2.3.8. Doğurganlık, emzirme ve hormonlar.....	7
2.3.9. Aile öyküsü.....	8
2.3.10. Genetik yatkınlık.....	8
2.3.11. Kendisinde meme kanseri öyküsü.....	9
2.4. Memenin Yapısı Histopatolojisi ve Sınıflandırması.....	9
2.4.1. Histopatolojik sınıflandırma.....	10
2.4.1.1. Karsinoma in-situ.....	11
2.4.1.2. İnvazif duktal karsinom.....	11
2.4.1.3. İnvazif lobuler karsinom.....	12
2.4.2. Meme kanserinin moleküler sınıflaması.....	12
2.5. Evreleme.....	13
2.6. Meme Kanserinde Prognostik ve Prediktif Faktörler.....	16

2.6.1. Lenf nodu tutulumu.....	16
2.6.2. Tümör boyutu.....	17
2.6.3. Uzak metastaz.....	17
2.6.4. Tümör gradı.....	18
2.6.5. Yaş.....	18
2.6.6. Hormon reseptör durumu.....	18
2.6.7. Her-2 aşırı ekspresyonu.....	18
2.6.8. Tümör proliferasyon indeksi.....	19
2.6.9. Lenfovasküler invazyon.....	19
2.6.10. Histoloji.....	19
2.6.11. Neoadjuvan kemoterapi ve hormonoterapiye cevap.....	19
2.6.12. Diğer faktörler.....	19
2.6.13. Prediktif genetik işaretler.....	19
2.6.14. Genetik prognostik işaretler.....	20
2.6.14.1. Endokrin tedavi.....	20
2.6.14.2. Kemoterapi.....	23
2.6.14.3. micro RNA'lar.....	23
2.7. Tedavi.....	24
2.7.1. DCIS ve LCIS'ı İçeren Non İnvazif Karsinomlarda (evre 0) Tedavi.....	25
2.7.2. İnvazif karsinomlarda tedavi.....	25
2.7.2.1. Adjuvan tedavi.....	25
2.7.2.2. Metastatik hastalıkta tedavi.....	26
2.8. Meme Kanserinde Genetik ve Epigenetik.....	27
2.8.1. Ailesel meme kanseri.....	28
2.8.2. Meme kanserinde somatik değişiklikler .....	32
2.8.3. Meme kanserinin epigenetiği.....	32
2.8.4. Meme Kanserinde Tedavi Hedefleri ve Protein/Yolak Değişiklikleri.....	33
2.8.4.1. Meme kanseri ve Anjiogenez.....	37
2.9. Ürotensin 2.....	37
2.9.1. Ürotensin 2'nin keşfi ve moleküler yapısı.....	37

2.9.2. Ürotensin 2 reseptörü.....	38
2.9.3. Ürotensin 2 geni.....	39
2.9.4. Ürotensin Related Peptid.....	40
2.9.5. Ürotensin 2 ile diğer vazoaktif peptitlerin ilişkisi.....	40
2.9.6. Ürotensin 2 ile UTR ilişkisi.....	41
2.9.7. U2' nin etkileri.....	41
2.9.8. U2 ve Kanser.....	48
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	51
3.1. Klinik tanı ve veri toplanması için yapılan işlemler.....	51
3.2. Doku örneklerinin toplanması.....	51
3.3. Dokudan RNA elde edilmesi.....	52
3.4. cDNA sentezi.....	52
3.5. Real Time PCR .....	53
3.5.1. Real time PCR ile ürotensin 2 ifadesinin tespiti.....	53
3.5.2. Real time PCR ile ürotensin 2 reseptor ifadesinin tespiti.....	53
3.5.3. Real time PCR ACTB ifadesinin tespiti.....	53
3.6. İstatistik Yöntem.....	55
4. BULGULAR.....	56
5. TARTIŞMA.....	71
6. SONUÇLAR.....	77
7. KAYNAKLAR.....	78

### III. ÖZET

#### **Meme Kanseri Ürotensin 2 ile Klinik ve Patolojik Parametrelerin İlişkisinin Araştırılması**

**Uz. Dr. Ozan BALAKAN**

**Yandal uzmanlık tezi, İç Hastalıkları A.D, Tıbbi Onkoloji B.D**

**Tez danışmanı: Prof. Dr. Celaletdin CAMCI**

**Ekim 2012, 98 sayfa**

Bazı vazoaktif polipeptidlerin tümör hücrelerince üretildiği, sekrete edildiği ve bir parakrin büyüme uyarıcısı olarak hareket ettiği bilinmektedir. Bu çalışmanın amacı bir vazoaktif madde olan ürotensin 2 ve reseptörünün messenger RNA (mRNA) ekspresyonunun meme kanserindeki potansiyel ilişkisinin araştırılmasıdır.

Bu çalışmaya meme kanserli, ortanca yaşı 48 olan toplam 59 kadın hasta alındı. Hastalardan elde edilen taze tümör dokusu ve sağlıklı meme dokusu örneklerinden elde edilen ürotensin 2 ve ürotensin 2 reseptörü mRNA ekspresyonlarının hastaların klinik ve patolojik parametreleri ile ilişkisi incelendi.

Çalışmamızda meme kanserli hastalardan alınan 59 tümürlü dokunun 55'inde ve 59 tümörsüz meme dokusunun 55'inde ürotensin 2 ve reseptörünün mRNA ekspresyonu saptandı. Ürotensin 2 ve reseptörü arasında pozitif yüksek bir ilişki saptandı ( $r=0,632$ ,  $p=0,001$ ). Yaşla ürotensin 2 reseptörü arasında istatistiksel olarak negatif zayıf bir ilişki bulundu ( $p=0.38$ ,  $r=-0.281$ ). Premenopozal grupta ürotensin 2, postmenopozal gruptan daha yüksek bulundu ( $p<0.05$ ). Premenopozal grupta ortalama ürotensin 2 reseptörü, postmenopozal gruptan daha yüksek bulundu ( $p<0.05$ ). Ekstra nodal invazyonu olmayan grupta ürotensin 2 reseptörü ektranodal invazyonu olan gruba göre yüksek bulundu ( $p=0.001$ ). Lenfatik invazyonu olmayan grupta ürotensin 2 lenfatik invazyonu olan gruba göre sınırdan anlamlı yüksek bulundu ( $p=0.048$ ).

Bu çalışma şimdiye kadar meme dokusu ve meme kanser dokusunda ürotensin 2 ve ürotensin 2 reseptörü mRNA ekspresyonunu gösteren literatürdeki ilk çalışmadır. Ürotensin 2 menopoz ve ektranodal invazyon ve lenfatik invazyonla ilişkili görünmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Meme kanseri, Ürotensin 2, Ürotensin 2 reseptörü

#### IV. ABSTRACT

### **An analysis of the Relationship Between Urotensin 2 and Clinicopathological Parameters of Breast Cancer**

**Ozan BALAKAN, MD**

**Doctorate Thesis, Department of Internal Medicine and Medical Oncology**

**Supervisor: Prof. Dr. Celaletdin CAMCI**

**2012, October, 98 pages**

Urotensin 2 is a vasoactive polipeptid. It is known that some vasoactive polypeptides are produced and secreted by tumor cells, and act as a paracrine growth stimulant. The aim of the study was to examine the likely association of urotensin 2 and its receptor's messenger RNA expression on breast cancer.

In this study, we enrolled 59 women with breast cancer. Median age was 48. The relationships between urotensin-2 and urotensin-2 receptor mRNA expressions -that were derived from fresh breast cancer tissues and adjacent normal breast tissues- and clinical and pathological parameters were assessed.

In our study, we found mRNA expressions of urotensin 2 and its receptor in 55 of 59 breast cancer tissues and in 55 of 59 normal breast tissues. We found a positive significant correlation between urotensin 2 and its receptor ( $r=0,632$ ,  $p=0,001$ ), and found a negative, however, a non-significant correlation between urotensin 2 and age ( $p=0.38$ ,  $r=-0.281$ ). Urotensin 2 levels were higher in premenopausal group than in post-menopausal group ( $p<0.05$ ). Average urotensin 2 receptor expression were higher in pre-menopausal group ( $p<0.05$ ) than postmenopausal group, and its expression was also higher in no extra-nodal invasion group than extranodal invasion group ( $p=0.001$ ). Urotensin 2 levels were higher in the group of no lymphatic invasion than lymphatic invasion group ( $p=0.048$ ). .

This study is the first one in the English medical literature so far, in terms of determining the urotensin 2 and its receptor mRNA expressions on breast cancer tissues. Consequently, urotensin 2 seems to have relations with menopausal status, extranodal and lymphatic invasion.

**Keywords:** Breast cancer, Urotensin 2, Urotensin 2 receptor



## V. SİMGE VE KISALTMALAR

<b>ABD</b>	: Amerika Birleşik Devletleri
<b>ACAT</b>	: Açıl-Ko enzim A kolesterol açıltransferaz
<b>ASCO</b>	: American Society of Clinical Oncology
<b>BIG</b>	: Breast International Group
<b>BRCA</b>	: Breast Cancer Susceptibility Protein
<b>DNMT</b>	: DNA N metiltransferaz
<b>EGFR</b>	: Endotelyal büyüme faktörü reseptörü
<b>EORTC</b>	: European Organisation for Research and Treatment of Cancer
<b>ET1</b>	: Endotelin 1
<b>FDA</b>	: Federal Drug Association
<b>FGF</b>	: Fibroblast büyüme faktörü
<b>GGI</b>	: Genomik Grad İndeksi
<b>GWAS</b>	: Genome-wide association study
<b>HDAC</b>	: Histon deasetilaz
<b>miRNA</b>	: MicroRNA
<b>mRNA</b>	: Messenger RNA
<b>mTOR</b>	: Mammalian target of rapamycin
<b>NCCN</b>	: National Comprehensive Cancer Network
<b>NSABP</b>	: National Surgery Adjuvant Breast and Bowel Project
<b>PARP1</b>	: Poliadenosine difosfat-riboz polimeraz-1
<b>PDGFR</b>	: Platelet derivated growth factor receptor
<b>PI3K</b>	: Phosphatidil inositol 3-kinaz
<b>RT-PCR</b>	: Real time PCR
<b>SNPs</b>	: Single nükleotid polimorfizmleri
<b>SST</b>	: Somatostatin
<b>SWOG</b>	: Southwest Oncology Group
<b>TSGs</b>	: Tümör supresör genleri
<b>U2</b>	: Ürotensin 2
<b>u-PA</b>	: Ürokinaz plazminojen aktivatör
<b>UTR</b>	: Ürotensin 2 reseptörü
<b>VEGF</b>	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

## VI. TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b> Bilinen meme kanseri risk faktörlerinin genliği.....	9
<b>Tablo 2.</b> Histopatolojik tiplerde Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sınıflaması.....	11
<b>Tablo 3.</b> Kanser evrelemede American Joint Committee (AJC).....	14
<b>Tablo 4.</b> Anatomik evre ve prognostik gruplar .....	16
<b>Tablo 5.</b> Meme kanserinde tümör boyutu, lenf nodu tutulumu ve sağkalım ilişkisi .....	17
<b>Tablo 6.</b> Evrelere göre sağkalım.....	17
<b>Tablo 7.</b> Oncotype DX Gen Nüks Skor Ölçümü.....	22
<b>Tablo 8.</b> Meme kanserinden sorumlu tutulan sık rastlanan genler.....	29
<b>Tablo 9.</b> cDNA eldesi için kullanılan çözeltiler.....	52
<b>Tablo 10.</b> Real time PCR için kullanılan çözeltiler .....	53
<b>Tablo 11.</b> Hasta özellikleri.....	57
<b>Tablo 12.</b> U2'ye göre hasta dağılımları.....	58
<b>Tablo 13.</b> UTR'ye göre hasta dağılımları .....	59
<b>Tablo 14.</b> U2 ve yaş arasındaki ilişki .....	59
<b>Tablo 15.</b> UTR ve yaş arasındaki ilişki.....	59
<b>Tablo 16.</b> U2 ve UTR arasındaki ilişki .....	59
<b>Tablo 17.</b> U2 ve menopoz ilişkisi .....	60
<b>Tablo 18.</b> U2 için menopoz durumuna göre hasta dağılımları.....	61
<b>Tablo 19.</b> UTR ve menopoz ilişkisi.....	61
<b>Tablo 20.</b> Ürotensin 2 reseptörü için menopoz durumuna göre hasta dağılımları..	61
<b>Tablo 21.</b> Sigara içenlerle içmeyenler arasında UTR ve U2 farkı.....	62
<b>Tablo 22.</b> Ekstranodal invazyonu olanlarla olmayan arasında U2 ve UTR farkı... 62	62
<b>Tablo 23</b> Vasküler invazyonu olanlarla olmayan arasında U2 ve UTR farkı.....	62
<b>Tablo 24.</b> Lenfatik invazyonu olanlarla olmayan arasında U2 ve UTR farkı.....	63
<b>Tablo 25.</b> U2 için lenfatik invazyon durumuna göre hasta dağılımları .....	63
<b>Tablo 26.</b> UTR için lenfatik invazyon durumuna göre hasta dağılımları.....	63
<b>Tablo 27.</b> Lenfatik invazyonla vasküler invazyon ilişkisi.....	64
<b>Tablo 28.</b> İnvazif duktal karsinom olan ile olmayanlar arasında U2 ve UTR farkı.....	64

<b>Tablo 29.</b> Ürotensin 2' ye göre invazif duktal karsinom olanlarla olmayanlara göre hasta dağılımları.....	64
<b>Tablo 30.</b> Ürotensin 2 reseptörü için invazif duktal karsinom olanlarla olmayanlara göre hasta dağılımları .....	65
<b>Tablo 31.</b> Metaplastik karsinom olan ile olmayanlar arasında U2 ve UTR farkı..	65
<b>Tablo 32.</b> Tümör gradlarına göre U2 ve UTR farkı.....	65
<b>Tablo 33.</b> U2'ye göre tümör gradları açısından hasta dağılımları.....	66
<b>Tablo 34.</b> Ürotensin 2 reseptörüne göre tümör gradları açısından hasta dağılımları.....	66
<b>Tablo 35.</b> Östrojen reseptör durumuna göre U2 ve UTR farkı.....	66
<b>Tablo 36.</b> Ürotensin göre ER açısından hasta dağılımları.....	67
<b>Tablo 37.</b> Ürotensin 2 reseptörüne göre ER açısından hasta dağılımları.....	67
<b>Tablo 38.</b> Progesteron reseptör durumuna göre U2 ve UTR farkı.....	67
<b>Tablo 39.</b> Her-2 durumuna göre U2 ve UTR farkı.....	68
<b>Tablo 40.</b> Tahmini moleküler sınıflamaya göre U2 farkı.....	68
<b>Tablo 41.</b> Tahmini moleküler sınıflamaya göre UTR farkı.....	68
<b>Tablo 42.</b> Tümörün T evresine göre U2 farkı.....	69
<b>Tablo 43.</b> Tümörün T evresine göre UTR farkı.....	69
<b>Tablo 44.</b> Nodal tutulumuna göre U2 ve UTR farkı.....	69
<b>Tablo 45.</b> Evrelere göre U2 farkı.....	70
<b>Tablo 46.</b> Evreler göre UTR farkı.....	70

## VII. ŞEKİL LİSTESİ

<b>Şekil 1.</b> Meme ve komşu yapılar.....	10
<b>Şekil 2.</b> Normal hücreden invazif kansere değişim.....	10
<b>Şekil 3.</b> Meme kanserinde moleküler sınıflama ve özellikler.....	13
<b>Şekil 4.</b> Meme kanserinde çeşitli prognostik ve prediktif genetik testler.....	23
<b>Şekil 5.</b> BRCA mutasyonlarının ve BRCA restorasyonunun etkileri.....	31
<b>Şekil 6.</b> Hücre içi sinyal yolları.....	35
<b>Şekil 7.</b> İnsanda ve çeşitli hayvanlarda U2, URP ve bazı vazoaktif peptidlerin yapısı.....	38
<b>Şekil 8.</b> Rat UTR'nin şematik gösterimi.....	39
<b>Şekil 9.</b> U2'nin metabolik sendrom üzerine olan etkilerinin şematik özeti.....	42
<b>Şekil 10.</b> U2'nin neden olduğu hücre proliferasyonu ve hipertrofisi, vazodilatasyon ve vazokonstrüksiyonda etkileşen yollar.....	44
<b>Şekil 11.</b> U2 nin renal tübülüs ve glomerüllerde etkilerinin şematik gösterimi.....	45
<b>Şekil 12.</b> Aterosklerozun patogenezinde U2 nin potansiyel rolünün şematik çizimi.....	46
<b>Şekil 13.</b> U2'nin endotelial hücreler, vasküler düz kas ve makrofajlardaki etkilerinin şematik özeti.....	47
<b>Şekil 14.</b> Hastalarımızda Real Time PCR ile U2 gen ifadesinin gösterimi.....	54
<b>Şekil 15.</b> Hastalarımızda Real Time PCR'la UTR gen ifadesinin gösterimi.....	54
<b>Şekil 16.</b> Real Time PCR ACTB gen ifadesinin gösterimi.....	54
<b>Şekil 17.</b> U2 ve UTR arasındaki pozitif ilişkinin grafiksel gösterimi.....	60

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanserin genetik bir hastalık olduğu ve onu anlamının da kanser gelişimine yol açan deoksiribonükleik asit (DNA) değişikliklerinin araştırılmasıyla mümkün olabileceği düşünölmektedir. Kanser oluşum sürecine ışık tutabilmek için bu genetik değişikliklerin invazyon, metastaz ve büyüme gibi hücre sel programları nasıl değiştirdiğinin anlaşılması gerekmektedir.

Meme kanseri kadınlarda en sık görölen kanserdir. Vakaların büyük çoğunluğunun etyolojisi bilinmemektedir. Epidemiyolojik kanıtlar meme kanserinde ileri yaşı, obezite, alkol alımı, yaşıam boyu östrojen maruziyeti ve mammografik dansite gibi belirli risk faktörlerinin mevcudiyetini desteklemekle birlikte aile öyküsü hala en güçlü risk faktörü olarak durmaktadır (1, 2). Meme kanserinde büyüme faktör sinyali ile ilişkili birçok moleküler anormallikler son zamanlarda tanımlanmasına rağmen kalıtsal meme kanserine yol açan genlerin yarısından fazlası büyük ölçüde hala bilinmemektedir. Sporadik kanserlerle yapılan çalışmalarda da en çok üzerinde durulan nokta kanser oluşumunda eksojen ve endojen karsinojenler ve bunların sebep olduğu genetik değişikliklerdir. Kanser gelişimine katkıda bulunan bir diğer özellik ise düşük penetranslı genlerdeki polimorfizmler ve mutasyonlara bağlı olarak oluşan genetik değişikliklerdir. Örneğin, östrojen biyosentezi ve metabolizmasında rol alan genler, meme kanserinin gelişimi için, düşük penetranslı kanser yatkınlık genleridir (3). Bu genlerde meydana gelen polimorfizmler, diğer genetik ve çevresel faktörlerle birlikte sporadik meme kanseri için yüksek risk oluşturmaktadırlar.

Son 20 yılda meme kanserinin çok basamaklı sürecinin kısmen anlaşılması teşhis, tedavi ve hastalığın önlenmesindeki genetik değişikliklerin merkezi rolünü kavramada dramatik bir ilerlemeye yol açmıştır. Meme kanserinin moleküler biyolojisi ve gen ekspresyon belirteçlerinin daha iyi anlaşılması meme kanserinde önleme, teşhis ve tedavi stratejilerinin ilerlemesine yol açmıştır. Örneğin meme kanserinde östrojen reseptörünün östrojen reseptörünün fizyolojik rolünün keşfedilmesi anti östrojen tedavi için zemin hazırlamıştır. Benzer şekilde insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (Her-2) onkogeninin amplifikasyonunun trastuzumab ile anti Her-2

tedavisinin duyarlılığının major belirleyicisi olduğu ispatlanmıştır. Böylece hedefe özel sinyal yolaklarının değeri anlaşılmıştır. Tümör hücrelerini sitotoksik ilaçlarla yok etmenin yanında tümör hücre büyümesinin ve damarlanmasının engellenmesi de tedavi stratejileri arasına girmiştir. Bunun için tümör hücre biyolojisinin daha iyi anlaşılması ve yeni hedef yolaklar bulunması önem taşımaktadır (4, 5).

Bazı vazoaktif polipeptidlerin tümör hücrelerince üretildiği, sekrete edildiği ve bir parakrin büyüme uyarıcısı olarak hareket ettiği bilinmektedir. Örneğin somatostatin (SST) vücutta nöroendokrin ve immün hücrelerce üretildiği bilinen düzenleyici bir peptittir. Lokal olarak nörotransmitter, nöromodülatuar, parakrin/otokrin olarak regülatuar ve sistemik olarak da bir hormon işlevi görür. SST birçok tümörde tümör büyümesini sağlayan büyüme faktörleri ve hormonların sekresyonunu inhibe eder. Büyüme faktörlerinin oluşturduğu DNA sentezi ve angiogenezi inhibe eder. Vazokonstrüksiyonu artırır ve immün hücre işlevlerini düzenler. SST reseptörünün (SSTR) meme kanserini de içeren birçok tümörde varlığı gösterilmiştir (6). Bir diğer vazoaktif madde olan Ürotensin 2 (U2) ilk önce “goby fish” (*Gillichthys mirabilis*)’ in ürofizinden izole edilmiş bir peptittir. Sekansiyel yapısı SST’ye benzer. U2’ ninde mitogenez ve angiogenez üzerine birçok etkiler oluşturduğu bilinmektedir. Vücutta en güçlü vazokonstrüktör olarak bilinen Endotelin 1 (ET1)’den çok daha güçlü bir vazokonstrüktör etki oluşturduğu gösterilmiştir (7). U2’nin damarlar üzerindeki etkisi damar yatağına ve damar çapına bağlı olarak değişmektedir. ET-1 ve U2 damar üzerine potent mitojenik, pro-inflamatuar ve pro-oksidatif özelliklere sahiptir. Dolayısıyla kardiyovasküler ve renal hastalıkların patofizyolojisinde rol oynadığı kanıtlanmıştır (8). U2’ nin daha önce insan adrenokortikal karsinoma (SW-13) ve insan böbrek hücreli karsinom (VMRC-RCW) hücre serilerinin çoğalmasını belirgin olarak uyardığı gösterilmiştir (9). Azalmış U2 reseptörü (UTR) ekspresyonu prostat kanserinde Gleason skoru gibi bazı patolojik göstergeler ile ilişkili bulunmuştur (10).

Ürotensin 2’nin araştırılması meme kanserli hastalarda faydalı prognostik ve prediktif bilgiler sağlayabilir. U2 yukarıda bahsedilmiş olan etkileri nedeniyle meme kanseri patogenezinde önemli bir etki gösteriyor olabilir. Biz de çalışmamızda bu amaca yönelik olarak U2 ve UTR messenger RNA (mRNA) ekspresyonunun meme kanserli hastalarda klinik ve patolojik parametrelerle potansiyel ilişkisini araştırmayı amaçladık. Bu çalışmaya meme kanserli toplam 59 kadın hasta dahil edildi. Hastalardan elde edilen

tümör dokusu ve sağlıklı meme dokusu örneklerinde U2 ve UTR mRNA ekspresyonları incelendi. Bu araştırma meme kanserinde U2 ve UTR' nin rolünün araştırıldığı ilk çalışmadır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Epidemiyoloji

Meme kanseri meme epitelinden kaynaklanan malign tümördür. Dünya çapında büyük bir halk sağlığı sorunudur. Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) kadınlarda cilt kanserleri hariç tutulduğunda en sık rastlanan kanserdir ve kansere bağlı ölümlerde ikinci sırada yer alır. 2011 yılında kadınlarda meme kanserinin tüm kanser vakalarının % 29'unu oluşturacağı ve kansere bağlı ölümlerin % 14.3'ünden sorumlu olacağı tahmin edilmektedir. Bu da yaklaşık 226.870 yeni vaka ve 39.510 ölüm demektir. Kadınlarda yaşam boyu meme kanseri gelişme olasılığı ABD'de 8'de birdir. Son bir kaç dekatta ABD' de meme kanserine bağlı ölümlerde % 34'lük bir azalma olmuştur (11). Bu iyileşmede erken tarama programları (12), adjuvan kemoterapilerin gelişimi ve tamoksifenin klinik uygulamaya girmesinin rolü vardır (13).

Gelişmekte olan ülkelerdeki endüstrileşme de meme kanseri riskinde hızlı bir artışla ilişkili gözükmemektedir. Tüm dünyada meme kanseri insidansı Kuzey Amerika ve Kuzey Avrupa'da en yüksek iken Asya ve Afrika'da en düşüktür. Uluslararası bu farkların endüstrileşme sırasında ortaya çıkan sosyal değişikliklere bağlı olduğu düşünülmektedir (yağ tüketiminde değişiklikler, kilo, menarş yaşı, laktasyon, daha az doğum sayısı ve geç doğum yaşı gibi). Ayrıca östrojen reseptörü / progesteron reseptörü (ER / PR) pozitif meme kanseri sıklığı, erken evre meme kanseri, invazif lobüler meme kanseri ve intraduktal karsinom görülme sıklığı da artmıştır. Bunun en önemli sebebi olarak erken tanı yöntemlerinin gelişmesi ve tedavi alternatiflerinin çoğalması gösterilmektedir (14, 11, 12).

### 2.2. Belirtiler

Meme kanserinin en erken belirtileri hastanın kendisi ya da bir sağlık çalışanı tarafından saptanan kitle ve anormal mammogramdır. Ağrısız bir kitle olarak ortaya çıkabilir. Daha az sıklıkla olan belirtiler meme derisinde kalınlaşma, hassasiyet, şişlik, distorsiyon, cilt iritasyonu, spontan akıntı, ülserasyon, retraksiyon ve kızarıklığıdır (15).



### 2.3. Meme Kanserinin Risk Faktörleri

Meme kanserli vakaların büyük çoğunluğunun etyolojisi bilinmemektedir. Bununla birlikte çeşitli risk faktörleri tanımlanmıştır. Kadın olmanın yanı sıra, artan yaş meme kanseri için en önemli risk faktörüdür (15). Meme kanseri gelişimindeki risk faktörleri: 1) Ailesel ve genetik faktörler, 2) Demografik faktörler, 3) Reprodüktif öykü, 4) Çevresel faktörlerdir. Potansiyel değiştirilebilir risk faktörleri arasında 18 yaş sonrası kilo artışı, aşırı kilo veya obezite (postmenopozal meme kanseri için), kombine östrojen ve progestin hormonu tedavisi, fiziksel hareketsizlik ve günde bir veya daha fazla alkollü içki tüketimi vardır. Artmış riskle ilişkili tıbbi bulgular ise mammografik olarak artmış meme dansitesi (meme glandüler dokusunun yağ dokusuna göre artması nedeniyle), yüksek kemik mineral yoğunluğu ve biyopsi ile doğrulanmış hiperplazidir (özellikle atipik hiperplazi). Kanseri tedavisi ile ilgili göğüs duvarına yüksek doz radyasyon maruziyeti de riski artırır. Artmış riskle ilişkili reprodüktif faktörler uzun menstrüel dönem (erken menarş-geç menopoza), oral kontraseptif kullanımı, çocuk sahibi olmamak ve ilk çocuğuna 30 yaşından sonra sahip olmaktır. Kendisinde ya da ailesinde meme kanseri öyküsü çok önemli risk faktörleridir. Özellikle de Breast Cancer Susceptibility Protein (BRCA) 1 ve 2 mutasyon taşıyıcılarında bu risk çok belirgindir. Meme kanseri için düşük bir risk oluşturan değiştirilebilir risk faktörleri; emzirme, orta ya da ağır fiziksel aktivite ve ideal vücut ağırlığının sağlanması sayılabilir. Tamoksifen ve raloksifen, yüksek risk altındaki kadınlarda meme kanseri riskini azaltmak için onaylanmıştır. Raloksifenin rahim kanseri ve tromboz gibi yan etki oluşturma riski tamoksifenden daha az görünmektedir (16). Yapılan çalışmalarda meme kanseri ile sigara ilişkisi hakkında sınırlı kanıtlar vardır. Yine sınırlı kanıt bulunan bir diğer risk faktöründe gece vardiyasında çalışmadır. Tüm bu risk faktörlerine rağmen meme kanseri gelişen kadınların yaklaşık % 50'sinde ileri yaş ve kadın cinsiyetin dışında saptanabilen hiçbir risk faktörü yoktur (15). Meme kanseri riskinin belirlenmesi, risk azaltıcı girişimlerin uygulanabilmesi açısından önemlidir. Örneğin BRCA 1 ve 2 taşıyıcılarına risk azaltıcı mastektomi önerilebilmekte, yine artmış riski olan 35 yaş üzeri premenopozal hastalara tamoksifen, postmenopozal hastalara tamoksifen veya raloksifen verilebilmektedir (16).

### 2.3.1. Yaş

Meme kanseri sıklığı yaşla belirgin ve sürekli şekilde artmaktadır. Aslında ileri yaş meme kanseri için bilinen tüm risk faktörlerinden en önemlisidir. Bütün meme kanserli hastaların % 75'ine postmenopozal dönemde tanı konmaktadır. Meme kanseri gelişme riski 39 yaşına kadar 1/203, 40-59 yaşında 1/27, 60-69 yaşında 1/28, 70 yaş üzeri 1/15 ve yaşam boyu 1/8 dir (11). Meme kanserli hastaların % 20'si 50 yaşın altında, % 40'ı 50-65 yaş, % 40'ı da 65 yaşın üzerinde tanı alır. Ortanca kanser tanı yaşı 61'dir. 2011 yılında ABD' de 50 yaş üstü kadınlarda 180.050 meme kanseri ve 34.280 meme kanserinden ölüm beklenmekteyken 50 yaş altı bayanlarda 50.430 invazif meme kanseri ve 5.240 meme kanserine bağlı ölüm beklenmektedir (17).

### 2.3.2. Mammografik Artmış Meme Dansitesi

Mammografide meme dansitesi % 50'den büyük olanlarda % 10'dan küçük olanlara göre özellikle de postmenopozal, hormon tedavisi kullanan kadınlar için artmış bir meme kanseri riski vardır (18).

### 2.3.3. Memenin Benign Hastalıkları

Fibrokistik meme hastalığı gibi proliferatif olmayan meme hastalıkları meme kanseri ile ilişkili değildir. Ailesinde meme kanseri öyküsü olmayan kadınlarda 15 yılda atipi içeren hiperplazi meme kanseri için % 8 risk oluştururken bu oran ailesinde meme kanseri öyküsü olan kadınlarda % 20'dir. İkinci grupta 11 kat artmış risk bulunmuştur (19).

### 2.3.4. Kanser Öyküsü

Kendisinde daha önce meme, endometriyum ya da over kanseri olan hastalarda meme kanseri riski kat artmıştır. Meme kanserli hastalarda karşı memede meme kanseri gelişme riski yaşam boyu % 2-11 dir ve bu hastalarda 2-6 kat artmış bir risk sözkonusudur (20).

### 2.3.5. Fiziksel Aktivite

Özellikle fiziksel aktivitenin meme kanserinin ortaya çıkması üzerine etkisini araştıran çalışmalar yoktur fakat kohort çalışmaları fiziksel olarak daha aktif bir

yaşamın meme kanseri riskini azaltabileceğini desteklemektedir (21). Bu nedenle fiziksel aktivite kanserden korunmak için tavsiye edilmelidir.

### **2.3.6. Radyasyon**

Özellikle 30 yaşından önce, nükleer patlama, medikal tanı veya tedavi amaçlı iyonize radyasyon maruziyeti ile meme kanseri riski artmaktadır. Kırk yaşından sonra iyonize radyasyona maruz kalanlarda meme kanseri riskinde artma gözlenmemiştir. ABD’de meme kanseri olgularının yaklaşık %1’inin tanı amaçlı mammografiye bağlı geliştiği düşünülmektedir (22). Hodgkin lenfoma tanısı ile 15 yaşından önce kemoterapi ile kombine olarak mantle radyoterapi uygulanan genç kızlarda meme kanseri riski belirgin olarak artmaktadır ve sıkı takip gerekmektedir. Lenfoma nedeniyle radyoterapi alan kadınlarda da özellikle 10. yıldan sonra meme kanseri riski artmaktadır (23).

### **2.3.7. Alkol**

Alkol tüketimi meme kanseri riskini artırmaktadır. Alkolün meme kanseri üzerine etkisi diyetle düşük folik asit alımı ile ilişkili olabilir. Yeterli folat alımı alkolün olumsuz etkisini azaltabilir (24).

### **2.3.8. Doğurganlık, Emzirme ve Hormonlar**

Endojen östrojen ve progesterona maruziyet meme kanseri riskinin en önemli kısmını oluşturmaktadır. Otuz yaşından sonra tek doğum yapan kadınlarda meme kanseri riski 18 yaşından önce doğum yapan kadınlara göre 2 ile 5 kat fazladır. Erken adet görme (<12 yaş) ve geç adetten kesilme (>55 yaş) meme kanseri riskini arttıran faktörlerdir. Emzirme üzerine veriler çelişkilidir. Uzun süreli emzirmeler riski azaltabilir (25). Oral kontraseptiflerin meme kanserini gelişme riskini küçük oranda (1.24) kat arttırmaktadır. Oral kontraseptif kullanımının bırakılması ile bu risk azalmakta ve 10 yıl sonra diğerleri ile eşitlenmektedir (26). Menopoz sonrası hormon replasman tedavisi meme kanseri riskini arttırmaktadır. Bu risk östrojen ve progesteronun kombinasyonu ile daha da artmaktadır. Bu risk bu ilaçların bırakılmasıyla azalmakta ancak az da olsa devam etmektedir (27).

### 2.3.9. Aile Öyküsü

Meme kanserli hastaların sadece % 5-10'u meme kanseri için gerçek bir aile öyküsüne sahiptir. Aile öyküsü nedeniyle genetik test yapılan birçok kadında bir mutasyona sahip olma ihtimalinin beklenenin çok altında olduğu görülmüştür. Anne ya da kız kardeşinde meme kanseri bulunan bir kadında meme kanseri riskinde 1.5-3 kat bir artış söz konusudur. Bununla birlikte aile öyküsü meme kanserli akrabalarının sayısı, akrabanın yakınlık derecesi, tanı anındaki yaşı, etkilenmemiş bireylerin sayısı gibi birçok farklı etkiye bağlı heterojen bir risk faktörüdür (16). Örneğin sadece annesinde ileri yaşta meme kanseri aile öyküsü bulunan bir kadında çok hafif bir risk artışı söz konusuysen çok sayıda aile bireylerinde ve erken yaşta meme kanseri aile öyküsü bulunan bir kadında risk bir hayli artmış olacaktır. Hatta bilinen bir kalıtsal yatkınlık olmaksızın açıklanamayan genetik faktörler, paylaşılan çevresel maruziyet ya da her ikisi artmış riski beraberinde getirebilir (28).

### 2.3.10. Genetik Yatkınlık

Meme kanserlerinin % 5-10'u kalıtsaldır. Özellikleri en iyi belirlenmiş genetik risk faktörleri BRCA-1 ve BRCA-2'deki gen mutasyonlarıdır. Toplumda % 1 sıklıktadır. Bu yüzden risk taşımayan bireylerde genetik tarama önerilmez. Bu mutasyonlar meme kanseri vakalarının % 5-10'nundan sorumludurlar. Bu genler, tümör supressör genlerdir ve DNA hasarının onarılması ile ilişkili rolleri vardır. Bu gen mutasyonunu taşıyanlarda meme kanseri ortanca 45 yaşında gelişmektedir. Otuz-beş yaşın altında meme kanseri gelişen hastalarda bu mutasyonlar daha sık görülür. BRCA-1 taşıyıcılarında ömür boyu meme kanseri gelişme riski % 26, BRCA-2 de ise % 85 dir. Over kanseri için ise bu oranlar sırasıyla % 16-63 ve % 10-27 dir (29). BRCA-1 gen mutasyonu ile ilişkili meme kanserlerinde ER ve PR ekspresyonu sporadik kanserlere göre daha düşüktür. Her-2 aşırı ekspresyonu ise sık değildir (30). Yüksek mitotik oran, yüksek tümör gradı ve yüksek oranda P53 mutasyonu özelliklerine sahiptirler. Erkek meme kanserleri sıklıkla BRCA-2 gen mutasyonu ile ilişkilidir. Bu mutasyonla ilişkili meme kanserleri sporadik meme kanserlerine benzer oranda ER pozitifdir. BRCA-2 gen mutasyonu olanlarda aynı zamanda endometrium, prostat, pankreas ve mide kanseri gelişme riski de artmıştır. 50 yaş altında geçirilen ooforektominin meme kanseri riskini azalttığı bilinmektedir. BRCA-1 ve 2 taşıyıcılarında da erken profilaktik ooforektomi

meme kanseri riskinde belirgin bir önleyici etki göstermektedir (31). Ataksia-Telenjektazi, Li-Fraumeni, Peutz-Jeghers ve Cowden sendromlarında da meme kanseri gelişme riski artmıştır (32).

### 2.3.11. Kendisinde Meme Kanseri Öyküsü

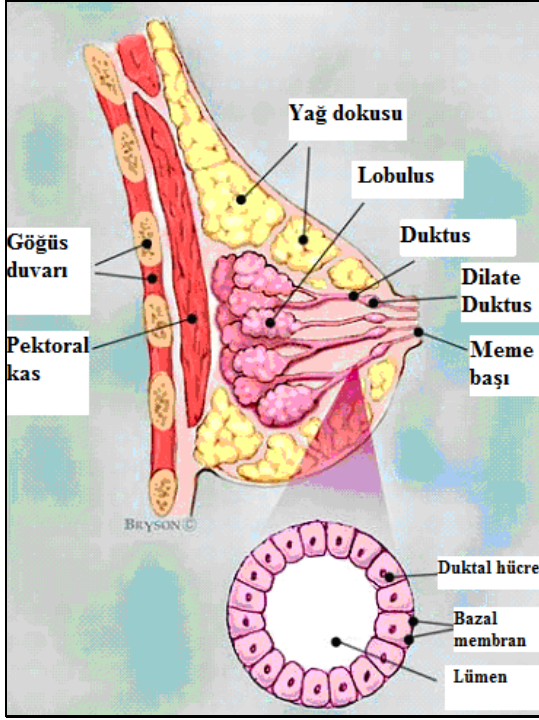
Meme kanseri öyküsü olan kadınlarda ikinci kez meme kanseri gelişme riski artmıştır. Karşı memede kanser gelişme insidans hızı yılda % 0.7-1.8 arasında değişmektedir (33, 34).

**Tablo 1.** Bilinen meme kanseri risk faktörlerinin genliği (28)

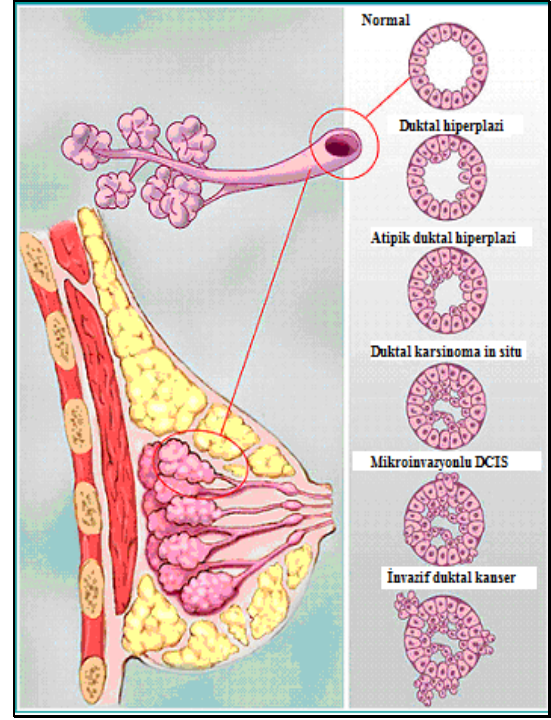
BAĞIL RİSK < 2	BAĞIL RİSK 2-4	BAĞIL RİSK > 4
Geç menopoz	CHEK2 mutasyonu	Lobüler karsinoma in situ
Nulliparite	İlk doğum yaşı > 35 olması	Atipik hiperplazi
Estrojen + Progesteronlu Hormon replasman tedavisi	Proliferatif meme hastalığı	30 yaşından önce memenin radyasyona maruziyeti
Alkol kullanımı	Mammografik dansite artışı	
Postmenopozal obezite		

### 2.4. Memenin Yapısı, Histopatolojisi ve Sınıflandırma

Kadın memesi 2-6. kostalar, sternal kenar ve orta aksiller hat arasında bulunur. Meme cilt, ciltaltı doku ve meme dokusundan oluşur. Kadın memesinde her biri meme başından başlayan, yayıldıkça ince dallara ayrılan ve terminal duktus lobul birimlerini oluşturarak sonlanan kanallar sistemi vardır (Şekil 1). Lobulusların arasını yağ doku doldurur. Terminal duktus lobul birimleri, tek bir duktusa açılan üzüm salkımı gibi keseciklerden meydana gelir. Bu kesecikler arasında hormona duyarlı stroma bulunur. Her bir kesecik, bazal membran üzerinde miyoepitelyal hücreler ve bunlar üzerinde lümene bakan epitel hücrelerinden oluşur. Memenin yapısının % 10-15'i epitel elementlerden, geri kalanı da stromadan oluşur (28).



Şekil 1. Meme ve komşu yapılar



Şekil 2. Normal hücreden invazif kansere değişim

#### 2.4.1. Histopatolojik Sınıflandırma:

İnvazif meme kanseri klinik bulgular, radyografik ve patolojik özellikler ve biyolojik davranışlarına göre farklılıklar içeren heterojen bir hastalık grubudur. Tarihsel olarak sınıflandırılması ışık mikroskopundaki morfolojik görünümüne dayandırılmıştır. Bugün kabul edilen histopatolojik sınıflama, tümör özelliklerine ve kaynak hücrelere göre yapılmaktadır. Meme kanseri duktal ya da lobüler epitelden gelişir. Bu her iki epitelde de hiperplaziden atipik hiperplazi, in-situ karsinom ve invazif karsinomaya uzanan geniş bir spektrumda birçok anormal hücresel proliferasyon gözlenebilmektedir (Şekil 2). Meme kanserlerinin birçok alt tipi tanımlanmıştır (bkz. Tablo 2). İki major alt tip olan duktal ve lobüler karsinom ayırımında e-kaderin sıklıkla kullanılan bir belirteçdir. E-kaderin, B-katenin ile birlikte kalsiyum bağımlı hücresel adezyondan sorumludur. E-kaderin genelde tümör dediferansiyasyonu ve metastazla ilişkili olan epitelyal-mezenkimal dönüşümde rol oynar. E-kaderini kodlayan gen CDH1 invazif duktal karsinomların (İDC) % 80'inde mutanttır ve aşırı ekspresyonuyla sonuçlanır. İnvazif lobüler karsinomda hiç eksprese olmaz (35). Histolojik gradlama, tübül yapısı, nükleer pleomorfizm ve mitotik aktivitenin değerlendirilmesine dayanarak yapılır. En sık kullanılan Bloom ve Richardson tarafından önerilmiş olan sistemdir (36). Tümör

grad olarak üçe ayrılır: Grad 1 (iyi differansiye), grad 2 (orta derecede differansiye) ve grad 3 (kötü differansiye).

**Tablo 2.** Histopatolojik tiplerde Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sınıflaması

İN SİTU KARSİNOMLAR	İNVAZİF KARSİNOMLAR
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sınıflandırılmayan (NOS)</li> <li>• İntra duktal Paget hastalığı</li> <li>• İntra duktal</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• İnvazif, NOS</li> <li>• Duktal</li> <li>• İnflamatuvar</li> <li>• Meduller, NOS</li> <li>• Lenfoid stromalı medüller</li> <li>• Müsinöz (kolloid)</li> <li>• Papiller</li> <li>• Tübüler</li> <li>• Lobular</li> <li>• Paget hastalığı</li> <li>• Andiferansiye</li> <li>• Skuamöz hücreli</li> <li>• Adenoid kistik</li> <li>• Sekretuvar</li> <li>• Kribriform</li> <li>• Skiröz</li> <li>• Komedo</li> <li>• Cystosarcoma phylloides</li> <li>• Anjiyosarkom</li> <li>• Primer lenfoma</li> </ul>

#### 2.4.1.1. Karsinoma in-situ

Tümör hücreleri duktuslar ve lobulusların içerisinde ancak bazal membranı aşmamıştır. Karsinoma in-situ, duktal karsinoma in-situ (DCIS) ve lobüler karsinoma in-situ (LCIS) olmak üzere iki gruba ayrılır. LCIS' da mammografide patolojik bulguya nadiren rastlanır ve tanı genellikle başka sebeple yapılan biyopsi ile rastlantı sonucu olarak konur. DCIS ta ise genellikle mammografide mikrokalsifikasyonlar vardır. Genellikle ele gelen kitleye rastlanmaz. Metastaz yapma özellikleri yok kabul edilirler (28, 72).

#### 2.4.1.2. İnvazif Duktal Karsinom

En sık görülen meme kanseri formudur. İnvazif karsinomların % 85-90'ı duktal epitelinden kaynaklanır. Tümör bazal membranı aşmıştır. İnvazyon ve metastaz yeteneği vardır (37, 38).

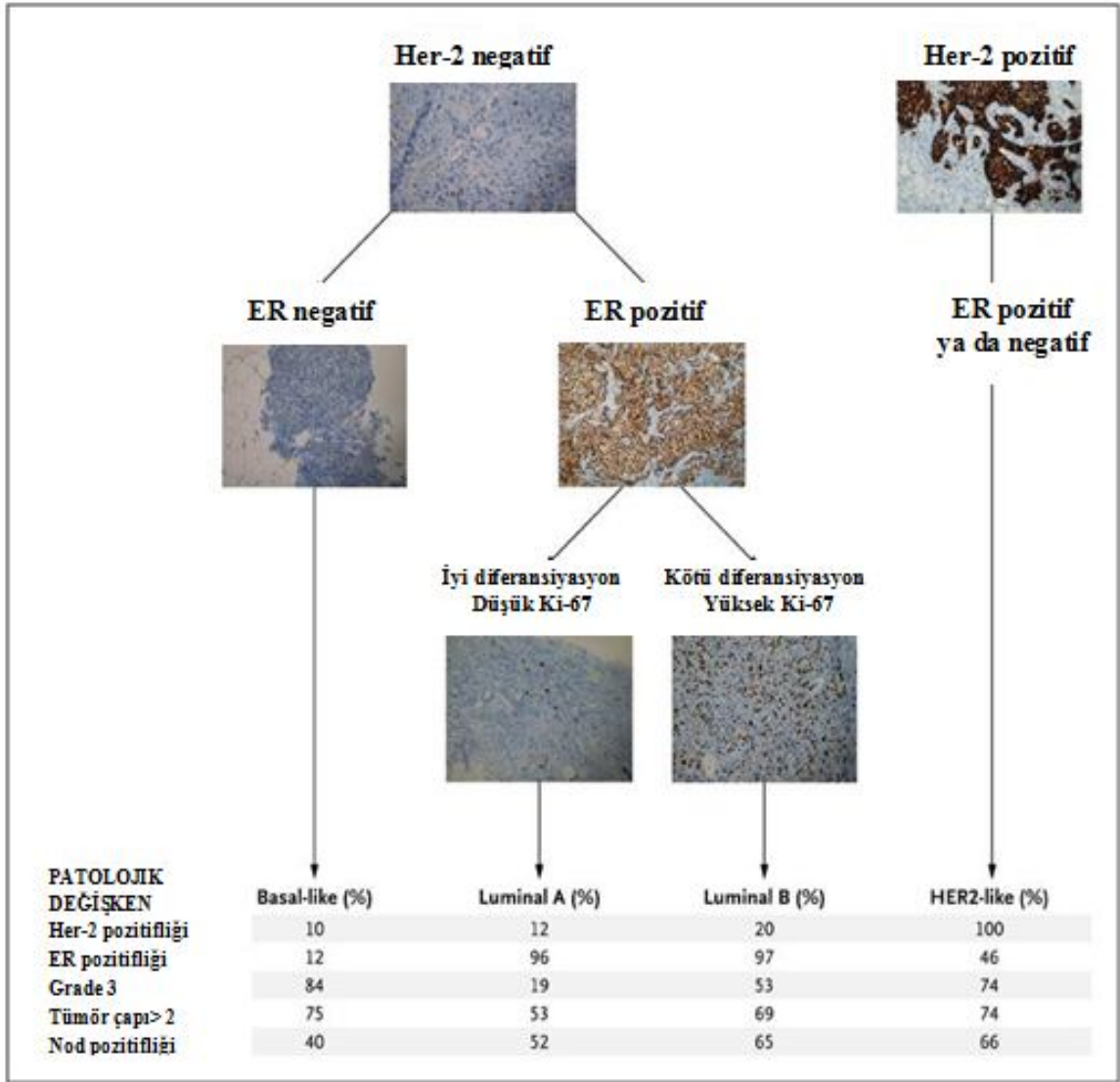
### 2.4.1.3. İnvazif Lobüler Karsinom

İnvazif lobüler karsinom, tüm meme kanserlerinin % 5-10'luk kısmını oluşturur. Mammografi ve fizik muayenede kitle veya asimetrik dansite olarak saptanırlar ve genellikle mikrokalsifikasyon özelliği göstermezler. İnvazif lobüler karsinomda bilateral tümör riski daha yüksektir (37, 38).

### 2.4.2. Meme Kanseri Moleküler Sınıflaması

Tüm diğer kanserlerde olduğu gibi meme kanserinde de prognoz ve tedaviyi tahmin etmek amacıyla birtakım yöntemler geliştirilmeye çalışılmıştır. Meme kanseri kliniğindeki çeşitlilik, gen ekspresyon düzeyiyle ilişkilendirilmiştir. Son yıllarda moleküler çalışmalar hız kazanmış, meme kanserinde tümör biyolojisi ve genetik özellikler daha iyi anlaşılmaya başlanmıştır. Meme kanseri fenotipik çeşitliliğinin tümörün gen ekspresyon çeşitliliği ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Perou ve arkadaşları (39) ve Sorlie ve arkadaşları (40) yapılan araştırmalar meme kanserinin moleküler portresi olarak adlandırılan gen ekspresyon paternlerine dayanan meme kanseri alt gruplarının bir sınıflandırmasını geliştirmiştir. Bu sınıflamaya göre tümör biyolojisi ve sağ kalımı farklı olan 5 alt tip; Luminal A, Luminal B, Normal meme benzeri, Her2 aşırı eksprese eden ve bazal benzeri meme kanseri olarak tanımlanmıştır (40, 41). Bu alt grupların detaylandırılabilmesi ve değişebileceği unutulmamalıdır (39, 42, 43). Luminal A tip tümörler ER-ilişkili genleri daha fazla eksprese ederken, Luminal B tip tümörlerde proliferatif genlerin ekspresyonu daha fazladır ve daha kötü prognozludurlar. Normal meme benzeri tümörlerin gen ekspresyon profili normal meme epiteline benzer, prognoz luminal B tipe benzer özellik gösterir. Her2 aşırı eksprese eden grupta Her2 geninde amplifikasyon ve bu gene komşu genlerde de sinyal güçlenmesi ve aşırı ekspresyon vardır. Bu tip tümörlerin çoğu hormon reseptör negatiftir. Bu grupta sağkalım luminal A, luminal B, normal meme benzeri gruba göre daha kötüdür. Bazal hücre benzeri meme kanser grubu normal meme dokusunda bulunan bazal veya myoepitelyal hücrelerin özelliklerini taşır ve agresif gidişlidir. Bazal benzeri meme kanserleri ER, PR, Her2 eksprese etmeyen, yüksek proliferasyon indeksine sahip ve yüksek gradlı tümörlerdir. En kötü prognozlu grup bunlardır (44). Meme kanseri moleküler sınıflama ve özellikleri Şekil 3'te özetlenmiştir.





Şekil 3. Meme kanserinde moleküler sınıflama ve özellikler

## 2.5. Evreleme

Klinik evreleme yönteminde; inspeksiyon ve palpasyon gibi muayene yöntemlerinin yanı sıra radyolojik yöntemler ile tümör boyutu, bölgesel lenf nodlarının tutulumu ve metastaz varlığı konusunda değerlendirme yapılarak hastalık evresi konusunda fikir sahibi olunmaya çalışılır. Patolojik evreleme yönteminde ise yapılan operasyon sonrasında tümörün makroskopik ve gerekirse mikroskopik ölçümleri, disseke edilen lenf nodlarından kaç tanesinde hastalık gözlemlendiği dikkate alınarak hastalık evresi belirlenir. Bu prensiplere göre, birçok tümör için kullanılan, primer tümör boyutunun T, bölgesel lenf nodlarının N, uzak metastazların M simgeleriyle temsil edildiği TNM sınıflaması geliştirilmiştir. Bu sistem American Joint Committee

on Cancer (AJCC) tarafından benimsenmiş ve 2010 yılında gözden geçirilerek dünyada en yaygın kullanılan evreleme sistemi haline gelmiştir (Tablo 3-4) (45).

**Tablo 3.** Kanser evrelemesinde American Joint Committee (AJC) (45)

### PRİMER TÜMÖR (T)

**Tx:** Primer tümör saptanamamaktadır

**T0:** Primer tümör kanıtı yok

**Tis:** İn situ Karsinom (DCIS, LCIS, Meme başının Paget hastalığı)

**T1:** Tümörün en büyük çapı  $\leq 20$  mm

**T1mi:** Tümör  $\leq 1$  mm

**T1a:** Tümör  $> 1$  mm fakat  $\leq 5$  mm

**T1b:** Tümör  $> 5$  mm fakat  $\leq 10$  mm

**T1c:** Tümör  $> 10$  mm fakat  $\leq 20$  mm

**T2:** Tümör  $> 20$  mm fakat  $\leq 50$  mm

**T3:** Tümör  $> 50$  mm

**T4:** Herhangi bir boyutta ancak (a) göğüs duvarına veya (b) cilde direkt yayılım (ülserasyon ya da cilt nodülü) fakat belirtildiği gibi (Not: Göğüs duvarına; kostalar, interkostal kaslar ve serratus anterior kası dahildir fakat pektoral kas hariç tutulmuştur).

[Not: Sadece cilt invazyonu T4 olarak nitelenmez]

**T4a:** Göğüs duvarına yayılım fakat sadece pektoral kas invazyonu olanlar dahil değil

**T4b:** Cildin ülserasyon ve/veya aynı meme cildinde satellit nodül ve/veya ödemi (fakat inflamatuvar karsinom özelliklerini karşılamayanlar)

**T4c:** T4a ve T4b

**T4d:** İnflamatuvar karsinom (İnflamatuvar karsinom, genellikle ele gelen bir kitle olmadan, meme cildinin erizipeloid sınırlı endüriasyonu ile karakterize klinikopatolojik bir durumdur. Radyolojik olarak, bir kitle bulunabilir ve meme üzerindeki deride karakteristik kalınlaşma görülebilir. Bu klinik durum, yüzeysel kapillerlerin obstrüksiyonu ve dermal lenfatiklerin tümör embolizasyonu nedeniyle ortaya çıkmaktadır)

## BÖLGESEL LENF NODLARI (N)

**Nx:** Bölgesel lenf nodları değerlendirilemedi (örneğin daha önce çıkarılmış olabilir)

**N0:** Bölgesel lenf nodu metastazı yok

**N1:** İpsilateral level I, II aksiller lenf nodlarında metastaz (hareket ettirilebilir)

**N2:** İpsilateral level I, II aksiller lenf nodu metastazı (fikse) ya da klinik olarak lenf nodu metastazının yokluğunda klinik olarak saptanmış ipsilateral internal mammarian lenf nodları

**N2a:** *Birbirlerine ya da çevre dokulara yapışık ya da donuk ipsilateral level I, II aksiller lenf nodları*

**N2b:** *İpsilateral level I, II aksiller lenf nodlarında metastazın klinik kanıtlarının yokluğunda internal mammarian lenf nodlarında klinik olarak saptanmış lenf nodu metastazları*

**N3:** İpsilateral level I, II aksiller lenf nodlarında metastazın klinik kanıtlarının varlığında ya da yokluğunda ipsilateral infraklaviküler (level III aksiller) lenf nodlarında ; Ya da level I, II aksiller lenf nodlarında metastazın klinik kanıtlarının varlığında klinik olarak saptanmış internal mammarian lenf nodu metastazı; Ya da internal mammarian ya da aksiller lenf nodu tutulumu olsun ya da olmasın ipsilateral supraklaviküler lenf nodu metastazı

**N3a:** *İpsilateral infraklaviküler lenf nodlarında metastaz*

**N3b:** *İpsilateral internal mammarian ve aksiller lenf nodlarında metastaz*

**N3c:** *İpsilateral supraklaviküler lenf nodlarında metastaz*

### Patolojik (pN)b

**pNx:** Bölgesel lenf nodu değerlendirilemedi (örneğin; daha önce çıkarılmış ya da patolojik çalışma için çıkarılmamış)

**pN0:** Histolojik olarak saptanabilmiş bölgesel lenf nodu metastazı yok

### pN1

**pN1mi:** *Mikrometastazlar (hepsi 0.2mm"den büyük fakat hiçbiri en büyük boyutunda ve 2 mm' den büyük değil).*

**pN1a:** *Asgari bir metastazın >2.0 mm olduğu 1-3 aksiller lenf nodu metastazı*

**pN1b:** *İnternal mammarian lenf nodlarında klinik olarak saptanmayan fakat SLNB ile makro yada mikro metastazların varlığı*

**pN1c:** *Aksiller lenf nodlarında 1-3 metastaz ve klinik olarak saptanamayan SLNB ile saptanan mikro ya da makro metastazlı internal mammarian lenf nodları*

**pN2:** 4-9 aksiller lenf nodunda metastaz; Ya da aksiller lenf nodu metastazının yokluğunda klinik olarak saptanmış internal mammarian lenf nodları

**pN2a:** *4-9 aksiller lenf nodunda metastaz (>2.0 mm olan en az bir tümör depoziti)*

**pN2b:** *Aksiller lenf nodu metastazının yokluğunda klinik olarak saptanmış internal mammarian lenf nodu*

**pN3:** 10 ya da daha fazla aksiller lenf nodunda metastaz; ya da infraklaviküler (level III aksiller) lenf nodlarında; ya da bir ya da daha fazla pozitif level I, II aksiller lenf nodunun varlığında ipsilateral internal mammarian lenf nodlarında klinik olarak; ya da üçten fazla aksiller lenf nodu ve klinik olarak saptanmamış fakat SLNB ile saptanmış makro ya da mikro metastazlı internal mammarian lenf nodlarında metastaz

**pN3a:** *10 ya da daha fazla lenf nodunda metastaz ( en az bir lenf nodunda > 2.0 mm tümör depoziti) ya da infraklaviküler lenf nodlarına ( level 3 aksiller)*

**pN3b:** *Bir ya da daha fazla pozitif aksiller lenf nodunun varlığında klinik olarak saptanmış ipsilateral internal mammarian lenf nodu; ya da 3 ten fazla aksiller lenf nodu ve klinik olarak saptanmamış fakat SLNB ile makro ya da mikro metastaz saptanmış internal mammarian lenf nodları*

**pN3c:** *İpsilateral supraklaviküler lenf nodlarında metastaz*

## UZAK METASTAZLAR (M)

**M0:** Uzak metastazın klinik ve radyolojik kanıtları yok

**cM0(i+):** Uzak metastazın klinik ve radyolojik kanıtları yok fakat kemik iliğinde, dolaşan kanda ya da diğer bölgesel olmayan nodal dokularda metastaz işaret ve semptomu olmaksızın bir hastada 0.2 mm den daha büyük olmayan moleküler ya da mikroskopik olarak saptanan depozitlerin varlığı

**M1:** Klinik ya da radyografik olarak saptanmış ya da histolojik olarak kanıtlanmış > 0.2 mm

**Tablo 4.** Anatomik evre ve prognostik gruplar

EVRE	TNM		
0	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0
IIA	T0,1	N1	M0
	T2	N0	M0
IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
IIIA	T0,1,2	N2	M0
	T3	N1,2	M0
IIIB	T4	Herhangi N	M0
IIIC	Herhangi T	N3	M0
IV	Herhangi T	Herhangi N	M1

### 2.6. Meme Kanserinde Prognostik Ve Prediktif Faktörler

Meme kanserinde tedavisi ve klinik takibi prognostik ve prediktif faktörlere bağlıdır. Prognostik faktörler, tedaviden bağımsız olarak hastalık nüksü veya mortalite gibi hastalığın klinik seyrini belirleyen faktörlerdir. Prediktif faktörler ise tedaviye yanıtı tahmin ettiren ve tedavi seçiminde yol gösterici olan faktörlerdir.

#### 2.6.1. Lenf Nodu Tutulumu

Meme kanserinde aksiller lenf nodu tutulumu en iyi tanımlanmış, metastaz gelişimi ve sağkalım için en güvenilir prognostik faktördür. Tutulan lenf nodu sayısı arttıkça sağkalım azalır. 0.2 cm'den büyük olan tüm lenf nodu metastazları prognostik önem taşır. Nod pozitif hastaların hemen hepsi adjuvan tedavi adaydır. Oysa nod negatif hastalarda adjuvan tedavi gerekip gerekmediği başka faktörlere bağlıdır (46, 47, 28).

### 2.6.2. Tümör Boyutu

Tümör boyutu ikinci önemli prognostik faktördür. Tümör çapı arttıkça TNM evrelemedeki T de artar. Tümör çapı aksiller nod tutulumunu da etkiler. Çap büyüdükçe aksiller tutulumun yanında tutulan lenf nodu sayısında da artış söz konusudur. Dörtten az lenf nodu tutulumu olan hastada tümör boyutu ve hastalık rekürrens riski arasında doğrusal bir ilişki vardır (46, 47). Tümör çapı tedavi algoritmasını ve yapılacak cerrahi tedavinin kozmetik sonuçlarını da etkilemektedir.

**Tablo 5.** Meme kanserinde tümör boyutu, lenf nodu tutulumu ve sağkalım ilişkisi

<b>MEME KANSERİNE BAĞLI 5 YILLIK ÖLÜM RİSKİ (%)</b>			
<b>Tümör boyutu (cm)</b>	<b>0 nod pozitif</b>	<b>1-3 nod pozitif</b>	<b>&gt;3 nod pozitif</b>
< 0.5	0.8	4.7	41.0
0.5-0.9	1.7	6.0	45.8
1.0-1.9	4.2	13.4	32.6
2.0-2.9	7.7	16.6	36.6
3.0-3.9	13.8	21.0	43.1
4.0-4.9	15.4	30.2	47.4
>5.0	17.8	27.0	54.5

### 2.6.3. Uzak Metastaz

Uzak metastazı olan hastalarda sağkalım metastazın olduğu bölge, metastazın progresyon hızı, tedaviye yanıtına göre 2-4 yıla kadar değişiklik gösterebilir. Ancak oligometastatik, izole organ metastazı olup, cerrahiye uygun hastalarda daha uzun sağkalım sağlanabilir (48). Daha önce de belirtildiği gibi, lenf nodu tutulumu, tümör boyutu ve uzak metastaz TNM evreleme sisteminin temelini oluşturur.

**Tablo 6.** Evrelere göre sağkalım

<b>EVRE</b>	<b>5 YILLIK BAĞIL SAĞKALIM ORANLARI (%)</b>
0	100
I	100
IIA	92
IIB	81
IIIA	67
IIIB	54
IV	20

#### **2.6.4. Tümör Gradı**

İnvazif meme kanserleri tübül / gland yapısı, nükleer pleomorfizm, mitoz sayısı (proliferasyon hızı), ki-67, timidin labeling indeks, flow sitometri ile S faz fraksiyonunun hesaplanması gibi indekslerle gradlanırlar ve tüm bu indekslerin prognostik önemi vardır. Grad arttıkça diferansiasyon azalır. Grad 3 tümörlerde rekürrens arttığı gösterilmiştir (49).

#### **2.6.5. Yaş**

Yaş bağımsız risk faktörüdür. Genç meme kanserli kadınlarda prognoz daha kötüdür. 35 yaş ve altında meme kanseri olan kadınlar daha yaşlı kadınlara göre daha yüksek grad, daha düşük hormon reseptör ekspresyonu ve daha fazla lenfovasküler invazyonlu olmaya eğilimlidirler. Bunlarda rekürrens riskinin 1.8 kat arttığı gösterilmiştir (28, 50).

#### **2.6.6. Hormon Reseptör Durumu**

Östrojen reseptörü ve PR'nin ekspresyonu en önemli prediktif ve prognostik faktörlerdendirler. Meme kanserlerinin yaklaşık % 70'i ER eksprese eder. Östrojen reseptörü pozitif meme kanserleri ER negatif meme kanserlerine göre daha yavaş büyüme eğiliminde, iyi diferansiye olmuş tümörlerdir. Anti-östrojen tedavi rekürrensi önlemede ve metastatik vakalarda sağkalımı uzatmakta etkindir. Östrojen reseptörü pozitif tümörlerde PR de değişken oranlarda eksprese edilir. ER pozitif / PR negatif tümörlerin 50 yaş üstü kadınlarda daha fazla, daha fazla anöploidi gösteren, nodal tutulumun ER/PR pozitif tümörlere göre daha sık olduğu, ER/PR pozitif tümörlerin anti-östrojen tedaviye yanıtının ER pozitif / PR negatif tümörlere göre daha olumlu sonuçlar verdiği gösterilmiştir (28, 51).

#### **2.6.7. HER-2 Aşırı Ekspresyonu**

Her-2 aşırı ekspresyonu meme kanserlerinin % 20'sinde bulunur. Özellikle nod pozitif hastalarda nüks ve kötü sağkalımla ilişkili olduğu gösterilmiştir (52). Her-2 aşırı ekspresyonu trastuzumab'a (53) ve antrasiklin bazlı kemoterapilere yanıtın iyi olduğunu, yüksek doz kemoterapi gerektiğini ve tamoksifen tedavisine direncin

öngörülmesinde yardım eder. Her-2 aşırı eksprese etmeyen tümörlerde yüksek doz ve düşük doz tedavi arasında anlamlı farklılık olmadığı gösterilmiştir (54).

#### **2.6.8. Tümör Proliferasyon İndeksi**

Yüksek proliferasyon indeksi; yüksek grad, genç yaş, hormon reseptör negatifliği ve Her-2 pozitifliği ile korelasyon göstermektedir. S fazındaki artmış tümör sayısı ile kötü prognoz ilişkisi gösterilmiştir (55). Bunun yanında ki-67 ve MIB-1 de diğer önemli prognostik proliferasyon belirteçleridir. Bunlar özellikle erken evre tümörlerin prognoz tahmininde kullanılırlar (28).

#### **2.6.9. Lenfovasküler İnvazyon**

Lenfatik damar invazyonu, lenf nodu metastazı ile ilişkilidir. Lenfovasküler invazyon, hem lenf nodu tutulumu pozitif hem de lenf nodu tutulumu negatif meme kanserli hastalar için bağımsız bir prognostik faktördür (56).

#### **2.6.10. Histoloji**

Tübüler ve müsinöz karsinom gibi bazı histolojik alt tipler iyi prognozla ilişkilidir.

#### **2.6.11. Neoadjuvan Kemoterapi ve Hormonoterapiye Cevap**

Kanser tedavisinin in-vivo etkisi hakkında doğrudan bilgi sağlar (28).

#### **2.6.12. Diğer Faktörler**

P53 gen mutasyonu, plazminojen aktivatör sistemde yer alan ürokinaz plazminojen aktivatör (u-PA) ve onun inhibitörü (PAI-1), tümör anjiogenezisini gösteren kapiller damar sayısı ve kemik iliğinde immün histokimya teknikleri kullanılarak gizli mikrometastazların saptanması gösterilmiş diğer prognostik faktörlerdir (28).

#### **2.6.13. Genetik Prognostik İşaretler**

Van't Veer ve arkadaşları (43) ve van de Vijver ve arkadaşları (57) aynı zaman diliminde meme kanseri metastazı ihtimalinin artmış olduğu bir alt gurubu tanımlamak

için ilk kez bir gen ekspresyon analizi uyguladılar. Kötü prognoz işaretleri taşıyan grupta iyi prognoz özellikleri taşıyan grupla karşılaştırıldığında uzak metastaz için tahmin edilen hazard ratio 5.1 bulunmuştur (% 95güven aralığı, 2.9 to 9.0;  $P < 0.001$ ). The European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC) ve Breast International Group (BIG) güncel olarak sistemik kemoterapiden hastaları korumak için bu testin yararını değerlendirmenin ölçüldüğü bir prospektif klinik çalışma yürütmektedirler (58). Ön analizde 70 gen pofil analizi St. Gallen konsensus panelinde kullanılan klasik prognostik kriterlerin gösterdiğinden daha güçlü prognostik bulunmuş (59), bununla birlikte genel sağkalımda (OS) 2.5 (1.4-4.5) ve uzak metastaza kadar geçen zamanda 1.85 (1.14-3.0) olan hazard ratiolarla daha önce raporlananlardan çok daha düşük bulunmuştur. 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 ayırteden Genomik Grade İndeks (GGI) gibi prognostik gen ekspresyon işaretleri geliştirmişlerdir (60). Bu testlerin potansiyel değeri net bir biçimde yeni tanımlanmıştır. Klasik histolojik ya da klinik parametrelerle prognozu anlayamayan grupları ayırtetmede ve tedaviyi yönlendirmede bu gen ekspresyon profillemenin önemli rolleri vardır.

#### **2.6.14. Prediktif Genetik İşaretler**

##### **2.6.14.1. Endokrin Tedavi**

Bazı çalışma grupları tedaviden yarar görme ihtimalini daha iyi tanımlayabilmek için gen ekspresyon profillemeye analizlerini uyguladılar. Böylesi prediktif işaretler tedavinin seçimi konusunda onkologlara yardım açısından özel bir öneme sahiptirler. Formalinle fikse edilmiş, paraffine gömülmüş tümör dokusunda real time revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak anti östrojen tedaviden fayda görülüp görülmeyeceğinin bir prediktörü olarak Oncotype DX ölçüm yöntemi geliştirilmiştir. Ölçüm genomik veri tabanları, yayınlanmış literatürler ve dondurulmuş doku üzerinde yapılan deneylerden elde edilen 250 aday gen arasından seçilerek geliştirilmiştir. Bu verilere göre, nüks skorun hesaplamak için 5 referans gen ve 16 kanserle ilişkili genlerin bir panelinin kullanılmasıyla tanıdan sonra 10 yıl içinde nüks oranını tahmin etmek için kullanılan bir algoritma geliştirilmiştir. Östrojen reseptörü



(+), nod negatif tümörü olan hastaların tamoksifen alanlar ve almayanlar olarak randomize edildiği National Surgery Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP) B 14 çalışması ve yine ER (+) nod negatif tümürlü hastaların tek başına tamoksifen ya da siklofosfamid + metotreksat + 5 fluorourasil kemoterapisine randomize edildiği NSABP-B20 çalışmasının verileri değerlendirilerek bir analiz yayınlanmıştır (61). NSABP-B20 çalışmasından elde edilen doku örnekleri kullanılarak hastalar düşük (nüks skoru 18 den küçük) orta (nüks skoru 18-30) ve yüksek ( nüks skoru 31-100) risk gruplarına ayrılmıştır. NSABP-B14 den elde edilen örnekler daha sonra analiz edilmiş ve risk grubu dağılımları sırasıyla % 6.8 (4.0-9.6), % 14 (8.3-20.3) ve % 30.5 (23.6-37.4) bulunmuştur. Daha sonra Oncotype DX ölçümü kullanılarak NSABP-B14 ve NSABP-B20 çalışmalarının diğer kollarındaki hastalara yapılan analizde NSABP-B20 çalışmasında Oncotype DX'in CMF'den görülecek olan faydanın güçlü bir prediktörü olduğu, yüksek nüks skorlu olanların önemli bir yarar gördüğü fakat orta ya da düşük skorlu olanların kemoterapiden az ya da hiç fayda görmediği saptanmıştır. NSABP-B14 çalışmasında ise gözlem grubuna göre tamoksifen kullanımının yararı, düşük ya da orta risk kategorileri ile sınırlıydı (P=0.001). Bu veriler iyi klinik özelliklere (ER pozitif, nod negatif) sahip olan hastalarda Oncotype DX'in yüksek nüks skorlu, kemoterapiden fayda görme ihtimali yüksek fakat tamoksifenden fayda görme ihtimali düşük olan grupla düşük nüks skorlu, sadece tamoksifenden fayda görecektir grubun saptanmasına yardım ettiğini göstermektedir. Orta risk skorlu hastaların % 25'inde kemoterapinin faydası hala belirsizdir ve bununla ilgili endokrin tedavi ve kemoterapi alacak olan yüksek nüks skorlu, sadece endokrin tedavisi alacak olan düşük nüks skorlu ve endokrin tedaviyle endokrin + kemoterapi olmak üzere iki kola randomize edilen orta risk skorlu hastaların değerlendirildiği devam eden bir çalışma (Tailor Rx) vardır. Bir başka çalışmada ise düşük nüks skorunun; Southwest Oncology Group SWOG-8814 çalışmasındaki nod pozitif meme kanserli hastalarda fluorourasil (5-FU), Adriamisin (doxorubicin) ve cyclophosphamide (FAC) kombinasyon kemoterapisinden faydanın az olacağını öngörebildiği gösterilmiştir (62). Bu verilere rağmen nod pozitif hastalarda Oncotype DX in kullanımının taksan kullanımı açısından tahmin ettirici bir değeri yoktur. Bu nedenle günümüzde sık kullanılan modern kemoterapi rejimlerine göre güncellenmesine ve uyarlanmasına ihtiyaç vardır. Oncotype DX'in aromataz inhibitörü ile tedavi edilen hastalarda hormonal tedaviden görülebilecek faydayı tahmin ettirmedeki değerini ortaya

koyan veriler yeni yayımlanmıştır. Buna göre test tamoksifen ve anastrazolün her ikisinde eşit derecede etkilidir fakat birinin diğerinden üstün olup olmayacağını ayırtedememektedir (63). Görüldüğü gibi meme kanserinde en uygun tedavinin tahmini için birçok çalışmalar ve bu çalışmalar üzerine birçok güncel tartışmalar devam etmektedir. Burada hedef hastayı en iyi tedaviyle buluşturmak ve gereksiz tedavinin komplikasyon ve maliyetinden korumaktır. Fakat bulguların ve muhtemel sonuçlarının mutlaka hasta ile tartışılması gerektiği unutulmamalıdır.

**Tablo 7.** Oncotype DX Gen Nüks Skor Ölçümü

PROLİFERASYON	ÖSTROJEN	İNVAZYON	HER-2	DİĞER	REFERANS
Ki-67	ER	Stremolizin 3	GRB 7	GSTM 1	Beta aktin
STK-15	PR	Katepsin L2	Her-2	BAG-1	GAPDH
Survivin	BCL-2			CD-68	RPLPO
Siklin B1	SCUBE-2				GUS
MYBL2					TFRC

NÜKS SKORU
+0.47 x Her-2 grup skoru
-0.35 x ER-2 grup skoru
+1.04 x Proliferasyon grup skoru
+0.10 x İnvazyon grup skoru
+0.05 x CD-68
-0.08 x GSTM1
-0.07 x BAG-1

KATEGORİ	NÜKS SKORU
Düşük risk	< 18
Orta risk	18-31
Yüksek risk	> 31

Östrojen reseptörü (+) meme kanserli hastalar için başka bir prediktör meme kanseri 2-gen ekspresyon oranı (AvariaDx) dir. Real time PCR (RT-PCR)'la yapılan HOXB6 ve IL17BR genlerinin oranının nicel ölçümüne dayanır ve tedavi edilmemiş ER(+), nod negatif hastalarda rekürrens riskinin bir belirteçidir (64, 65). Meme kanseri gen ekspresyon oranı ER(+), nod negatif tamoksifenle tedavi edilmiş meme kanserli hastalarda yapılan iki çalışmada kötü hastalısız sağkalım ile belirgin ve bağımsız olarak ilişkili bulunmuştur. Bu iki çalışmaya göre iki gen ekspresyon oranı düşük riskli olan hastalarda ortalama 10 yıllık nüks ihtimalinin % 17 ve % 25 olduğu bulunmuştur. Ancak bununla ilgili daha fazla kanıtı ihtiyacı vardır.



kemoterapi ve radyoterapiye cevap gibi klinik sonuçlarla ilişkili olabilecekleri düşünülmektedir. miR-210 gibi hipoksi ile ilişkili bazı miRNA'ların meme kanserinde kötü klinik sonuçların bir göstergesi olabileceği gösterilmiştir (69). Bazı in vitro çalışmalarda, belirli miRNA'ların doksorubisin (70) veya tamoksifen (71) direnci ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir. Bu bulgular meme kanserli hastalarda kemoterapi ilaçların seçiminde faydalı olabileceğini düşündürmektedir. Hastaların tümör dokularındaki belirli miRNA paternleri ile tümör alt tipleri arasında kötü klinik gidişle ilişkili bir etkilenim vardır. Meme kanserinde miRNA'ların rolünün anlaşılması onların hedefe yönelik tedavi için ümit edilen potansiyel rolünün yanında prognostik ve prediktif bir biyobelirteç olarak kullanılmasının da yolunu açabilir. Bu nedenle miRNA'lar meme kanserinde ilginç bir araştırma alanı olmaya devam etmektedir. MiRNA'ların meme kanserindeki öneminin daha iyi anlaşılması için ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 2.7. Tedavi

Meme kanserinin tedavisi lokal hastalıkta cerrahi, radyoterapi, kemoterapi ya da her üçü ile birlikte yapılır. Sistemik hastalık ise sitotoksik kemoterapi, endokrin tedavi, biyolojik ajanlar ya da bunların kombinasyonları ile yapılır (15). Bu çeşitli lokal ya da sistemik tedavi seçeneklerinin lüzumu ya da seçimi bir çok prognostik ve prediktif faktöre dayanır. Bu faktörler; tümör histolojisi, primer tümörün klinik ve patolojik özellikleri, aksiller lenf nodu durumu, hormon reseptör durumu, çoklu gen testleri, saptanabilir metastatik hastalığın varlığı ya da yokluğu, eşlik eden hastalıklar, yaş ve menopoz durumudur. Meme kanseri erkeklerde de olmaktadır. Bu durumdaki bir erkek hasta postmenopozal bir kadın hastaya benzer şekilde tedavi edilmelidir. Fakat erkeklerde testiküler steroid yapımının eş zamanlı baskılanması olmaksızın aromataz inhibitörlerinin etkisiz olacağını bilmesi gerekir. Bu nedenle erkeklerde seçilecek ajan tamoksifendir. Hasta tercihi de özellikle de sağkalım oranları eşit olan tedavi seçenekleri arasında seçim yaparken önemlidir.

Meme kanserinde cerrahi girişim küratif veya palyatif amaçlarla yapılır. Küratif cerrahide modifiye radikal mastektomi, meme koruyucu cerrahi ve aksiller disseksiyon operasyonları uygulanır. Metastatik vakalarda semptomatik amaçlı palyatif cerrahi girişimler de uygulanabilir.

Tedavi açısından meme kanseri 4 gruba ayrılır:

1. DCIS ve LCIS'ı içeren non invazif karsinomlar (evre 0)
2. Opere edilebilir bölgesel invazif karsinom (evre 1, 2 ve bazı 3A tümörler)
3. İnoperabil bölgesel invazif karsinomlar (evre 3B, 3C ve bazı 3A tümörler)
4. Metastatik ya da nüks karsinomlar (72)

### **2.7.1. DCIS ve LCIS'ı İçeren Non İnvazif Karsinomlarda (evre 0) Tedavi**

Lobüler karsinoma in-situ tanısı bir kor biyopsi ile konulmuşsa LCIS için değil fakat eşlik edebilecek bir DCIS ya da invazif kanseri dışlamak amacıyla cerrahi eksizyon uygulanmalıdır. LCIS, artmış meme kanseri riski için bir belirteç gibi kabul edilir. Bu nedenle sıkı takip ve meme kanseri riskini azaltmak için tamoksifen, raloksifen ve exemestan kullanımı da dahil olmak üzere bir dizi yöntem hasta tercihleride göz önünde bulundurularak uygulanabilir.

DCIS'lı hastalarda ise tümör çok büyük yada multisentrik ise total ya da basit mastektomi, eğer tümör çok büyük değil ve yapılacak eksizyonla iyi kozmetik sonuç elde edilebilecekse meme koruyucu cerrahi ve takiben radyoterapi önerilen tedavidir (15, 28). Sonrasında 5 yıl tamoksifen kullanımıyla aynı memede invazif kanser nüksünü % 47 ve karşı memede invazif ve non invazif nüksü % 47 azaltmak mümkündür (73).

### **2.7.2. İnvazif Karsinomlarda Tedavi**

#### **2.7.2.1. Adjuvan Tedavi**

İnvazif karsinomlarda evre 1, 2, 3A, 3B ve 3C (N3c hariç) de premenopozal ve hormon reseptör pozitif olup meme koruyucu cerrahi yapılacaklarda cerrahi öncesi ve / veya sonrası kemoterapi, radyoterapi ve sonrasında 5 yıl adjuvan tamoksifen kullanımı önerilir. Mastektomi yapılacaksa hastalık evresine göre cerrahi sonrası kemoterapi ve radyoterapi ardından 5 yıl tamoksifen önerilir. Premenopozal ve hormon reseptör negatif hastalarda mastektomi ardından evreye göre kemoterapi ve radyoterapi, eğer meme koruyucu cerrahi yapılacaksa cerrahi öncesinde ve/veya sonrasında radyoterapi önerilir. Postmenopozal hastalarda ise aynı yaklaşımlar kullanılır fakat hormon reseptör pozitif hastalarda adjuvan hormonoterapide kullanılacak ilaçlar ve takvimler farklılık gösterir. Tamoksifen 2-3 yıl sonrası 2-3 yıl aromataz inhibitörü, 5 yıl tamoksifen sonrası 5 yıl aromataz inhibitörü ya da sadece 5 yıl aromataz inhibitörü aralarında tedavi

etkinliği açısından çok büyük farklar olmadığından hekim ya da hasta tercihine göre kullanılabilir (28, 72).

Kemoterapi protokolleri hastalık evresine göre planlanıp uygulanır. Erken evre meme kanserlerinde adjuvan olarak genellikle çok ajanlı kemoterapi protokolleri uygulanır. Kombine kemoterapilere örnek olarak AC (Adriamisin, siklofosfamid), CAF (Siklofosfamid, adriamisin, 5-fluorourasil), CEF (Siklofosfamid, epirubisin, 5-fluorourasil), CMF (Siklofosfamid, metotreksat, 5-fluorourasil) birbirlerine yakın etkili protokoller olarak kullanılabilir. Taksanla kombine TAC (Dosetaksel, adriamisin, siklofosfamid) da verilebilir. Ayrıca adjuvan tedavide 2. sıra olarak dosetaksel ve paklitaksel gibi ajanlar da eklenebilir. Her-2 durumuna göre tedaviye trastuzumab eklenir. Adjuvan hormonoterapi olarak premenopozal hastalarda tamoksifen  $\pm$  LH-RH analogları, postmenopozal hastalarda ise tamoksifen, aromataz inhibitörleri ya da fluevstrant kullanılabilir (28, 72).

#### **2.7.2.2. Metastatik Hastalıkta Tedavi**

Evre 4 hastalarda tedavi palyatifdir. Metastatik hastalarda tedavi Őekli hastanın yaşı, menopoz durumu, performans durumu, hastalığının ne kadar hastalıksız süre sonrasında nüks ettiği, tümörünün hormon reseptörleri, Her-2 eksprese edip etmediği, metastaz bölgesi ve metastazlarının hayatı tehdit edici nitelikte olup olmaması gibi pek çok faktör göz önünde bulundurularak belirlenir. Yumuşak doku ve kemik metastazlı hastaların sağ kalımı iç organ metastazlı olan hastalara göre daha iyidir. Hayatı tehdit eden visceral metastazlı olmayan veya yumuşak doku / kemik metastazları olan hastalarda genelde ilk seçenek tedavi eğer hormon reseptörleri pozitif ise endokrin tedavidir. İlk seçim tedavi olarak kemoterapi hem hormon reseptörleri pozitif olan hastalarda eğer hastalık hormonal tedaviye duyarlı değilse veya direnç geliŐmiŐse hem de hormon reseptörlerinden bağımsız olarak tümör kitlesi büyük ve semptomatik olan hastalara ya da hızlı ilerleyen hastalığı olanlara önerilir. Kemoterapi olarak yukarıda adjuvan tedavide sayılan ilaçların yanında tek ajan ya da kombine olarak kapesitabin, vinorelbin, sisplatin, karboplatin, gemsitabin gibi protokoller verilebilir. Bunlara trastuzumab eklenebilir. Kapesitabinle kombine olarak lapatinib verilebilir. Yine yanlarında sitotoksik bir ajan olmaksızın trastuzumab + lapatinib birlikte kullanılabilir. Metastatik hastalıkta hormonoterapi olarak yine tamoksifen, toremifen, anastrozol, letrozol,

eksemestan, fulvestrant, megestrol, fluoksimesteron, etinil östradiol ve aminoglutetimid gibi ajanlar ve leuprolid asetat, goserelin gibi LH-RH analogları kullanılabilir. Kemik metastazlarında bifosfanatlar, denosumab, radyoizotoplar ve radyoterapi kullanılabilir. Beyin metastazlarında cerrahi ve / veya radyoterapi uygulanabilir. Yine diğer organların oligometastatik tutulumlarında cerrahi tedavi düşünülebilir (28, 72). Bu noktada tedavi bireyselleştirilebilir.

## 2.8. Meme Kanserinde Genetik Ve Epigenetik

Meme kanseri nokta mutasyonları, kromozomal amplifikasyonlar, delesyon, yeniden sıralanma, translokasyon ve duplikasyonlar gibi genetik aberasyonların ve epigenetik değişikliklerin ilerleyici birikimine yol açan kalıtsal ve çevresel faktörlerin birbirlerini etkilemesinin neden olduğu ileri derecede heterojen bir hastalıktır (74, 75). Meme kanseri gelişiminin moleküler mekanizması tam olarak anlaşılammıştır. Sürecin başlaması protoonkogenlerin aktivasyonu ve tümör süpresör genlerin inaktivasyonu ile sonuçlanan genetik değişiklikler başta olmak üzere genetik hasarlarla olmaktadır. Onkogenlerin mutasyonal aktivasyonu ve tümör süpressör genlerin inaktivasyonu bu çok basamaklı gelişimin erken aşamalarında meydana gelen olaylardır. Bunları daha sonra kontrolsüz hücre bölünmesi ve/veya programlanmış hücre ölümünün (apoptozis) bozulması takip eder. Bu süreç birçok hormon ve büyüme faktörünün etkisi altında gerçekleşir. Büyüme faktörlerinin bir kısmı meme hücrelerinin kendileri tarafından salınan otokrin etkili faktörlerdir. Östradiol, meme hücresi büyümesine etki eden peptit ve proteinlerle etkileşim içinde olan çok sayıda gen ekspresyonunu düzenler. Bu faktörlerin spesifik reseptörlerine bağlanması etkilerinin ortaya çıkmasını tetikler. Sitokinler, büyüme faktörleri ve hormonların hücre membranındaki ve içindeki reseptörlerine bağlanması ile ortaya çıkan etkileşim değişik gen gruplarını baskılayan ya da aktiveştiren hücre içi iletişim sisteminin tetikler. Meme kanserlerinin büyük çoğunluğu sporadik gibi görünmektedir. Germline mutasyonlar tüm meme kanserlerinin ancak % 10'nunu açıklar ve somatik genetik değişikliklere katkıda bulunurlar (76).

Ailesel meme kanseri tüm meme kanserlerinin yaklaşık 1/5'ini oluşturur. BRCA1 ve BRCA2 kalıtsal meme kanserlerinin yaklaşık yarısını açıklayan ailesel meme ve yumurtalık kanser sendromları ile ilişkili başlıca iki gendir. Musevilerde daha sıklıkla görülen ailesel meme kanserlerinin çoğunu da açıklarlar. *CHEK2*, *TP53*, *PTEN*

ve *STK11* gibi meme kanseri ile ilişkili diğer daha az sıklıkta görülen şüpheli genlerde saptanmıştır (3, 77, 78). Ailesel meme kanserlerinin % 5'inden azını açıklayan birkaç şüpheli düşük penetranslı gen ve lokus geniş genom ilişki çalışmalarıyla (genome-wide association study = GWAS) keşfedilmiştir. Günümüzde ailesel meme kanserlerinin yaklaşık yarısı hala açıklanamamıştır ve bu henüz bilinmeyen genler ve poligenik duyarlılıkla ilişkilendirilebilir (16, 28). Bu bilinmeyen alanı açıklamak, yeni aday genler belirlemek ve önceden keşfedilen genlerinde işlevlerine ilişkin yeni bilgileri eklemek için daha çok sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır.

### **2.8.1. Ailesel Meme Kanseri**

Aile hikâyesi meme kanseri için en önemli risk faktörlerinden birisidir. Ailesel formlar tüm meme kanserlerinin % 20'sini oluşturduğu fakat ailesel meme kanserlerinden sorumlu olan genlerin çoğunun henüz tanımlanmamış olduğu bilinmektedir (77) (Tablo 8).

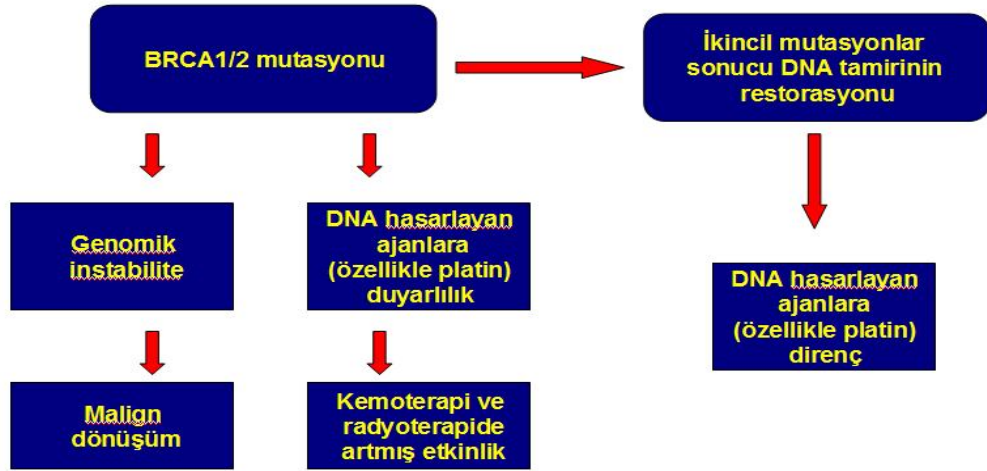


**Tablo 8.** Meme kanserinden sorumlu tutulan sık rastlanan önemli genler (28)

GEN BÖLGE	İLİŞKİLİ SENDROMLAR VE KLİNİK ÖZELLİKLER	MEME KANSERİ RİSKİ	MUTASYON / MİNÖR ALLEL
BRCA1 (17q21)	<b>Ailesel meme/over kanseri:</b> bilateral/multifokal meme kanseri, prostat, kolon, karaciğer, kemik kanserleri	% 60-85 (yaşam boyu); % 15-40 over kanseri riski	1/400
BRCA2 (13q12.3)	<b>Ailesel meme/over kanseri:</b> erkek meme kanseri, pankreas, safra kesesi, farinks, mide, melanom, prostat kanser. D1 Fankoni anemisi (biallelik mutasyonlar)	% 60-85 (yaşam boyu); % 15-40 over kanseri riski	1/400
TP53 (17p13.1)	<b>Li-Fraumeni sendromu:</b> Meme kanseri, yumuşak doku sarkomları, merkezi sinir sistemi tümörleri, adrenokortikal kanser, lösemi, prostat kanser	% 50-89 (50 yaşına kadar)	<1/10,000
PTEN (10q23.3)	<b>Cowden sendromu:</b> Meme kanseri, hamartom, tiroid, oral mukozaya, endometrium, beyin tümörleri	% 25-50 (yaşam boyu)	<1/10,000
CDH1 (16q22.1)	<b>Ailesel diffüz mide kanseri:</b> Lobüler meme kanseri, mide kanseri	RR 6.6	<1/10,000
STK11/LKB1 (19p13.3)	<b>Peutz-Jeghers sendromu:</b> Meme, over, testis, pankreas, serviks, uterin, kolon kanseri; gastrointestinal hamartomatöz polipler	% 30-50	<1/10,000
CHEK2(22q12.1)	<b>Li-Fraumeni 2 sendromu:</b> meme, prostat, kolorektal ve beyin tümörleri, sarkomlar	OR 2.6 (1100delC mutasyonu için)	1/100–200 (belirli toplumlarda)
BRIP1 (17q22)	<b>Meme kanseri:</b> Fanconi anemisi (iki allelik mutasyonlar)	RR 2.0	<1/1000
ATM (11q22.3)	<b>Ataxia-telenjiktazi:</b> meme, over, lösemi, lenfoma, mide / pankreas / mesane kanserleri; immun yetersizlik	RR 2.37	1/33–333
PALB2 (16p12)	<b>Meme, pankreas, prostat kanseri:</b> Fanconi anemisi (iki allelik mutasyonlar)	RR 2.3	<1/1000

BRCA1 ve BRCA2 sırasıyla kromozom 17q12-21 ve 13q12-13'te yerleşiktir. Klasik tümör baskılayıcı gen olarak değerlendirilir çünkü genin kalıtsal defektif kopyası kansere ilerleme için yeterlidir fakat tümörögenesis için doğal tip allelin kaybı gerekir. BRCA1 ve BRCA 2 mutasyonları tüm kalıtsal geçişli meme kanserlerinin yarısından sorumludur. Bu mutasyonları taşıyan kadınlar genel topluma göre 10-30 kat artmış bağıl risk taşırlar. Bunların yaşam boyu meme kanserine yakalanma ihtimali yaklaşık % 85'dir (3). BRCA1 ve BRCA2 mutasyon taşıyıcılığı genel toplumda oldukça nadirdir. Bununla birlikte Eşkenazi Yahudileri gibi belirli topluluklarda 1 / 40 gibi yüksek sıklıkta görülebilmektedir. BRCA1'de 700 den fazla, BRCA2'de ise 300'den fazla farklı germline mutasyon tesbit edilmiştir (28). Bu mutasyonlar protein-protein etkileşimi ile birçok büyük çok fonksiyonlu proteinleri şifrelerler. Protein işlevlerini engelleyen mutasyonlar olmakla birlikte patojenik mutasyonlar genellikle bozuk protein ürünlerinin oluşumuna neden olur. BRCA1 ile ilişkili meme tümörleri daha genç kadınlarda görülürler. Yüksek histolojik grade, yüksek proliferasyon hızı ve anöploidi görülür. İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü (Her-2), ER ve PR'leri ise negatiftir (triple negatif). BRCA1 ile ilişkili meme kanserlerinin bu triple negatif fenotipi epidermal büyüme faktörü, P-kadherin, sitokeratin 5/6, 14, 17'nin pozitif olduğu bir bazal-like gen ekspresyon profili ile karakterizedir (79). BRCA1 ve BRCA2 genleri birçok işlevi olan büyük proteinleri kodlamasına rağmen, öncelikle DNA onarımını kolaylaştırarak genomik istikrarı koruyarak klasik tümör baskılayıcı genler olarak hareket ederler (79, 80). Bu genlerde heterozigosenin kaybolması süratle ve özellikle DNA replikasyonu sırasında kusurlu DNA tamirine neden olan yeni ek mutasyonlarla sonuçlanır. Çift iplikli DNA tamirinde BRCA1 ve BRCA2'nin kilit rolü etkilenen bireylerde bir tedavi hedefi olabilir. Örneğin platin içeren ajanlar zincirler arası çapraz bağlara neden olarak DNA replikasyonunu engeller. Bu nedenle bu hastalarda platin içeren ajanlara artmış duyarlılık vardır. Hastalık sürecinin herhangi bir noktasında BRCA1 / 2'de restorasyona yol açan ikincil mutasyonlar gelişebilir. Bu tip mutasyonlar hastalığın platine direnç kazanmasına neden olabilir (Şekil 5). Tek iplikli DNA tamirinde işlev gören ve hücrede DNA tamirinde büyük bir alternatif yol olan PARP1 hücre içi bir enzimdir (81). Poliadenosine difosfat-riboz polimeraz-1 (PARP1) inhibitörlerinin de BRCA ile ilişkili kanserlerde tedavide edici etkisi vardır. PARP inhibe edildiğinde hücrelerdeki gerekli tamir mekanizmaları yavaşlar ve hücre ölür

(28). Nitekim metastatik triple negatif meme kanserli hastalarda yapılan bir faz 2 çalışmada gemsitabine-karbolatin kombinasyonuna bir PARP inhibitörü olan olaparib eklendiğinde yanıt oranı, PFS ve sağkalımı iyileştirdiği gösterilmiştir (82).



**Şekil 5.** BRCA mutasyonlarının ve BRCA restorasyonunun etkileri

TP53, PTEN, STK11/LKB1 ve CDH1 gibi az sayıda yüksek riskli, düşük frekanslı meme kanseri yatkınlık genleri de vardır (3, 77, 78). Tümör süpressör genlerdir ve otozomal dominant kalıtımla geçerler. Bu yüksek penetranslı genleri taşıyanlar taşımayanlarla karşılaştırıldığında meme kanseri riskinde 8-10 kat bir artış sözkonusudur. Ancak bunların toplamı meme kanseri vakalarının % 1'den daha azını açıklar (83).

CHEK2, ATM, BRIP1 ve PALB2 meme kanseri gelişiminde orta derecede risk taşıdıkları saptanmış olan dört genidir. Bu genlerin her biri mutasyonu taşıyanlarda aşağı yukarı 2-3 kat artmış bir rölatif riski getirirler (3).

Meme kanserli kadınların % 15-40'ında çok düşük risk panelli 10 farklı allel ve loküs saptanmıştır (3). Bunların sıklıkları fazla olmasına rağmen her biri tek başına meme kanserinde 1.5 kattan az bağıl risk getirmektedir (77). Örneğin miR-196a-2 ve pre-miR-27a genlerinde görülen özgün single nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) bir çok tümör baskılayıcı genin düzenlenmesinde rol alarak meme kanserine yatkınlığı değiştirebileceği gösterilmiştir (84). Bu alleller ve loküsler diğer yüksek, orta ya da düşük riskli genlerle etkileşerek bir risk artışına yol açabilirler.

### 2.8.2. Meme Kanserinde Somatik Değişiklikler

Veriler göstermektedir ki belirli bir tümörde tesbit edilen somatik DNA mutasyonlarının büyük çoğunluğu onkogeneze katkıda bulunmayan, zararsız görünen, biyolojik olarak nötral olan pasif mutasyonlardır (74, 75). Geriye kalan yönlendirici (driver) mutasyonlar ise hücrede büyüme avantajı sağlayarak kanser gelişiminde etkili olabilmektedir. Bu mutasyonların çoğu hatalı DNA replikasyonunun sonucunda oluşurken geri kalanı da eksojen ve endojen mutajenlere maruziyetle oluşur. Günümüzde yüzlerce aday somatik meme kanseri geni GWAS çalışmaları ile saptanmıştır (85, 86). Meme kanseri gelişiminin seyrini yöneten bu mekanizma bireysel gen mutasyonlarındansa bu çoklu ortak yollar gibi gözükmemektedir (87). Tekrarlayan nokta mutasyonları meme kanserinde diğer solid tümörlerden daha az sıklıkta görülmesine rağmen yapılan çalışmalar genomun belirli bölgelerinin yaygın olarak amplifiye olduğunu ve bu bölgelerin tümör oluşumunu yürüten genleri içerdiğini göstermiştir. Böyle önemli amplifiye olmuş bölgelere en iyi örneklerden biri Her-2 onkogeninin barındıran 17q12 amplikonudur. Bu amplikon şimdi trastuzumabla son derece başarılı bir hedeflenmiş antikör tedavisi yapılabilen daha saldırgan bir tümör fenotipine neden olur. Trastuzumab tedavisiyle 17q12 amplikonu içerisindeki koamplifiye genlerin engellenmesiyle hücre çoğalmasında azalma ve apoptoziste bir artış olduğu gözlenmiştir (88).

### 2.8.3. Meme Kanserinin Epigenetiği

DNA metilasyonu ve kromatin modifikasyonu yüksek ökaryotlardaki major epigenetik mekanizmadır ve bunlar DNA replikasyonu, transkripsiyon ve onarım gibi temel genetik süreçler ile sıkı ilişkiindedirler. DNA metilasyonu, genin susturulması ile ilişkilidir. Benzer biçimde belirli histon modifikasyonları aktif ya da inaktif durumlarda kromatin bağlanma bölgesinin aktivitesinin düzenlenmesiyle altta yatan dizinin kapasitesini yada transkripsiyonel durumunu kontrol eder. Ökromatin ya da aktif kromatin H2A, H3, H4 histonlarının asetillenmesiyle ve K4, K40 ve K36 lizin kalıntılarında metillenmiş H3 histonla güçlendirilmiştir (89). Bunun tersine lizin kalıntıları olan K9, K27 ve K 79'da metillenmiş olan histon H3 içinde güçlendirilmişken heterokromatin ya da sessiz kromatin histon asetilasyonundan yoksundur. Onkojenik olarak görünen transkripsiyon değişimlerine yol açan histon

asetilasyonu ve DNA metilasyonunun değiştirilmiş paterni meme kanseride dahil olmak üzere bir çok kanserde gösterilmiştir (89,90). Bu nedenle, epigenetik tedaviler çok sayıda klinik ve temel kanser araştırmacısından yoğun bir ilgi görmüştür. Başlıca epigenetik kanser ilaçları DNA metiltransferaz (DNMT) ve histon deasetilaz (HDAC) inhibitörlerini içerir. Preklinik çalışmalarda HDAC inhibitörlerinin meme kanseri hücrelerinde bir etkiye sahip olabileceği düşündürmüştür (91, 92).

mikroRNA (miRNA) yaklaşık 21-23 nükleotit uzunluğunda tek iplikli RNA molekülü türüdür, gen ifadesinin düzenlenmesinde rol oynar. miRNA'lar hedef mRNA transkriptlerinin yüzlercesinin ekspresyonunu kontrol eden düzenleyici moleküllerin yeni bir sınıfına ait olan kodlanmayan küçük RNA'lardır. Yani DNA'dan transkripsiyonu yapılan ama proteine çevirisi yapılmayan genler tarafından kodlanırlar. miRNA'lar pre-miRNA'lar denilen yaklaşık 70 nükleotidli büyük RNA öncüllerinden çekirdekte işlenerek oluşturulurlar. Olgun miRNA'lar bir veya daha çok mesajcı RNA (mRNA) ile kısmi tamamlayıcıdır ve başlıca işlevleri gen ifadesini ayarlamaktır. Bunu genin susturarak ve düzenleyerek yaparlar. Bu amaçla bir miRNA bir veya daha çok mRNA'yı tamamlayıcıdır (komplemanterdir). miRNA'nın mRNA ile eşleşmesi bazen protein çevirisini engeller ve bazen de mRNA'nın kesilmesini kolaylaştırır. Çoğu hayvan miRNA'sı protein çevirisini engeller, çoğu bitki miRNA'sı da mRNA'yı keserek çalışır. miRNA'lar ayrıca hedef mRNA'ya karşılık gelen genomik bölgelerde DNA metilasyonuna neden olabilirler. miRNA'lar kendilerini tamamlayan bir grup proteinle (mikroribonükleoproteinler = miRNP) birlikte işlev görürler (93). Keza miR-125a'nın ERBB2 ve ERBB3 inhibisyonu ile bir tümör baskılayıcı gen olarak işlev görebileceği gösterilmiştir (28). Yine miRNA'ların kanser tedavisine cevabı predikte edebileceği öne sürülmektedir (70, 71).

#### **2.8.4. Meme Kanserinde Tedavi Hedefleri ve Protein/Yolak Değişiklikleri**

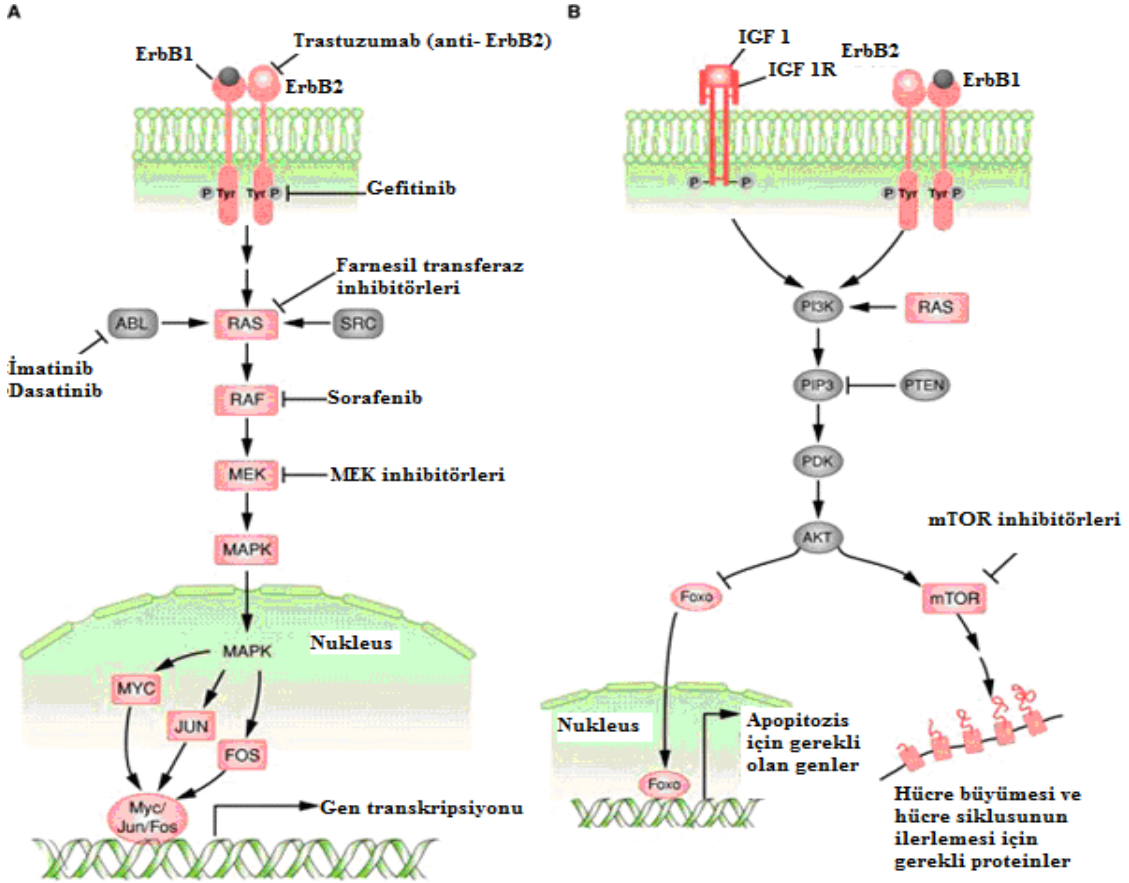
Meme kanserine giden süreçteki moleküler mekanizmaların önemli noktaları; büyüme sinyallerinde otonomi, büyüme karşıtı sinyallere duyarsızlaşma, apoptozdan kaçma, sonsuz çoğalma potansiyali, invazyon, metastaz ve anjiogenezin sürekliliğidir (94). Genetik ve epigenetik anormallikler çoğu durumda proteinlerin ve sinyal yolaklarının etkileşimlerinin anormal düzeyleri ve anormal fonksiyonlarıyla ortaya

çıkar. Bazı anahtar proteinler ve yolakları bir potansiyel tedavi hedefi olarak da gözükmemektedir.

Çoğu meme kanserinde ER sinyal yolağında bir takım değişiklikler mevcuttur. Östrojen hücre çekirdeğindeki reseptörüne bağlanarak etki eden steroid yapıda bir hormondur. Ligandı tarafından aktiflendiğinde östrojene duyarlı genlerin promotor bölgelerindeki ER elemanlarına bağlanır. Bu da PR de dahil olmak üzere büyümeyi teşvik eden bir çok genin transkripsiyonunu etkiler. İnvazif meme kanserlerinin % 70'inde ER aşırı eksprese edilmekle birlikte mekanizması yeterince açık değildir. Genin amplifikasyonunun bir mekanizması olduğu görülmektedir (42). ER ekspresyonunun düzeyi ER (+) tümörlerde antiöstrojenlere cevabın çok etkili bir prediktördür (30, 51, 62). Östrojen bu etkilerini hem genomik hem de non-genomik mekanizmalarla yapar. Genomik etkilerin tersine non-genomik etkiler östrojen maruziyeti sonrası saniye ya da dakikalar içerisinde olur ve bu etkinin hücre zarı bağımlı ya da sitozolik ER'lerinin hormon bağımlı aktivasyonundan kaynaklandığına inanılmaktadır. Hücre çekirdeği dışındaki ER'lerinin bu eylemi EGFR'ler, insülin like growth factor-1R (IGF-1R), c-Src, Shc ve PI3K'ün p85α düzenleyici subüniği gibi önemli büyüme düzenleyici kinazların aktivasyonunu ve fosforilasyonunu netice verir (3, 95). Protein kinaz B / AKT yolağı da ER tarafından aktive edilen bir yolaktır. İnvazif meme kanserlerinin % 80'ninde PKB / AKT fosforiledir. MAPK yolağında yine ER tarafından aktive edilen bir kinaz yolağıdır. Fosforile MAPK endokrin tedaviye kısa süreli cevap ve azalmış sağkalım ile ilişkili bulunmuştur (35). Tamoksifen ve raloksifen gibi ER reseptörüne bağlanarak ya da aromataz inhibitörleri ve over ablasyonu gibi endojen östrojen üretimini azaltarak bu yolağı engelleyen birçok ilaç geliştirilmiştir.

Büyüme faktörü reseptör yolakları ve özellikle de tirozin kinaz reseptörleri hem hücre çoğalması hem de hücre sağkalımında önemli bir rol oynar. Meme kanseri biyolojisinde ErbB ailesi çokça çalışılmıştır (96, 97, 98, 99). İnsülin benzeri büyüme faktörü reseptörü (IGFr) de terapötik hedef belirlenmesi umuduyla inceleme konusu olmuştur (100). Bu reseptörler bir hücre dışı ligand bağlanma bölgesine, bir transmembran bölgesine ve bir de downstream sinyal kaskadlarını aktive eden sitoplazmik tirozin kinaz içeren bağlanma bölgelerine sahiptir. Bu büyüme faktörü reseptör yolları aşırı artmış ligand düzeyleri, bir takım işlev mutasyonlarının kazanımı, gen amplifikasyonu ile birlikte ya da onuz aşırı ekspresyonu, gen yeniden

düzenlenmeleri ve onkojenik potansiyele sahip füzyon proteinlerini içeren birçok mekanizma ile yapısal olarak aktive edilebilir. (Şekil. 6).



**Şekil 6.** Hücre içi sinyal yolları

**A:** Ras/raf/MEK/MAPK yolağı SRC ve ABL gibi hücre içi birçok tirozin kinazlarla ve ErbB1 ve ErbB2 ile amplifiye olan birçok büyüme faktörü reseptörü ile de aktive olur. Aktive olan RAS, RAF, MEK ve ERK (MAP) kinazlar aracılığıyla bir dizi fosforilasyon olayını uyarır. Aktive olan MAP kinaz (MAPK) hücre çekirdeğine translokasyon yaparak MYC, JUN ve FOS gibi proteinleri aktive eder **B:** Fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) yolağı IGF1R ve ErbB1/ErbB2 heterodimerleri ile amplifiye olan RAS ve bir çok büyüme faktörü reseptörleri ile aktive olur. Aktive olan PI3K fosfoinositid-bağımlı kinaz-1 (PDK) aktive eder. PDK AKT'yi fosforiler. PTEN, AKT aktivasyonunun bir endojen inhibitörüdür. Fosforile AKT, mammalian target of rapamycini (mTOR) ve birçok downstream sinyallerini ilerletir ve transkripsiyon faktörlerinin FOXO ailesini inhibe eder. mTOR aktivasyonu hücre büyümesi ve hücre siklusunun ilerlemesi için gereken proteinlerin sentezini sağlar.

Her-2 reseptörü EGFR, ErbB3, ve ErbB4'ün de dahil olduğu reseptör tirozin kinaz ailesinin bir üyesidir. Ligandın ErbB1, ErbB3, or ErbB4 reseptörlerinin

ekstrasellüler kısmına bağlanması homo ve heterodimerizasyonuna ve kinaz aktivasyonuna neden olur. İnvazif meme kanserlerinin % 20-30'unda bulunan bu Her-2 amplifikasyonu ya da protein aşırı ekspresyonu hücre büyüme ve çoğalmasının hızlanması, kötü klinik sonuçlar ve monoklonal anti Her-2 antikoru olan trastuzumaba tedavi yanıtı ile ilişkilidir. Her-2 (+) erken evre meme kanserli hastaların adjuvan tedavisinde kemoterapiye trastuzumab eklenmesiyle rekürrens hızında % 50'den fazla bir azalma elde edildiği gösterilmiştir (97). Diğer bir anti Her-2 ilaç olan Lapatinib Her-2 ve EGFR'nin her ikisinin tirozin fosforilasyonunu inhibe eder ve fosforilaz kinaz ERK 1 / 2 ve AKT nin aktivasyonunu inhibe eder. Daha önce trastuzumab tedavisi altında progrese olmuş ileri evre Her-2 (+) meme kanserinde lapatinibin kapesitabinle kombinasyonunun tek başına kapesitabinden daha üstün olduğu (98), trastuzumab direncinin yenilmesinde de lapatinibin trastuzumabla kombinasyonunun etkili olduğu gösterilmiştir (99).

IGF-1 ve IGF-2 ve bunların reseptörü (IGF-1R) yoluyla sinyalizasyon da birçok onkojenik kinazların fosforilasyon ve aktivasyonunu netice verebilir. IGF-1R, IGF'nin primer cevap aracıdır ve tüm epitelyal hücre tiplerinde eksprese edilir. IGF-1 ve IGF-1R artışının meme kanseri ve diğer kanserlerin riskinde bir artışa yol açtığı düşüncesi vardır. Meme kanserinde büyüme, invazyon ve metastazla ilişkisi gösterilmiştir (100).

PI3K / AKT birçok tirozin kinazın merkezi bir downstream sinyal yolağıdır ve hücre büyüme ve çoğalmasını düzenler. PI3K'nın p110 $\alpha$  katalitik alt birimini kodlayan gende aktive edici bir mutasyon meme tümörü progresyonuna önemli bir katkı oluşturabilir. PI3K yolağının aktivasyonu AKT1, AKT2 ve AKT3 gibi birçok bilinen kinazın 3-fosfoinozimid bağımlı kinaz aracılı aktivasyonu ile sonuçlanır. PI3K'nın downstream proliferatif etkileyicileri AKT'lere ek olarak mammalian target of rapamisin (mTOR) kompleks 1 (TORC1)' i de içerir. Kanser tedavisinde kritik bir hedef olarak gözüken mTOR-raptor noktasına yönelen rapamisin analogu olarak bilinen RAD001 (everolimus) meme kanseri tedavisi için çalışılmıştır. Exemestan'a everolimus eklenmesinin hormon reseptör pozitif postmenopozal meme kanserli hastalarda PFS'yi iyileştirdiği gösterilmiştir (101).

Ras / raf / MEK / MAPK yolağı birçok büyüme faktör reseptörünün de kritik bir sinyal yolağıdır. Raf inhibitörü olan sorafenib meme kanseri tedavisinde mütevazi bir başarı göstermiştir (102).



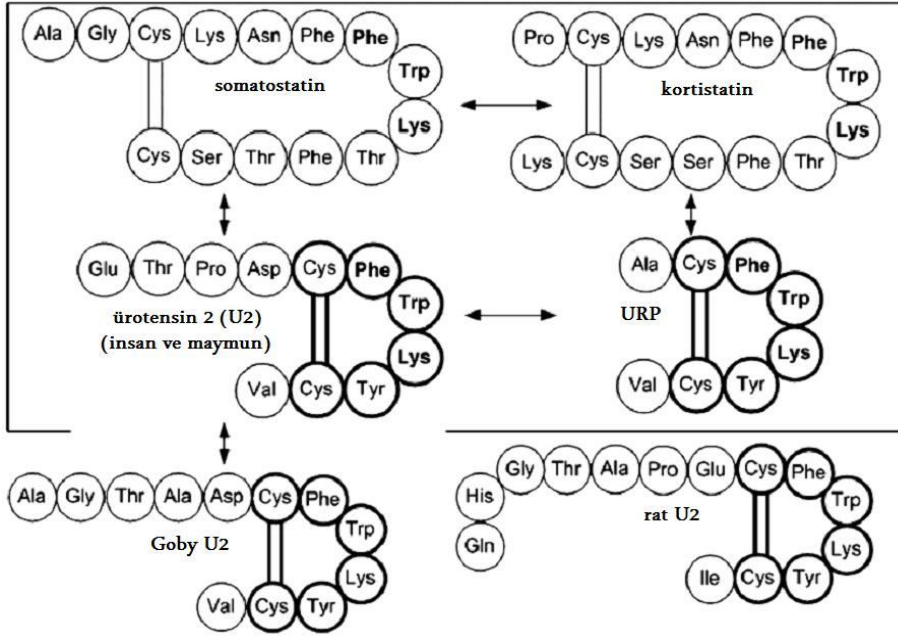
#### 2.8.4.1. Meme kanseri ve Anjiogenez

Anjiogenez gebelik ve yara iyileşmesi gibi fizyolojik olaylar esnasında normalde sıkı bir şekilde düzenlenen damar oluşumu sürecidir. Tümör büyümesi ve yayılımının önemli bir parçası olduğu da gösterilmiştir. Fizyolojik anjiogenezin aksine tümörle ilişkili anjiogenez son derece düzensiz ve organizasyondan yoksundur. Damarlanma bozuk ve vasküler geçirgenlik artmıştır. Bu sürecin merkezinde pro-anjiogenik faktör ve vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) vardır (103). Bunlar reseptörleriyle birlikte hücre büyümesini ve yeni damar oluşumu düzenlerler (104). Bevacizumab VEGF-A'ya karşı geliştirilmiş bir monoklonal antikordur. ECOG E2100 çalışmasında bevasizumabın paclitaxele eklendiğinde meme kanserli hastalarda cevap oranı ve PFS de iyileşmeye yol açtığı gösterilmiştir (105).

### 2.9. Ürotensin 2

#### 2.9.1. Ürotensin 2'nin Keşfi ve Moleküler Yapısı

Ürotensin 2 başlangıçta San Francisco körfezinde bulunan, 10-15 cm uzunluğunda, *Gillichthys mirabilis* adında kemikli bir balığın spinal kordundan ayrıştırılmış olan SST benzeri siklik 11 aminoasitlik bir peptid hormondur. İlk kez 1969 yılında tanımlanmıştır. Daha sonra white sucker adı verilen *Cotostomus commersoni* balığı, sazan balığı, kurbağa, tavuk gibi hayvanların yanında rat, maymun, fare ve insan gibi memelilerde de izole edilmiştir. Tüm bu canlılarda U2'nin yapısı benzerlik gösterir (Bkz Şekil 7). İnsan U2 (hU2)'nin yapısı H-Glu-Thr-Pro-Asp-cyclo[Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys]-Val-OH şeklindedir (106). Biyolojik aktiviteden sorumlu tutulan C-terminal ucu sistein köprüleri siklik hegzapeptid yapısında olup (Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys) tüm bu canlılarda aynı dizilişle bulunmaktadır. N terminal ucu ise uzunluk ve sekans olarak farklı özellikler gösterir. hU2 peptidi büyük bir öncül molekül olan pre-pro U2 molekülünden üretilir. Bu molekülün mRNA'sı insan vücudunda birçok dokudan elde edilmiştir (107). Sekansiyel yapısı, özellikle de biyolojik aktif bölgesi SST'e benzer. Goby balığı U2'sinin vazoaktif etkilerinin önce ratlarda daha sonra da insanın vasküler yapısında gösterilmesi U2'nin bir memeli homologunun da olduğunu keşfine giden süreci başlatmıştır. İnsan U2 de sazan balığına % 25 benzerlikle sekansiyel yapısı gösterilmiştir (108). Bununla birlikte vücutta ürotensinin üretim yerleri tam olarak aydınlatılamamıştır.



Şekil 7. İnsanda ve çeşitli hayvanlarda U2, URP ve bazı vazoaktif peptidlerin yapısı

Koyunlarda yapılan bir çalışmada kalpte % 36, karaciğerde % 40 ve böbreklerde % 44 arteriovenöz fark görülmesi bu organları işaret etmiştir (109). İnsanlarda U2'nin plazma seviyesi kullanılan saptama yöntemi ve örneklerin vücudun hangi bölgesinden alındığına göre değişir. Bunun için radyoimmün-assay, radyoreseptör-assay, enzimimmün-assay ve ELISA kullanılan yöntemlerdir. Standart bir ölçüm metodu henüz saptanmamıştır. Seviyesi genellikle pikomolar düzeydedir. Erkekler ve kadınlar arasında plazma seviyeleri arasında belirgin bir fark bulunmamakla birlikte kadınlarda daha düşük olduğunu gösteren çalışmalar da vardır (107).

### 2.9.2. Ürotensin 2 Reseptörü

U2'nin bir orphan G protein kenetli reseptörün (GPR 14) endojen ligandı olduğu gösterilmiştir (110). Bu reseptör G protein coupled reseptör (GPCR) ya da GPR 14 adıyla bilinir. Daha sonraları GPR 14'ün hU2 için yüksek selektivite göstermesi nedeniyle bu reseptör ürotensin reseptörü (UTR) olarak adlandırılmıştır (111). İnsan ürotensin 2 reseptörü (hUTR) rodopsin benzeri G protein kenetli reseptörler ailesinin bir üyesidir (112). SST reseptör (SSTR) 4 ile % 27'lik, onun transmembran domaini ile ise % 41'lik bir sekansiyel homoloji gösterir. Önce ratlarda gösterilmiştir (113) (Şekil 8). Sonraki çalışmalarda rattakine % 75 oranında benzeyen 389 amino asitlik insan GPCR'si gösterilmiştir. U2 etkisini, çeşitli dokularda eksprese edilen bu UTR'ye



#### 2.9.4. Ürotensin Related Peptid

Ürotensin related peptid (URP) rat beyinde keşfedilmiştir. Rat, insan ve faredeki aminoasit dizilimi birbirine benzer olarak ACFWKYCV şeklindedir. U2'nin yapısındaki dizilim olan CFWKYCV' ye bir aminoasit farkıyla benzer. Prekürsör molekülleri ise birbirine % 18.8 homoloji gösterir. İnsan genomundaki pozisyonları da birbirinden farklıdır. Bu nedenle farklı familyalardan oldukları düşünülür (107). URP'in UTR eksprese eden hücrelerde kalsiyum mobilizasyonunu uyardığı gösterilmiştir. İnsan ve rat UTR'sine bağlanır ve aktive eder. Anestezi uygulanmış ratlara verildiğinde uzun süreli hipotansif etki oluşturduğu gösterilmiştir. URP mRNA insan ve rodentlerin santral ve periferel dokularında saptanmıştır (116). Farenin torasik spinal kordunun motor nöronlarında da gösterilmiştir (117). URP'nin UTR'nin benzer ama farklı bir endojen ve fonksiyonel ligandı olduğu düşünülmektedir.

#### 2.9.5. Ürotensin 2 ile Diğer Vazoaktif Peptitlerin İlişkisi

U2 diğer vazoaktif peptidlerle birçok işlevsel benzerlikler gösterir. Somatostatinin önce hipofizden büyüme hormonunun salgılanmasını inhibe ettiği gösterilmiş ve bu nedenle başlangıçta growth hormon inhibe edici hormon olarak adlandırılmıştır. Sonraları insülin ve diğer birçok hormon üzerine etkileri anlaşılmıştır. Sinir, nöroendokrin, gastrointestinal hücrelerin yanında kanser hücrelerin tarafından da eksprese edilmektedir. U2, SST ile yapısal benzerlikler göstermektedir. Bu nedenle önceleri U2'nin bir SST analogu olduğundan şüphelenilmiştir. Sonraları bunun böyle olmadığı anlaşılmıştır. Fakat daha sonra U2 ve URP'nin SST ve kortistatinle aynı gen süper familyasının bir üyesi olduğu anlaşılmıştır. SST geni (SS1) ile URP, kortistatin geni (SS2) ile de U2 geni aynı kromozom üzerinde yakın ilişki içerisinde. U2 ve SST ailesinin benzer işlevleri olduğu gösterilmiştir. Gerçekten de SST reseptör alt tipleri üzerinde UTR ve U2 ile çapraz reseptör aktivasyonunun ( ve tersinin de) kanıtları vardır (118). U2 ve SST farklı mekanizmalarla aynı sistem üzerinde benzer etkiler gösterebilir. Örneğin U2 ve SST'in her ikisi de rat pankreasında  $\beta$  hücre insülin sekresyonu üzerinde önemli inhibitör etki gösterirler (119). Bununla birlikte birbirlerinden bağımsız olarak çalıştıkları da gösterilmiştir.

ET-1 ve adrenomedüllin gibi U2'nin de vücutta dolaşan konsantrasyonu çok düşüktür ve reseptörü tüm vücuda dağılmış olarak bulunmaktadır. Anjiotensin ve ET-1 reseptörleri gibi UTR'nin de heterotrimerik G proteinlerin bir alt tipi olan Gp11 ile birleşmektedir. Anjiotensin 2 gibi U2'nin de reseptör GP11 birleşmesi yoluyla RhoA membran translokasyonu ve aktivasyonunu ortaya çıkardığı düşünülmektedir (120). Anjiotensin 2 ve ET-1'in aksine U2'nin sistemik kan basıncı ve kalp hızı üzerine etkileri minimaldir (121). Keza ET-1'in aksine U2 venöz kan damarları üzerine göreceli olarak etkisiz görünmektedir (122).

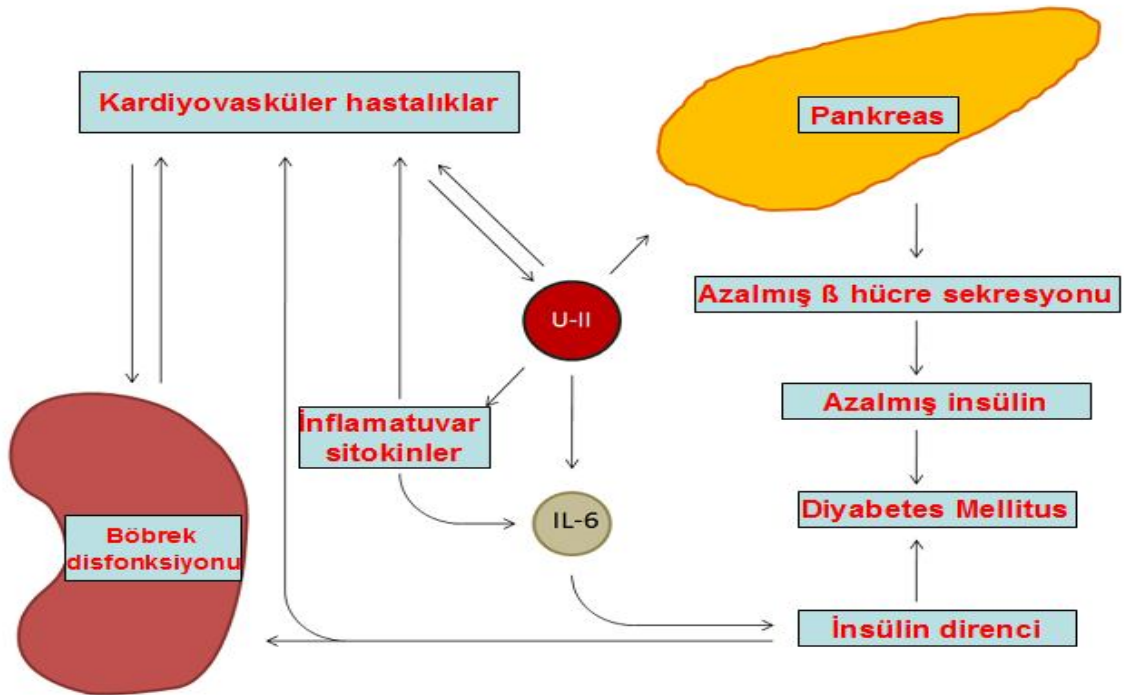
### 2.9.6. Ürotensin 2 ile UTR ilişkisi

Ürotensin 2'nin biyolojik aktivitesinden büyük ölçüde sorumlu olan bölgesi karboksi terminal ucudur. GPR 14 transfekte CHO hücrelerinde yapılan kalsiyum mobilizasyon çalışmaları reseptörün tanınması ve aktivasyonu için esansiyel olan amino asitlerin Trp-7, Lys-8, and Tyr-9 olduğunu göstermiştir (123). UTR'nün yapısını anlamak geleneksel metodlarla (Örn: X-ray kristallografi ya da nükleer manyetik rezonans) anlamak pek mümkün olmamıştır. Yapısı ile ilgili bilgiler günümüzde yeterince aydınlatıcı değildir. Radyoaktif işaretli U2'nin kullanıldığı bir çalışmada rat UTR'sinin 4. transmembran domaininde lokalize olan Met184 ve Met185 ile açıkça etkileşime girdiğini göstermektedir. Bu da transmembran domain 4'ün ligand bağlanmasına katkıda bulunduğunu ve ligand-reseptör kompleksinin oluşumunda rol aldığını telkin etmektedir (124). Takib eden hUTR'nin kullanıldığı bir çalışmada Met184 and Met185'in transmembran helix IV ve ekstrasellüler loop 2 (EC-2)'nin sınırında olduğu bulunmuştur. (125).

### 2.9.7. U2' nin etkileri

Ürotensin 2 güçlü bir vazokonstrüktör peptidtir ve onun potansi endotelin-1'den daha büyüktür (109, 126). Ürotensin 2'nin bu etkisi arterler üzerinde 50 kat, venler üzerinde ise 10 kat daha fazladır (7). Birçok doku ve organın işlevlerinin düzenlenmesinde yer alır (127). UTRmRNA kalp ve pankreasta fazlaca eksprese edilmiştir. U2 ve UTR kalp ve büyük arterlerde de yüksek miktarda eksprese edilirler. Bunların kardiyovasküler sistemin fizyolojisi ve patofizyolojisi üzerine birçok rolleri olabileceğine dair çeşitli kanıtlar mevcuttur (128, 120, 129). U2'in kardiyovasküler

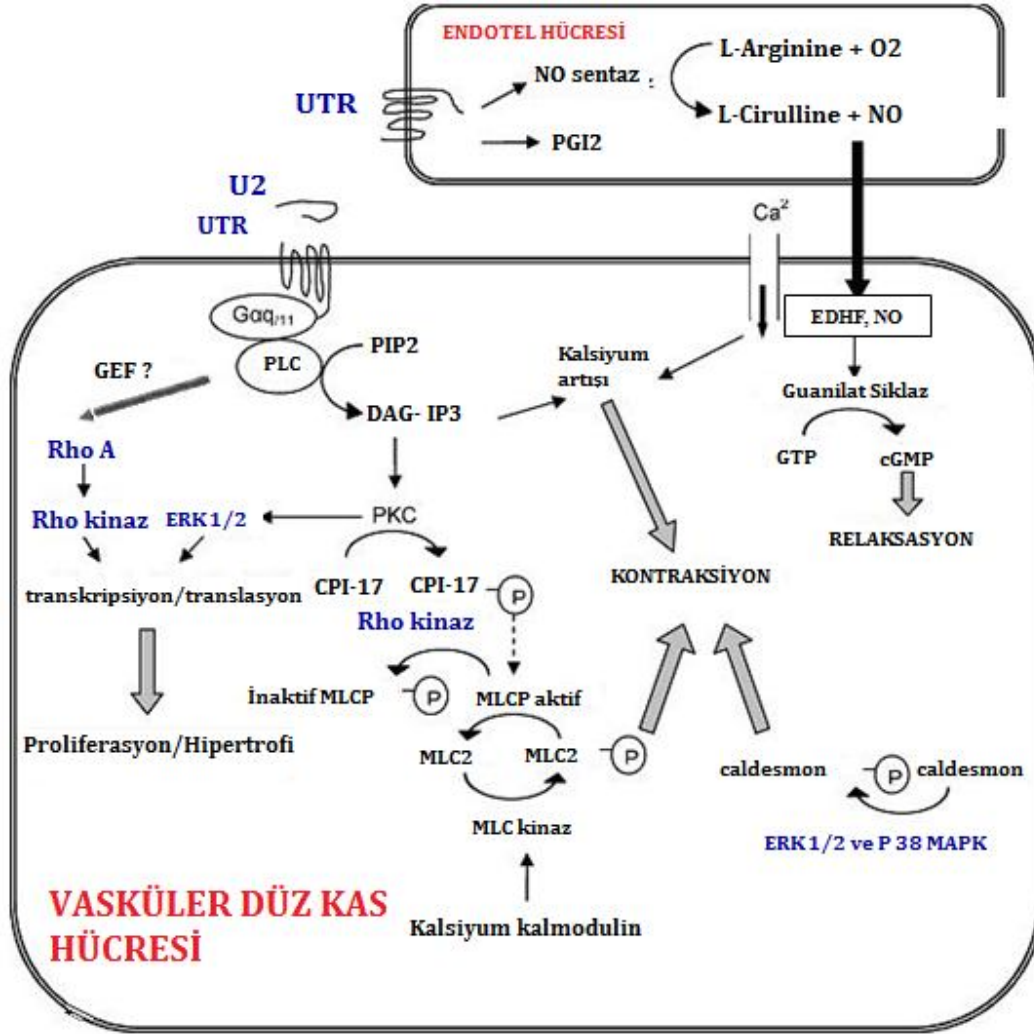
sistem üzerindeki etkileri, canlı türüne, söz konusu vasküler yatağın tipine, reseptör yoğunluğuna ve doza bağımlı olarak değişmektedir (130). U<sub>2</sub>'nin, endotele bağımlı vazodilatatör ve endotelden bağımsız vazokonstriktör etkileri olduğu ve net etkisinin bu ikisi arasındaki dengeye bağlı olabileceği ileri sürülmektedir (7). Ancak vasküler tonusun düzenlenmesinin çok ötesine taşan başka fizyolojik rollerinin de olduğu anlaşılmıştır. Plazma U<sub>2</sub> düzeyleri konjestif kalp yetersizliği (131, 132), hipertansiyon (133), koroner arter hastalığı, metabolik sendrom gibi kardiyovasküler hastalıklarla korelasyon göstermektedir (Şekil 9).



**Şekil 9.** Ürotensin 2'nin metabolik sendrom üzerine olan etkilerinin şematik özeti.

Yine kronik böbrek yetmezliği (KBY) (134), siroz ve portal hipertansiyonda da (135) plazma U<sub>2</sub> düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir (107). U<sub>2</sub>'nin kalpte koroner vazokonstriksiyon, refleks taşikardi, fibrozis ve kardiyomiyositlerde hipertrofiye yol açtığı saptanmıştır (136). Kalp yetersizliğinde plazma U<sub>2</sub> konsantrasyonu artmakla kalmaz, Big endotelin-1 ve beyin natriüretik peptid düzeyleri ve New York kalp cemiyetinin kalp yetersizliği fonksiyonel sınıflaması ile pozitif (137, 138), sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonuyla da negatif korelasyon gösterir (137). Ekstrasellüler matriks üretimini de artırır. Bazı çalışmalarda tip 2 diyabetik hastalarda diyabetik retinopati ve karotis aterosklerozunun (139) bir biyobelirteci olduğu gösterilmiştir. Romatizmal kalp

kapak hastalığı ile ilişkisi de çalışılmıştır (138). Anjiotensin ve ET-1'in aksine U2'nin kalp hızı ve sistemik kan basıncına etkisi minimaldir (121). Yine ET-1'in aksine venöz kan basıncında göreceli olarak etkisiz görünmektedir (122). Dört sağlıklı erkek gönüllü üzerinde yapılan bir çalışmada eksojen olarak uygulanan U2 ile plazmada erişilen yüksek U2 konsantrasyonlarının istirahat kan basıncı, vasküler tonus ve EKG'de belirgin bir değişikliğe yol açmadığı gösterilmiştir (140). On sağlıklı erkek gönüllü üzerinde yapılan benzer bir başka çalışmada da intravenöz olarak uygulanan U2'nin normalin 100 katı kadar bir plazma konsantrasyonuna ulaşılmasına rağmen belirgin bir hemodinamik değişiklik oluşturmadığı gösterilmiş ve sonuçlar U2'nin kan basıncı üzerine muhtemelen çok kısa süreli bir tesiri olduğu şeklinde yorumlanmıştır (121). Yapılan çalışmalar farklı dokularda ve farklı koşullar altında U2'nin çok değişik ve yorumlanması güç ve bazen de birbirine zıt etkiler gösterebileceğini telkin etmektedir. Bu durum belki de farklı doku ve koşullar altında değişen UTR ile ilişkili olabilir. Ya da U2'nin farklı dokulardaki değişken eliminasyon ömrü ile ilişkili olabilir. Bu bağlamda U2 ile ilgili bir çok karanlık noktanın hala aydınlatılmadığı düşünülmektedir. U2 vasküler düz kas hücrelerinde vazokonstrüksiyon, migrasyon ve proliferasyonu indükler. Endotel bağımlı vazodilatasyonu da indükler. Vazokonstrüktif etkilerinde UTR'ye bağlanma sonucu bir dizi yolak aracılık eder. Deneysel kanıtlar PLC / IP3 ve kalmodülin bağımlı- miyozin hafif zincir kinaz bağımlı yolaklar aracılığıyla kalsiyum salınımına işaret etmektedir. ERK ve RhoA / Rho kinaz yolakları da bu olaya kısmen katılır. Son iki yolak vasküler düz kas proliferasyonu ve migrasyonunda da önemlidir (141). U2'nin endotel bağımlı vazodilatatör etkileri nitrik oksit, prostoglandin E2 ve endotel kaynaklı hiperpolarizan faktörün salınımı yoluyla olur (141, 142) (Şekil 10).



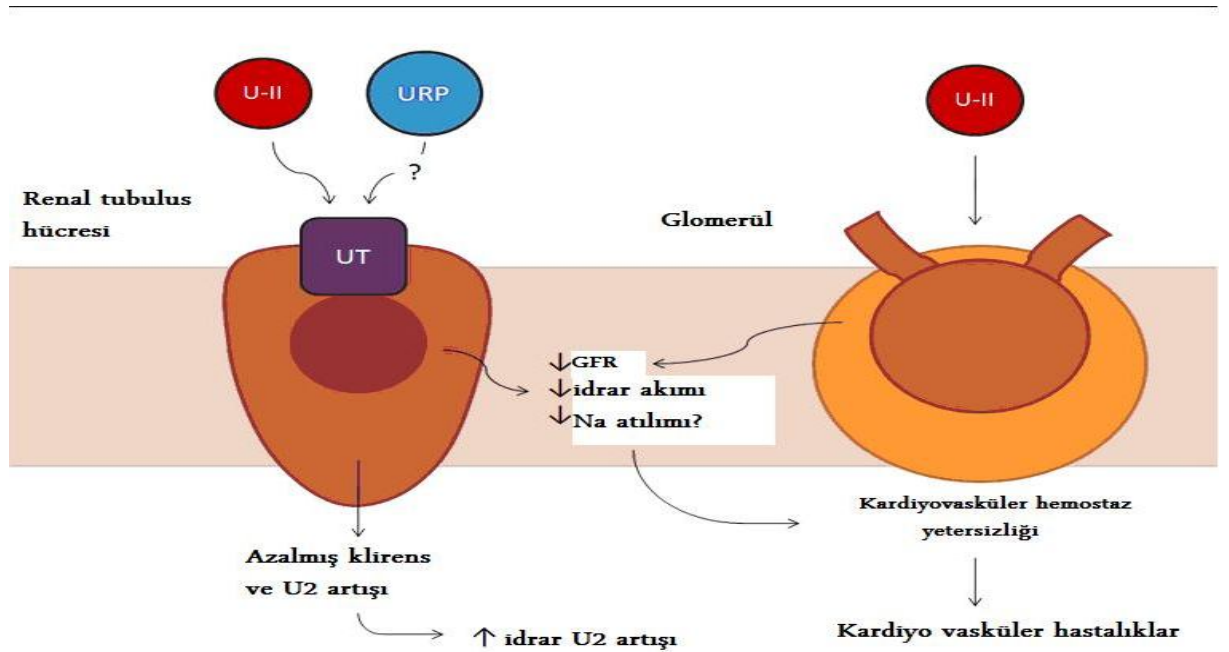
**Şekil 10.** U2'nin neden olduğu hücre proliferasyonu ve hipertrofisi, vazodilatasyon ve vazokonstrüksiyonda etkileşen yollar.

*Vasküler düz kas hücrelerinde U2, UTR'ye bağlanır ve Rho kinazında içinde olduğu bir dizi yolağın etkileşimiyle hücrede birçok biyolojik sonuçlara yol açar. (DAG= di açıl gliserol, PLC= fosfolipaz C, CPI-17= protein kinaz C'yi potansiyalize eden 17 kilodaltonluk inhibitör protein, MLCP= miyozin hafif zincir fosfataz, MLC-2= miyozin hafif zincir 2, ERK= ekstrasellüler sinyal düzenleyici kinaz, p38MAPK= p38 mitojen aktive edici protein kinaz, NO= nitrik oksit, PGI<sub>2</sub>= prostoglandin I<sub>2</sub>, GEF= guanin nükleotid değişim faktörü, EDHF; endotel kaynaklı hiperpolarize faktör)*

Diyabetik hastalarda serum U2 seviyelerinin diyabetik olmayan bireylere göre yaklaşık 2 kat yüksek olduğu raporlanmıştır (143) ve bu artış hipergliseminin bir sonucu değildir. U2 ve UTR pankreatik hücrelerce eksprese edilmekte, SST ve glukagon seviyelerini etkilemeksizin insülin salınımını inhibe etmektedir (119).



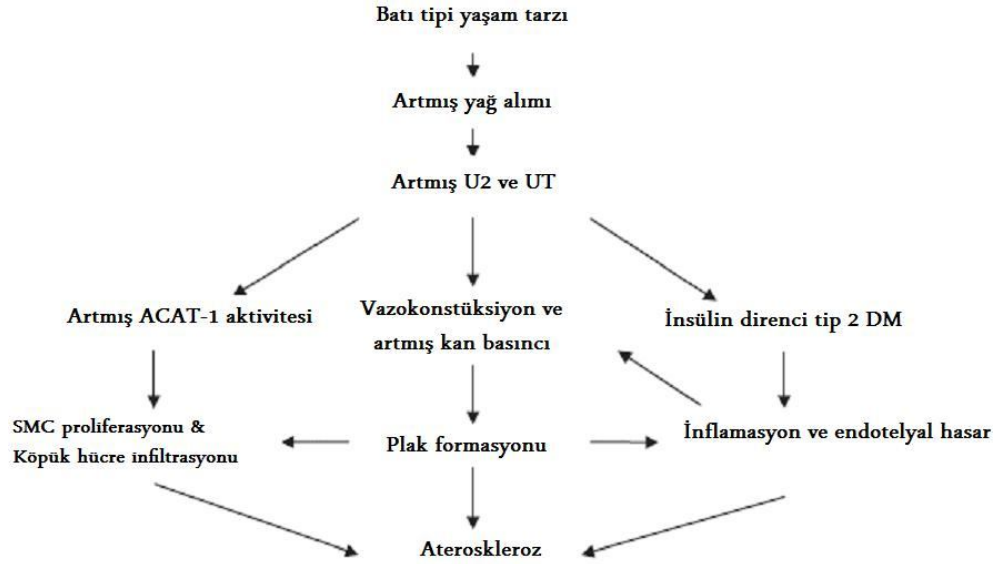
Plasma U2 benzeri immunoreaktivitenin KBY’de değerlendirilmesi sonucu hemodiyaliz hastalarında 3 kat, hemodiyaliz olmayan KBY hastalarında ise 2 kat fazla bulunmuştur (134). Bu durum renal klirensin etkilenmesiyle ilişkili olabilir (120). Ürotensin 2 renal tubulus hücresi ve glomerüllerde etkisini göstererek GFR’de, idrar akımında ve idrarla sodyum atılımında azalmayla sonuçlanan bir takım etkiler gösterir (Şekil 11). Yine böbrek işlev bozukluğu olan diyabetik hastalarda böbrek işlevi normal olan diyabetiklere göre U2 seviyesi yüksek bulunmuştur (144). U2 and UTRmRNA diyabetik nefropatili hastaların böbrek biyopsi örneklerinde çalışılmış ve normal bireylere göre 45-2000 kat daha yüksek bulunmuştur (145). Renal tübül bozukluğu olanlarda artmış bir U2 benzeri immünoreaktivite gözlenirken, renal glomerüler hastalığı olanlarda normal bireylerden farklı bulunmamıştır (129). Son dönem böbrek yetersizlikli hastalarda U2’nin plazma seviyesi sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte bu hastalarda plazma U2 seviyeleri birçok nörohormonal faktörlerle (146), ateroskleroz biyobelirteçleri ile ve endotelial aktivasyonla ilişkili bulunmuştur (147).



**Şekil 11.** Ürotensin 2'nin renal tübülüs ve glomerüllerde etkilerinin şematik gösterimi

*U2 ve URP renal tübülüste U2 bağlanması idrar akımının azalmasıyla sonuçlanır. Ek olarak U2'nin glomerüllere doğrudan etkisiyle glomerüler filtrasyon hızı azalır. Bu etkiler artmış kan basıncı ve kardiyovasküler homeostazisin bozulmasıyla kardiyovasküler hastalıkları teşvik eder.*

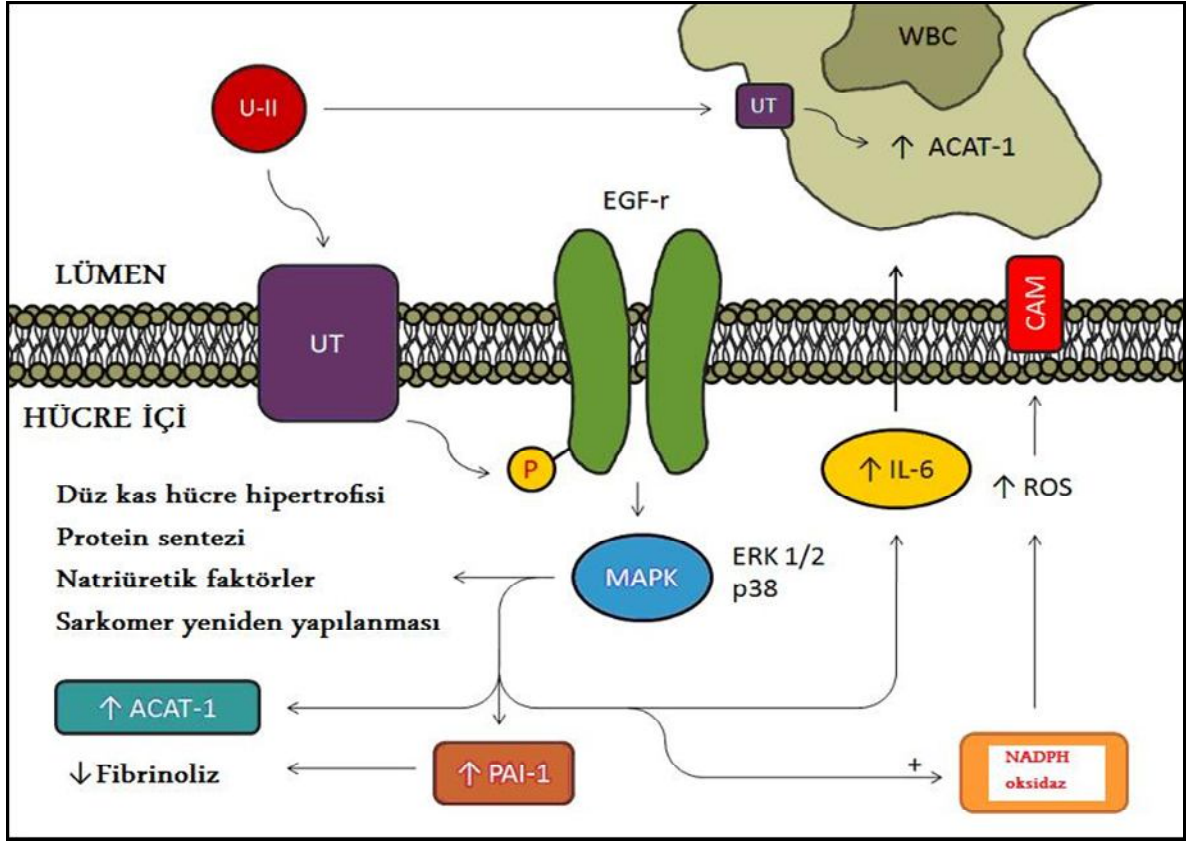
Aterosklerotik karotik arterlerde ve aortada U2'nin ekspresyonu artmıştır. U2'nin artmış ekspresyonunun, aterosklerotik plak oluşumunu damar düz kas proliferasyonuna yol açarak hızlandırdığı öne sürülmektedir. Batı tipi beslenme ve yüksek yağ içerikli diyet U2 ve UTR'nin artışına yol açmaktadır (Şekil 12).



**Şekil 12.** Aterosklerozun patogenezinde U2'nin potansiyel rolünün şematik çizimi

*Batı tipi yaşam tarzı ile ilişkili yüksek yağlı diyet U2 ve UTR'nin artmasıyla sonuçlanır. U2'nin insülin salınımını inhibe ettiği ve metabolik sendrom gelişimine katkıda bulunduğu bilinmektedir. Neticede gelişen inflamasyon ve endotelial hasar, artmış kan basıncıyla böbrek hasarına yol açar. Aterosklerotik plağın oluşmasıyla kardiyovasküler hastalıklar oluşur. Plaklarda ACAT-1 aktivitesiyle düz kas hücre proliferasyonu ve makrofaj infiltrasyonu oluşur.*

U2 ve UTR artışı ile açıl-Ko enzim A: kolesterol O-açıltransferaz (ACAT) aktivitesinde artış oluşmaktadır. Rho A ve Rho kinaz - ERK yolağı aracılığıyla vasküler düz kas hücre proliferasyonu (148) ve köpük hücre artışına neden olmaktadır (149). Köpük hücre artışı ve düz kas hücre proliferasyonu da aterosklerotik sürecin en önemli parçalarını teşkil etmektedirler.



**Şekil 13.** U2'nin endotel hücreler, vasküler düz kas ve makrofajlardaki etkilerinin şematik özeti.

U2 ile UTR'nin uyarılması düz kas hücrelerinde mitojenik değişikliklere yol açan ERK1 / 2 ve p38 yollarının aktivasyonu ve EGFR reseptörünün fosforilasyonunu ve ACAT-1, PAI-1 ve IL-6'da bir artışı indükler. NADPH oksidazın uyarılması aterosklerotik damarlarda makrofaj hücre infiltrasyonunu teşvik eden hücre adezyon moleküllerini artırır. U2'nin makrofaj UTR'sine bağlanması artmış lipid alımı ve köpük hücre üretiminin artmasına yol açan makrofaj ACAT-1'in artışı sonuç verir.

Diğer taraftan vazokonstriksiyon yoluyla kan basıncını arttırmakta, insülin direncine neden olarak damar duvarında inflamasyona yol açmakta ve endotel hasarı oluşturmaktadır. Tüm bu patolojik süreç aterosklerotik plak oluşumuna neden olarak ateroskleroza yol açmaktadır (Şekil 13). Ayrıca lokal olarak salınan U2'nin miyokardiyal iskemiye ve koronerlerde vazokonstriksiyona yol açtığı saptanmıştır (136, 150). Hipertansif ve normotansif hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada hipertansif hastalarda serum U2 düzeyleriyle kan basıncı arasında pozitif bir ilişki saptanmıştır. Bir başka çalışmada kan basıncı normal bireylere göre hipertansiflerde plazma U2 düzeyleri yüksek olarak bulunmuştur (136, 151). UTR ile tranfekte hücrelerde U2'nin kalsiyum mobilizasyonunu uyardığı rapor edilmiştir (110). Yine U2'nin böbrek yetersizliği olmayan diyabetik hastalarda arttığı gösterilmiştir (143).

Anjiogenez embriyonel gelişim süreci ve sonrasında, ergenlik çağında, korpus luteum oluşumu gibi bazı fizyolojik durumlarda, tümörler ve kronik inflamatuvar süreç gibi patolojik durumlarda çok önemli rol oynayan, mevcut damarlardan yeni damar oluşumu sürecidir (103). U2'nin Fibroblast growth faktör (FGF)-2 gibi ana klasik anjiogenik sitokinlerle karşılaştırılabilir ölçüde güçlü bir anjiogenik etkisi olduğu in-vivo ve in-vitro olarak saptanmıştır (152). Bu etki UTR aracılığıyla oluyor görülmektedir. Bu aracılığı engelleyen palosuran (ACT058362) olarak adlandırılan bir UTR antagonisti bulunmuştur (153). Palosuran peptid olmayan bir UTR antagonistidir. U2 korioallantoik membrana eklendiğinde FGF-2 ile karşılaştırılabilir ölçüde anjiogenik cevabı güçlü bir şekilde uyarmaktadır. Palosuran U2 ile birlikte ortama eklendiğinde embriyoların % 70'inde anjiogenik cevabı inhibe ettiği gösterilmiştir. Palosuran fibroblast büyüme faktörü 2 (FGF-2)'nin ne pro-anjiogenik etkilerini değiştirir ne de bazal anjiogenezisi etkiler. Belirgin olarak FGF-2'nin aksine U2'nin proanjiogenik etkilerinin, beyin nöromikrovasküler endotelial hücreleri (NEC) üzerinde bir çoğalmayı uyarıcı etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Oysaki hem U2 hem de UTR, NEC'lerde eksprese edilmektedir. Bu durum U2'nin endotelial hücrelerde eksprese edilen klasik proanjiogenik sitokinlere benzemediğini düşündürmektedir (154). Ürotensin 2 reseptör antagonistlerinin sistemik, pulmoner ve portal hipertansiyon, kalp ve böbrek yetmezliği tedavisinde terapötik potansiyel bir klinik kullanımı olabilir. Palosuranın intravenöz uygulanması sıçan modelinde belki de U2 aracılıklı vazokonstrüksiyonu engelleyerek böbreği iskemiye karşı korur. Palosuranın diyabetik nefropati üzerindeki etkisini inceleyen bir çok klinik çalışmalar vardır. Urantide, BIM-23127, SB-611812 ve piperazinoisoindolinone bazlı antagonist diğer U2 antagonistleridirler ve bir çok hastalıkta çalışılmışlardır (155).

### **2.9.8. U2 ve Kanser**

Bazı vazoaktif polipeptidlerin de tümör hücrelerince üretildiği, sekrete edildiği ve bir parakrin büyüme uyarıcısı olarak hareket ettiği bilinmektedir. Örneğin SST vücutta nöroendokrin ve immün hücrelerce üretildiği bilinen düzenleyici bir peptiddir. Lokal olarak nörotransmitter, nöromodülatuar, parakrin/otokrin olarak regülatuar ve sistemik olarak da bir hormon işlevi görür. SST birçok tümörde tümör büyümesini sağlayan büyüme faktörleri ve hormonların sekresyonunu inhibe eder. Büyüme

faktörlerinin oluşturduğu DNA sentezi ve angiogenezi inhibe eder. Vasokonstrüksiyonu artırır ve immün hücre işlevlerini düzenler. SST'nin meme kanserini de içeren birçok tümörde varlığı gösterilmiştir. Bu sonuçlar kemoterapiye SST analogların eklenmesinin meme kanseri de dahil bir çok tümörde klinik yararı üzerine etkilerinin araştırıldığı bir dizi çalışmanın başlamasına neden olmuştur (6). Yine endotelin-1'in de akciğer kanseri, beyin tümörleri, kolon kanseri, adrenokortikal kanser ve servikal kanser gibi çeşitli kültüre edilmiş tümör hücrelerince üretildiği, sekrete edildiği (156, 157, 158, 159, 160, 161) ve tümör hücrelerinin çoğalmasını uyardığı gösterilmiştir (162, 9, 157). Adrenomedüllin ilk olarak feokromositomadan izole edilmiş güçlü bir damar gevşetici peptiddir ve endotelin-1 gibi çeşitli kültüre edilmiş tümör hücrelerince üretilir ve sekrete edilir. Adrenomedüllinin tümör hücrelerinin üretimini uyardığı da gösterilmiştir (162). Bununla birlikte tümör hücrelerinde U2 ve UTR yeteri kadar çalışılmamıştır.

U2'nin vasküler düz kas hücresinde hücre büyümesi ve proliferasyonunu uyardığı (148,147) bilinmekle birlikte aynı etkilerin tümör hücrelerinde de gerçekleşip gerçekleşmediği yeterince aydınlatılamamıştır. Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda bazı tümörlerde U2'nin önemli bir rol oynadığı ortaya çıkmıştır. U2 ve UTR'nin ekspresyonu bir kaç tümör kaynaklı hücrede saptanmıştır. Takahashi ve arkadaşları glioblastoma hücre hattı T98G, nöroblastoma hücre hattı IMR32, koryokarsinoma hücre hattı BeWo, adrenokortikal karsinoma hücre hattı SW-13, kolorektal karsinoma hücre hattı DLD-1 ve servikal karsinoma hücre hattı HeLa'da U2 ve UTR'nin eksprese edildiğini göstermişlerdir. NB69 neuroblastoma hücrelerinde ise UTR ekspresyonu gözlenmiş ancak U2 ekspresyonu saptanmamıştır (163). Northern blot ve RT-PCR analizi kullanılarak yapılan bir çalışmada iskelet kasında, rabdomiyosarkom hücre serilerinde (SJRH30 ve TE671), iskelet ve kalp kası doku örneklerinde ve insan primer iskelet kas hücre serilerinde (hSKMAC) UTRmRNA'nın varlığı ortaya konmuştur. Bunun ötesinde UTR'nin radyoligand bağlanma sitelerinin SJRH30 ve TE671 hücrelerinde mevcut olduğu bulunmuştur (164). İnsan akciğer adenokarsinoma A 549 hücrelerinde U2'nin mRNA, proteini ve UTR'nin eksprese edildiği açık bir şekilde gösterilmiştir. İmmünohistokimyasal analizler U2'nin başlıca sitoplazmada, UTR'nin hem sitoplazma hem de sitoplazma zarında eksprese edildiğini ortaya koymuştur (165). Ürotensin 2 ve UTR keza sürrenal adenom, adrenokortikal karsinom ve feokromositoma gibi adrenal tümörlerde ve neoplastik olmayan adrenal dokuda da immünlökalle

edilmiştir (166). Normal böbrek hücreleri ve renal karsinoma hücrelerinde U2'nin lokalizasyonunun araştırıldığı bir başka çalışmada kanser hücreleri ve vasküler yapılarında U2'nin ılımlı eksprese edildiği gösterilmiştir (167).

U2 tümör hücrelerinde büyümeyi uyarıcı faktör olarak görev almaktadır. U2'nin bir çok hücre fenotiplerinde güçlü bir mitojenik etki oluşturduğu raporlanmıştır (119, 168). U2 mitogenezisi ve arteriyel düz kaslarda hipertrofiyi Rho / Rho-kinaz yolunu kullanarak yapmaktadır (169). U2 insan adrenokortikal karsinoma SW-13, insan böbrek hücreli karsinom VMRC-RCW hücre serilerinde (168) ve feokromositoma da (170) mitojenik etki gösterir ve çoğalmalarını belirgin olarak uyarır. SW 13 hücrelerinin U2'yi sekrete ettiği de kanıtlanmıştır (163). Fakat eksojen olarak uygulanan U2'nin (0.1 microM) ise bir çok tümörde hücre sayısı üzerinde belirgin bir etki oluşturmadığı da gösterilmiştir (171). Ürotensin 2 reseptörü ekspresyonu prostat kanserinde Gleason skoru gibi agresif kanser seyrinin bilinen bazı patolojik göstergeleri ile ilişkili bulunmuştur. Ayrıca hücre motilitesini de etkilemektedir. Bu bulgular prostat kanseri hastalarında UTR'nin faydalı bir potansiyel prognostik belirteç olduğunu düşündürmektedir (10). U2 verilen A549 hücrelerinde tümör hacmi ve ağırlığında kontrol grubuna göre belirgin bir artış olduğu gösterilmiştir. Bu bulgular U2'nin bir otokrin-parakrin büyüme uyarıcı faktör olarak akciğer adenokarsinoma patojenezine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir (165).

Feokromositoma hücrelerinin proliferasyonunda U2'nin etkilerinin ve U2mRNA ve onun reseptörü olan UTR'nin normal adrenal doku ve insan feokromositoma dokularında ekspresyonunun araştırıldığı bir başka çalışmada U2'nin rat feokromositoma hücre hattında (PC12) hücrelerinin proliferasyonu üzerinde belirgin bir etki göstermediği fakat insan feokromositoma hücrelerinin proliferasyonunu teşvik ettiği gösterilmiştir. U2 ve UTR'nin mRNA ekspresyonu feokromositomada normal adrenal dokudakinden daha düşük bulunmuştur. Yine her ikisinin ekspresyonu adrenal feokromositomada ekstra adrenal feokromositomadakinden daha düşük bulunmuştur. Böylece U2 ve UTR'nin feokromositomanın patojenezinde bir etkisi olabileceği düşünülmüştür (170). Bir başka çalışmada feokromositomada U2 ekspresyonu artmış iken adenoma dokusunda UTR ekspresyonu artmış bulunmuştur (172). Bu sonucun feokromositoma ve primer aldosteronizm arasında klinik olarak gözlenen ilişkiye bir ışık tutabileceği düşünülmüştür.

### **3. GEREÇ VE YÖNTEMLER**

Bu çalışmaya Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu 30.06.2011 tarih ve 133 sayılı kararı ile onay alındı. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gaziantep Onkoloji Hastanesi, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı'nda meme kanseri tanısıyla takip edilen hastalar bilgilendirilmiş onam formları okutulup imzalatıldıktan sonra çalışmaya dahil edildi.

#### **3.1. Klinik tanı ve veri toplanması için yapılan işlemler**

Değerlendirmeye alınan hastaların yaş, cinsiyet, menopoz durumu, aile öyküsü, sigara öyküsü, eşlik eden hastalıklar, tümör özellikleri, tümör boyutu, nodal tutulum, evre gibi hastalığa ilişkin özellikleri kaydedildi. Hastalığın tanı anındaki evresi klinik muayene, mammografi, ultrasonografi, bilgisayarlı tomografi ve kemik sintigrafisi yöntemleriyle tespit edildi. Hastalar menopoz, sigara öyküsü, tümör histolojisi, tümör gradı, ektranodal invazyon, nodal durum, uzak metastaz varlığı ve hastalık evresine göre gruplara ayrıldı. U2 ve UTR mRNA için dokulardan elde edilen ham verilerin house keeping gen oranı ile değerler elde edildi. Daha sonra tümörlü doku ile normal doku arasında bu değerlerin oranına göre istatistiğe esas değerler elde edildi. Yani aynı hastada tümörlü doku ile normal doku arasındaki U2 ve UTR mRNA değişkenliği oranlarına bakıldı. Hastalar ayrıca bu değerleri 0.9'un altında olanlar, 0.9-1.1 arasında olanlar ve >1.1 olanlar olmak üzere üçer gruplara ayrılarakta incelendi.

#### **3.2. Doku örneklerinin toplanması**

Hastaların tanı anında alınan tümörlü ve tümörsüz meme dokusu biyopsi örnekleri taze doku olarak azot tankında korunduktan sonra genetik inceleme için Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Genetik Laboratuvarında işleme tabi tutuldu. Aynı biyopsi işlemi sırasında alınan diğer tümör dokuları patolojik inceleme için patoloji laboratuvarında işleme tabi tutuldu. ER, PR, Her-2 durumu açısından dokular immünohistokimyasal metodla değerlendirildi. Tüm patolojik incelemeler aynı patolog tarafından, aynı zaman diliminde gerçekleştirildi.

### 3.3. Dokudan RNA elde edilmesi

Operasyon esnasında tümörlü ve sağlam dokular alınarak azot tankına konuldu. Sıvı azot içerisinden alınan örnekler 25 mg'lık parçalara ayrılarak parçalayıcı (homojenizatör) (Kinematica, Gmdh, Switzerland) ile parçalandı. Homojenizatör her kullanımdan sonra, bulaşmayı önlemek için doku örneği kalmayacak şekilde temizlendi. QIAamp RNA Blood Mini Kit (Qiagen, Cat. No. 52304) aracılığıyla üretici firmanın önerdiği yöntem ile RNA'lar elde edildi. Dondurulmuş dokudan elde edilen 25 mg'lık doku püresi 1,5 ml'lik bir tüpe alındı ve üzerine 400 µl Çözme/Bağlama Tamponu (Lysis/Binding Buffer) (4,5 M guanidine- HCL, 100 mM sodium phosphate pH 6,6) eklendi ve 2 dakika 13.000xg'de santrifüje edildi. Santrifüj aşamasından sonra üstteki sıvı alınarak üzerine 200 µl etanol eklendi ve iyice karıştırıldı. Örnekler filtre tüp üzerine konuldu ve 30 saniye 13.000xg'de santrifüje edildi. Santrifüj sonrasında filtre tüp üzerine 90 µl DNase Incubation Buffer (1 M NaCl, 20 mM Tris-HCl, 10 mM MnCl<sub>2</sub>, pH 7.0) ve 10 µl DNase I ile hazırlanan çözelti eklendi ve 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi. 500 µl Yıkama Tamponu I (Wash Buffer I) (5 M guanidine-HCl, 20 mM Tris-HCl, pH 6,6) filtre tüpü üzerine konuldu ve 15 saniye 8.000xg'de santrifüje edildi. Santrifüj sonrası filtre tüpü üzerine 500 µl yıkama tamponu II (Wash Buffer II) (20 mM NaCl, 2 mM Tris-HCl, pH 7.5) eklenerek 15 saniye 8000xg'de santrifüje edildi. Daha sonra 300 µl yıkama Tamponu II (20 mM NaCl, 2 mM Tris-HCl, pH 7.5)'den eklendi ve 13.000xg'de 2 dakika santrifüje edildi. Filtre tüpü 1,5 ml'lik steril bir tüple birleştirildi ve filtre tüpü üzerine 100 µl Süzme Tamponu (Nuclease-free, sterile, double distilled water) eklendi. 1 dakika 8.000xg'de santrifüjden sonra RNA'lar filtre tüpten alınmış oldu ve -85 C'de saklandı.

### 3.4. cDNA sentezi

Gerçekleştirilen çalışmada cDNA'lar "Qiagen miScript Reverse Transcription Kit" kiti kullanılarak sentezlenmiştir. PCR koşulları ve PCR karışımı, kullanılan kit'de belirtildiği şekilde yapılmıştır (Tablo 9).

**Tablo 9.** cDNA eldesi için kullanılan çözeltiler

miScript RT Buffer, 5x	4 µl
miScript Reverse Transcriptase Mix	1 µl
RNase/DNase free su	5.0 µl
RNA örneği	10.0 µl
Toplam hacim	20 µl



cDNA sentezi, 37°C’de 60 dakika , 95 °C’de 5 dakika olacak şekilde PCR cihazı AB Applied Biosystems Veriti 96-Well Thermal Cycler ayarlanarak gerçekleştirildi.

### 3.5. Real Time PCR

#### 3.5.1. Real Time PCR ile Ürotensin 2 ifadesinin tespiti:

Human UTS2 (Cat. No: PPH02516A-200) UTS2-sense ve UTS2- antisense primerleri ile çalışıldı.

#### 3.5.2. Real Time PCR ile Ürotensin 2 Reseptor ifadesinin tespiti

Human UTS2 R bölgesi ( Cat. No: PPH14061A-200) UTS2 R -sense ve UTS2 R -antisense primerleri ile çalışıldı.

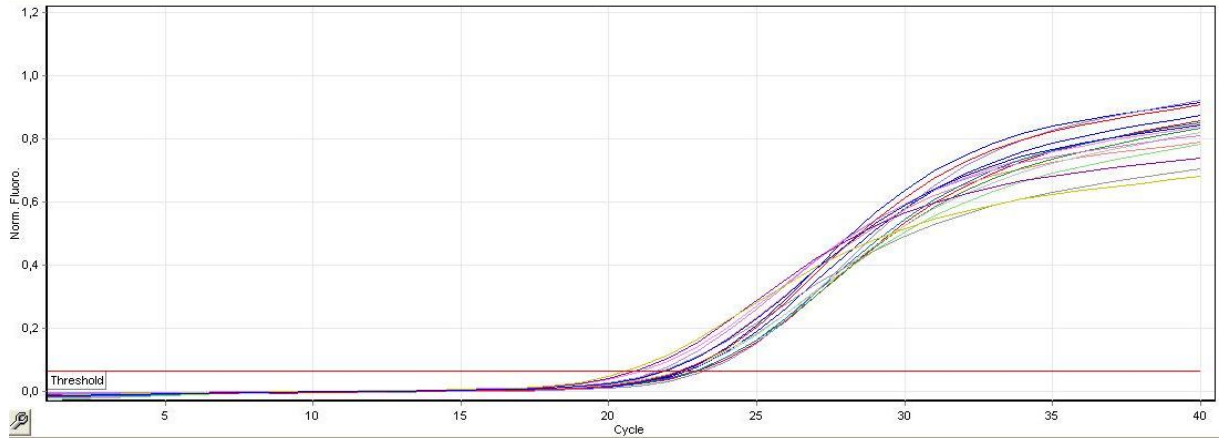
#### 3.5.3. Real Time PCR ACTB ifadesinin tespiti:

Housekeeping gen olarak ACTB ( Ref.Seq Accession no : NM\_001101.3) kullanıldı (Tablo 10).

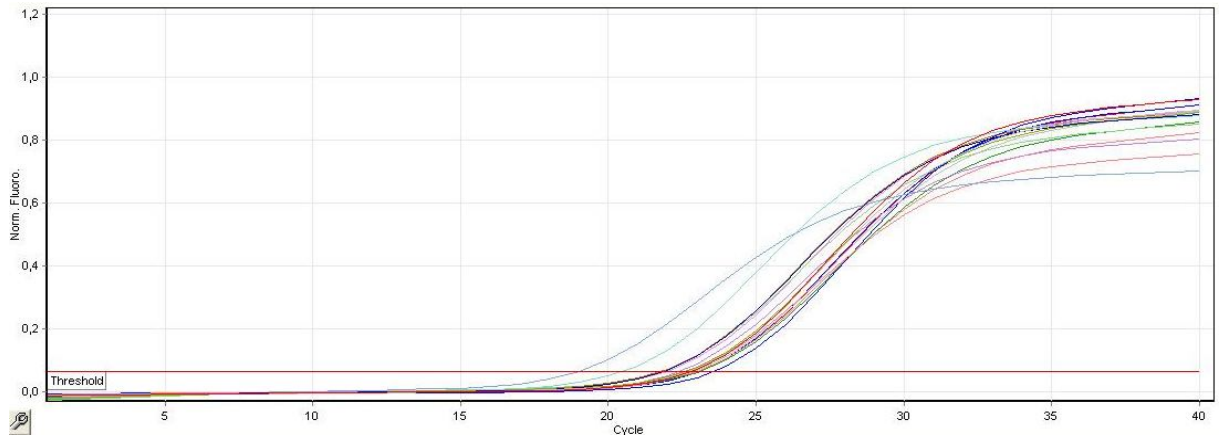
**Tablo 10.** Real time PCR için kullanılan çözeltiler

	Ürotensin 2 mix	Ürotensin 2 reseptor mix	Beta Aktin mix
2xRT <sup>2</sup> Real-Time SYBR Green PCR Master Mix	12.5 µl	12.5 µl	12.5 µl
Primer	1 µl	1 µl	1 µl
Rnase- free water	11.5 µl	11.5 µl	11.5 µl

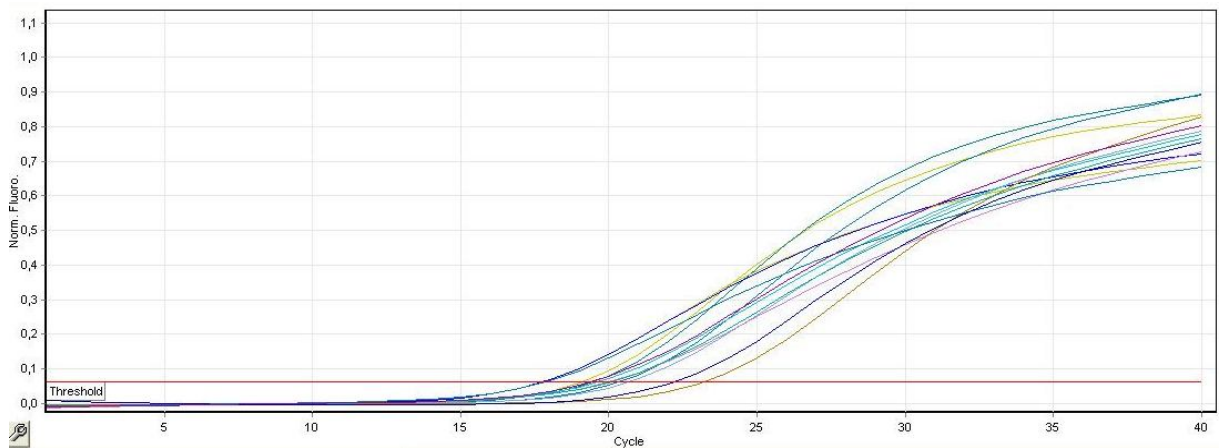
Hazırlanan her bir “mix” her hasta için 24 µl 0.1 lik tüplere dağıtıldı ve üzerine 1 µl 50 ng’ a dilüe edilmiş cDNA ilave edildi. “Qiagen Rotor-Gene Q Real-time” cihazı kullanılarak PCR yapıldı. 95 °C’de 10 dak, 40 siklus 15 saniye 95 °C , 60 sn 60 °C PCR şartlarına tabi tutuldu.



**Şekil 14.** Hastalarımızda Real Time PCR ile U2 gen ifadesinin gösterimi



**Şekil 15.** Hastalarımızda Real Time PCR'la UTR gen ifadesinin gösterimi



**Şekil 16.** Real Time PCR ACTB gen ifadesinin gösterimi

### 3.6. İstatistik Yöntem

Sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov Simirnov testi ile test edildi. İki değişken arasındaki korelasyon incelenirken değişkenlerden birisinin ordinal (sıralı kategorik) olması, her iki değişkenin de normal dağılmaması, örneklem sayısının küçük olması, x ve y arasında doğrusal bir ilişkinin olmaması durumlarında Spearman's korelasyon analizi, diğer durumlarda ise Pearson korelasyon analizi kullanıldı. İki bağımsız grubun karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi, ikiden fazla bağımsız grubun karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testleri kullanıldı. Tanıtıcı istatistik olarak frekans, yüzde ve ortalama  $\pm$  standart sapma değerleri verildi. İstatistiksel analizler için "SPSS for Windows version 11.5" paket programı kullanılmış ve  $p \leq 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

#### 4. BULGULAR

Çalışmaya Gaziantep Üniversitesi Şahinbey Araştırma ve Uygulama hastanesi'nde meme kanseri tanısı almış olan 59 kadın hasta dahil edildi. Hastaların yaş ortalaması  $49.7 \pm 12.5$  (median 48) idi. Hastaların 35 (% 58.3)'i premenopozal, 24 (% 40.7)'si postmenopozal idi. Premenopozal hastaların yaş ortalaması  $42.2 \pm 7.3$ , postmenopozal hastaların yaş ortalaması  $60.7 \pm 10.7$  idi. Hastaların % 79.7'si invazif duktal ca idi. Ekstranodal invazyon hastaların % 20.3'ünde, lenfatik invazyon % 20.3'ünde, vasküler invazyon % 20.2'sinde, perinöral invazyon % 5.1'inde saptandı. En sık görülen grad % 39 ile grade 3 idi. Hastaların % 61'inde ER, % 54.2'sinde PR pozitif saptandı. Her-2 pozitif (+3) hastaların oranı % 28.8 idi. Hastaların % 44.1'i luminal A, % 11.9'u luminal B, % 27.7'si Her-2 aşırı eksprese eden, % 15.3'ü "bazal like" özellikleri gösteriyordu. %1.7'sinin moleküler sınıflaması yapılamadı. Median tümör boyutu 4 cm idi. Hastaların % 6.8'inde uzak metastaz saptandı. Nodal tutulum açısından hastaların % 30.5'u N0, % 28.8'i N1, % 22'si N2, % 10.2'si N3 hastalık idi. En sık görülen hastalık evreleri % 44.1 ile evre 2, % 33.9 ile evre 3 en sık görülen evrelerdi. Hastalarımızın klinik ve patolojik özellikleri ayrıntılı olarak Tablo 11'de verilmiştir. Tümörlü ve normal dokularının 55'inde U2 ve UTR ekspresyonu, saptandı. Aynı hastanın tümöral dokudaki değerleri ile normal dokulardaki değerlerinin birbirlerine oranıyla istatistiğe esas teşkil eden değerler elde edildi. Hastalar U2 ve UTR değerlerine göre  $< 0.9$ ,  $0.9-1.1$ ,  $> 1.1$  olarak gruplara ayrıldı (Tablo 12-13).

**Tablo 11.** Hasta özellikleri

<b>Yaş (median)</b>	48 (24-78)
Premenopozal	44 (24-53)
Postmenopozal	61 (43-78)
<b>Cinsiyet</b>	
Kadın	59 (% 100)
<b>Menopoz durumu</b>	
Premenopozal	35 (% 59.3)
Postmenopozal	24 (% 40.7)
<b>Sigara içiciliği</b>	
Var	8 (% 13.6)
Yok	33 (% 55.9)
Bilinmiyor	18 (% 30.5)
<b>Ailede kanser öyküsü</b>	
Var	7 (%11.9)
Yok	29 (% 49.1)
Bilinmeyen	23 (% 39)
<b>Birinci derece akrabalarında kanser öyküsü</b>	
Var	7 (% 11.9)
Yok	29 (% 49.1)
Bilinmeyen	23 (% 39)
<b>Diyabetes mellitus öyküsü</b>	
Var	5 (% 8.5)
Yok	38 (% 64.4)
Bilinmeyen	16 (% 27.1)
<b>Hipertansiyon öyküsü</b>	
Var	9 (% 15.3)
Yok	34 (% 57.6)
Bilinmeyen	16 (% 27.1)
<b>Histopatoloji</b>	
İnvazif duktal ca	47 (%79.7)
İnvazif papiller	1 (%1.7)
İnvazif lobüler	4 (% 6.8)
Mikst	3 (% 5.1)
Malign içsi hücreli tümör	1 (1.7)
Medüller karsinom	1 (% 1.7)
DCIS yüksek dereceli	1 (% 1.7)
Müsinöz karsinom	1 (% 1.7)
<b>Aksiller nodal tutulumu olanlarda ekstra nodal invazyon</b>	
Var	12 (% 32.4)
Yok	37 (% 67.6)
<b>Lenfatik invazyon</b>	
Var	12 (% 20.3)
Yok	47 (% 79.7)
<b>Vasküler invazyon</b>	
Var	13 (% 22)
Yok	46 (% 78)

**Tablo 11 devamı****Perinöral invazyon**

Var	3 (% 5.1)
Yok	56 (% 94.9)
<b>Tümör grad</b>	
Grad 1	5 (% 8.5)
Grad 2	25 (% 42.3)
Grad 3	23 (% 39)
bilinmeyen	6 (% 10.2)
<b>ER durumu</b>	
pozitif	36 (% 61)
negatif	23 (% 39)
bilinmeyen	0
<b>PR durumu</b>	
Pozitif	32 (% 54.2)
Negatif	25 (% 42.4)
Bilinmeyen	2 (% 3.4)
<b>Her-2 durumu</b>	
Pozitif	17 (% 28.8)
Negatif	41 (% 69.5)
Bilinmeyen	1 (% 1.7)
<b>Median tümör boyutu (cm)</b>	4 (2-10)
<b>Uzak metastaz durumu</b>	
Var	4 (% 6.8)
Yok	51 (% 86.4)
Bilinmeyen	4 (% 6.8)
<b>Aksiller metastatik lenf nodu sayısı</b>	
N0=yok	18 (% 30.5)
N1=1-3	18 (% 28.8)
N2=4-9	13 (% 22)
N3 >10	6 (% 10.2)
Bilinmeyen	5 (% 8.5)
<b>Evre</b>	
1	4 (% 6.8)
2	26 (% 44.1)
3	20 (% 33.9)
4	4 (% 6.8)
Bilinmeyen	5 (% 8.5)

**Tablo 12. U2'ye göre hasta dağılımları**

<b>U2</b>	<b>Sayı (n)</b>	<b>% değer</b>
< 0.9	12	22.6
0.9-1.1	25	47.2
>1.1	16	30.2
Bilinmeyen	6	

**Tablo 13.** UTR'ye göre hasta dağılımları

UTR	Sayı (n)	% değer
< 0.9	7	12.7
0.9-1.1	25	45.5
>1.1	23	41.8
Bilinmeyen	4	

### 1. Yaş, U2 ve UTR

Hasta yaşı ile U2 arasında ilişki incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı ( $p=0.71$ ,  $r= -0.250$ ), her iki değerinde de dağılımı anormal olduğu için Spearman's korelasyon analizi yapıldı (Tablo 14).

**Tablo 14.** U2 ve yaş arasındaki ilişki

	N	Ortanca	Ortalama	Standart sapma	r (Spearman's)	p
Yaş	59	48	49.7797	12.57264	-0.250	0.71
U2	53	1.0108	1.0235	0.28229		

Yaşla UTR arasında istatistiksel olarak negatif zayıf bir korelasyon saptandı ( $p=0.038$ ,  $r=-0.281$ ) (Tablo 15).

**Tablo 15.** UTR ve yaş arasındaki ilişki

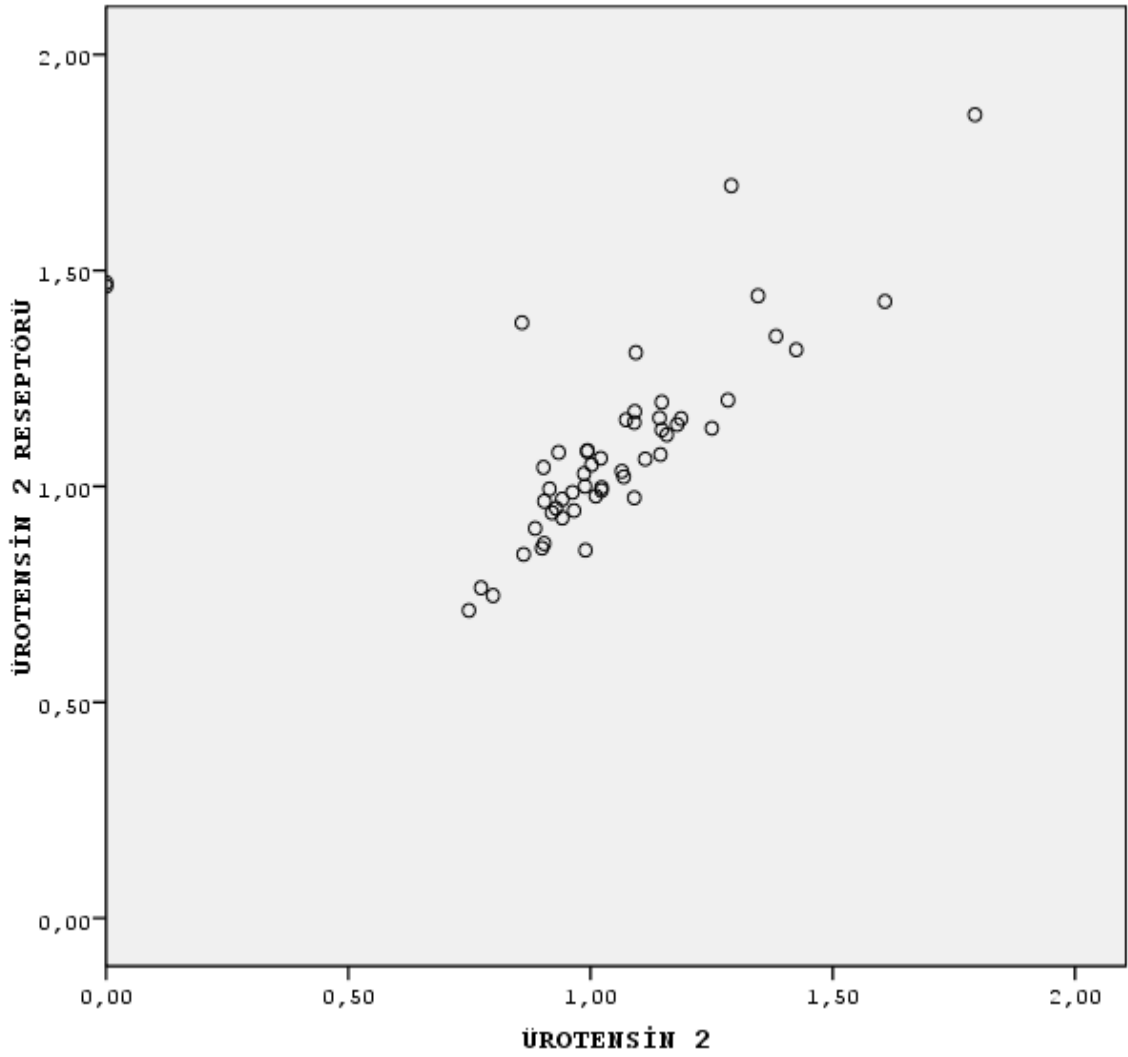
	N	Ortanca	Ortalama	Standart sapma	r (spearman's)	p
Yaş	59	48	49.7797	12.57264	-0.281	0.038
UTR	55	1.0650	1.1228	0.27928		

### 2. Ürotensin 2 ile UTR ilişkisi

U2 ile UTR arasında pozitif yüksek bir korelasyon saptandı ( $p=0.001$ ,  $r=0.632$ ) (Tablo 16 ve Şekil 17).

**Tablo 16.** U2 ve UTR arasındaki ilişki

	N	Ortanca	Ortalama	Standart sapma	r	p
U2	53	1.0108	1.0235	0.28229	0.626	0.001
UTR	55	1.0650	1.1228	0.27928		



**Şekil 17.** U2 ve UTR arasındaki pozitif ilişkinin grafiksel gösterimi

### 3. Menopoz

Premenopozal grupta U2, postmenopozal gruptan daha yüksek bulundu. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p < 0.05$ ) (Tablo 17).

**Tablo 17.** Ürotensin 2 ve menopoz ilişkisi

U2	N	Ortanca	Ortalama	Standart sapma	P (Mann-Whitney U)
Postmenopozal	22	0.9899	0.9848	0.15488	0.04
Premenopozal	31	1.0734	1.0510	0.34634	
Total	53	1.0108	1.0235	0.28279	



Hastaları U2 <0.9, 0.9-1.1, >1.1 olarak üç gruba ayırarak incelediğimizde U2 >1.1 olan grupta daha fazla premenopozal hasta dağılımı varken, <0.9 olan grupta daha fazla postmenopozal hasta dağılımı vardı (p<0.05) (Tablo 18).

**Tablo 18.** U2 için menopoz durumuna göre hasta dağılımları

Menopoz durumu	U2			Toplam	P değeri (X <sup>2</sup> )
	<0.9	0.9-1.1	>1.1		
Postmenopozal	8	12	2	22	0.011
Premenopozal	4	13	14	31	
<b>Total</b>	12	25	16	53	

Premenopozal grupta ortalama UTR, postmenopozal gruptan daha yüksek bulundu. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi (p<0.05) (Tablo 19).

**Tablo 19.** UTR ve menopoz ilişkisi

UTR	N	Ortanca	Ortalama	Standart sapma	P (Mann-Whitney U)
Postmenopozal	22	0.9956	1.0174	0.17887	0.021
Premenopozal	31	1.0831	1.1932	0.31285	
<b>Total</b>	53	1.0650	1.1228	0.27928	

Hastaları UTR düzeyi <0.9, 0.9-1.1, >1.1 olarak üç gruba ayırarak incelediğimizde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (p=0.086) (Tablo 20).

**Tablo 20.** Ürotensin 2 reseptörü için menopoz durumuna göre hasta dağılımları

Menopoz durumu	UTR			Toplam	P (X <sup>2</sup> )
	<0.9	0.9-1.1	>1.1		
Postmenopozal	5	11	6	22	0.086
Premenopozal	2	14	17	33	
<b>Toplam</b>	7	25	23	55	

#### 4. Sigara

Sigara içenler ile içmeyenler arasında UTR ve U2 değerlerinde anlamlı farklılık gözlenmedi (sırasıyla, p=0.174, p=0.196) (Tablo 21).

**Tablo 21.** Sigara içenlerle içmeyenler arasında UTR ve U2 farkı

	<b>Sigara</b>	<b>N</b>	<b>Ortanca</b>	<b>Ortalama</b>	<b>Standart sapma</b>	<b>P</b> (Mann-Whitney U)
<b>UTR</b>	<b>Yok</b>	30	0.9883	1.0886	0.33002	0.174
	<b>Var</b>	8	1.1488	1.1318	0.68420	
<b>U2</b>	<b>Yok</b>	28	0.9763	0.9863	0.28105	0.196
	<b>Var</b>	8	1.0421	1.0480	0.10883	

### 5) Ekstranodal invazyon

U2 değerleri bakımından aksiller lenf nodu tutulumu pozitif olanlarda ekstranodal invazyonu olan ve olmayan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p=0.174$ ). Ekstranodal invazyonu olmayan grupta UTR değerleri ekstranodal invazyonu olan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ( $p=0.001$ ) (Tablo 22).

**Tablo 22.** Ekstranodal invazyonu olanlarla olmayan arasında U2 ve UTR farkı

	<b>Ekstranodal invazyon</b>	<b>N</b>	<b>Ortanca</b>	<b>Ortalama</b>	<b>Standart sapma</b>	<b>P</b> (Mann-Whitney U)
<b>U2</b>	<b>Yok</b>	26	1.0710	1.0126	0.35548	0.149
	<b>Var</b>	12	0.9537	1.0112	0.19800	
<b>UTR</b>	<b>Yok</b>	26	1.1456	1.1817	0.24197	0.001
	<b>Var</b>	12	0.9680	0.9885	0.15426	

### 6. Vasküler invazyon

Vasküler invazyonu olan ve olmayan grupta U2 ve UTR bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla  $p=0.975$ ,  $p=0.736$ ) (Tablo 23).

**Tablo 23.** Vasküler invazyonu olanlarla olmayan arasında U2 ve UTR farkı

	<b>Vasküler invazyon</b>	<b>N</b>	<b>Ortanca</b>	<b>Ortalama</b>	<b>Standart sapma</b>	<b>P</b> (Mann-Whitney U)
<b>U2</b>	<b>Var</b>	13	1.0217	0.9995	0.36162	0.975
	<b>Yok</b>	40	0.9979	1.0313	0.25717	
<b>UTR</b>	<b>Var</b>	13	1.0923	1.1195	0.20111	0.736
	<b>Yok</b>	42	1.0470	1.1239	0.30147	

### 7. Lenfatik invazyon

Lenfatik invazyonu olmayan grupta U2 lenfatik invazyonu olan gruba göre istatistiksel olarak sınırda anlamlı yüksek bulundu ( $p=0.048$ ). İki grup arasında UTR açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ( $p=0.714$ ) (Tablo 24).

**Tablo 24.** Lenfatik invazyonu olanlarla olmayan arasında U2 ve UTR farkı

	<b>Lenfatik invazyon</b>	<b>N</b>	<b>Ortanca</b>	<b>Ortalama</b>	<b>Standart sapma</b>	<b>P</b> (Mann-Whitney U)
<b>U2</b>	<b>Var</b>	12	0.9122	0.8591	0.44934	0.048
	<b>Yok</b>	41	1.0168	1.0716	0.19482	
<b>UTR</b>	<b>Var</b>	12	1.0545	1.1393	0.23542	0.714
	<b>Yok</b>	43	1.0566	1.1182	0.29269	

Hastalar U2  $<0.9$ ,  $0.9-1.1$ ,  $>1.1$  olarak gruplandırıldığında lenfatik invazyonu olan grupta U2  $<0.9$  olan hastaların, lenfatik invazyonu olmayan grupta  $>1.1$  olan hastaların daha fazla dağıldığı görüldü ( $p=0.035$ ) (Tablo 25).

**Tablo 25.** U2 için lenfatik invazyon durumuna göre hasta dağılımları

<b>Lenfatik invazyon</b>	<b>U2</b>			<b>Toplam</b>	<b>P</b> ( $X^2$ )
	<b>&lt;0.9</b>	<b>0.9-1.1</b>	<b>&gt;1.1</b>		
<b>Var</b>	6	4	2	12	0.035
<b>Yok</b>	6	21	14	41	
<b>Toplam</b>	12	25	16	53	

Hastalar UTR düzeyleri  $<0.9$ ,  $0.9-1.1$ ,  $>1.1$  olarak gruplandırıldığında lenfatik invazyonu olan ve olmayanlar arasında hasta dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p=0.889$ ) (Tablo 26).

**Tablo 26.** UTR için lenfatik invazyon durumuna göre hasta dağılımları

<b>Lenfatik invazyon</b>	<b>UTR</b>			<b>Toplam</b>	<b>P</b> ( $X^2$ )
	<b>&lt;0.9</b>	<b>0.9-1.1</b>	<b>&gt;1.1</b>		
<b>Var</b>	2	5	5	12	0.889
<b>Yok</b>	5	20	18	43	
<b>Toplam</b>	7	25	23	55	

Lenfatik invazyonla vasküler invazyon arasında pozitif yüksek bir ilişki saptandı ( $p=0.001$ ). Lenfatik invazyonu olan 12 hastanın 10'unda vasküler invazyon, vasküler invazyonu olan 13 hastanın 10'nunda lenfatik invazyon mevcuttu (Tablo 27).

**Tablo 27.** Lenfatik invazyonla vasküler invazyon arasındaki ilişki

Lenfatik invazyon	Vasküler invazyon			r	P
	Var	Yok	Toplam		
Var	10	2	12	0.747	0.001
Yok	3	44	47		
Toplam	13	46	59		

### 8. İnvazif duktal karsinom olanlar ve olmayanlar

İnvazif duktal karsinom olanlarla olmayanlar arasında ortalama U2 ve UTR açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla,  $p=0.119$ ,  $p=0.107$ ) (Tablo 28).

**Tablo 28.** İnvazif duktal karsinom olanlar ve olmayanlar arasında U2 ve UTR farkı

	İnvazif duktal karsinom	N	Ortanca	Ortalama	Standart sapma	P
						(Mann-Whitney U)
U2	Evet	42	1.0226	1.0389	0.30928	0.119
	Hayır	11	0.9415	0.9647	0.13736	
UTR	Evet	43	1.0693	1.1546	0.29345	0.107
	Hayır	12	0.9703	1.0089	0.18972	

Hastalar U2 düzeylerine göre  $<0.9$ ,  $0.9-1.1$ ,  $>1.1$  olarak gruplara ayrılarak incelendiğinde invazif duktal karsinom olan ve olmayan grup arasında dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p= 0.123$ ) (Tablo 29).

**Tablo 29.** Ürotensin 2' ye göre invazif duktal karsinom olanlarla olmayanlara göre hasta dağılımları

İnvazif duktal ca	U2			Toplam	P ( $\chi^2$ )
	$<0.9$	$0.9-1.1$	$>1.1$		
Var	7	21	14	42	0.123
Yok	5	4	2	11	
Toplam	12	25	16	53	

Hastalar UTR'ye göre  $<0.9$ ,  $0.9-1.1$ ,  $>1.1$  olarak gruplara ayrılarak incelendiğinde invazif duktal karsinom olan ve olmayan grup arasında dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ( $p= 0.038$ ). UTR düzeyi  $<0.9$  olan grupta invazif duktal karsinom olan hastalar belirgin olarak daha az dağıldı (Tablo 30).

**Tablo 30.** Ürotensin 2 reseptörü için invazif duktal karsinom olanlarla olmayanlara göre hasta dağılımları

İnvazif duktal karsinom	UTR			Toplam	P ( $X^2$ )
	<0.9	0.9-1.1	>1.1		
Var	3	22	18	43	0.038
Yok	4	3	5	12	
<b>Toplam</b>	7	25	23	55	

### 9. Metaplastik tip meme karsinom

Metaplastik karsinom olanlar ile olmayanlar karşılaştırıldığında U2 ve UTR bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla, p=0.500, p=0.359) (Tablo 31).

**Tablo 31.** Metaplastik karsinom olanlarla olmayan arasında U2 ve UTR farkı

	Metaplastik	N	Ortanca	Ortalama	Standart sapma	P (Mann-Whitney U)
U2	Evet	6	0.9537	1.0067	0.14605	0.500
	Hayır	47	1.0209	1.0257	0.29672	
UTR	Evet	6	0.9804	1.0970	0.29940	0.359
	Hayır	47	1.0650	1.0986	0.21714	

### 10. Grad

Hastalar grad'lara göre gruplandırıldığında aralarında U2 ve UTR bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla, p=0.381, p=0.550) (Tablo 32).

**Tablo 32.** Tümör gradlarına göre U2 ve UTR farkı

	Grad	N	Ortanca	Ortalama	Standart sapma	P (Kruskall -Wallis)
U2	1	5	1.0902	1.1274	0.23228	0.381
	2	22	0.9889	0.9944	0.29941	
	3	21	1.0228	1.0411	0.30904	
UTR	1	5	1.1480	1.1001	0.21087	0.550
	2	23	1.0366	1.0721	0.24098	
	3	21	1.0650	1.1476	0.22997	

Hastalar U2 düzeylerine göre <0.9, 0.9-1.1, >1.1 olarak gruplara ayrılarak incelendiğinde grad'lar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı (p=0.965) (Tablo 33).

**Tablo 33.** U2'ye göre tümör gradları açısından hasta dağılımları

Grad	U2			Toplam	P ( $X^2$ )
	<0.9	0.9-1.1	>1.1		
1	1	2	2	5	0.965
2	5	11	6	22	
3	4	10	7	21	
<b>Toplam</b>	10	23	15	48	

Hastalar UTR düzeylerine göre <0.9, 0.9-1.1, >1.1 olarak gruplara ayrılarak incelendiğinde grad'ler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı (p=0.380) (Tablo 34).

**Tablo 34.** Ürotensin 2 reseptörüne göre tümör gradları açısından hasta dağılımları

Grad	UTR			Toplam	P ( $X^2$ )
	<0.9	0.9-1.1	>1.1		
1	1	0	4	5	0.380
2	4	11	8	23	
3	1	11	9	21	
<b>Toplam</b>	6	22	21	49	

### 11. Östrojen reseptörü

Östrojen reseptörü pozitif olanlarla negatif olanlar arasında U2 ve UTR açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla, p=0.820, p=0.795) (Tablo 35).

**Tablo 35.** Östrojen reseptör durumuna göre U2 ve UTR farkı

	ER	N	Ortanca	Ortalama	Standart sapma	P (Mann-Whitney U)
U2	Pozitif	32	1.0064	1.0349	0.27144	0.820
	Negatif	21	1.0209	1.0061	0.30528	
UTR	Pozitif	32	1.0618	1.0974	0.21824	0.795
	Negatif	21	1.0631	1.1000	0.23881	

Hastalar U2'ye göre <0.9, 0.9-1.1, >1.1 olarak gruplara ayrılarak incelendiğinde de ER pozitif olanlarla olmayanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p=0.807) (Tablo 36).

**Tablo 36.** Ürotensin göre ER açısından hasta dağılımları

ER	U2			Toplam	P ( $\chi^2$ )
	<0.9	0.9-1.1	>1.1		
Pozitif	8	14	10	32	0.807
Negatif	4	11	6	21	
Toplam	12	25	16	53	

Hastalar UTR'ye göre <0.9, 0.9-1.1, >1.1 olarak gruplara ayrılarak incelendiğinde de ER pozitif olanlarla olmayanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p=0.391) (Tablo 37).

**Tablo 37.** Ürotensin 2 reseptörüne göre ER açısından hasta dağılımları

ER	UTR			Toplam	P ( $\chi^2$ )
	<0.9	0.9-1.1	>1.1		
Pozitif	5	13	16	34	0.391
Negatif	2	12	7	21	
Toplam	7	25	23	55	

## 12. Progesteron reseptörü

Progesteron reseptörü pozitif olanlar ile negatif olan hastalar arasında U2 ve UTR bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla, p=0.690, p=0.528) (Tablo 38).

**Tablo 38.** Progesteron reseptör durumuna göre U2 ve UTR farkı

	PR	N	Ortanca	Ortalama	Standart sapma	P (Mann-Whitney U)
U2	Pozitif	30	1.0064	1.0490	0.28229	0.690
	Negatif	32	1.0217	1.0013	0.28801	
UTR	Pozitif	30	1.0708	1.1253	0.23571	0.528
	Negatif	32	1.0545	1.0793	0.19851	

## 13. Her-2 durumu

Her-2 pozitif olanlarla ile negatif olan hastalar arasında U2 ve UTR bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla, p=0.664, p=0.220) (Tablo 39).

**Tablo 39.** Her-2 durumuna göre U2 ve UTR farkı

	<b>Her-2 durumu</b>	<b>N</b>	<b>Ortanca</b>	<b>Ortalama</b>	<b>Standart sapma</b>	<b>P</b> (Mann-Whitney U)
<b>U2</b>	<b>Pozitif</b>	15	1.0108	0.9407	0.43852	0.664
	<b>Negatif</b>	38	1.0115	1.0562	0.18908	
<b>UTR</b>	<b>Pozitif</b>	15	1.1432	1.1591	0.23480	0.220
	<b>Negatif</b>	38	1.0470	1.0744	0.21861	

#### 14. Moleküler sınıflama

Hastalar moleküler sınıflamaya göre gruplandırıldığında U2 bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p=0.527$ ) (Tablo 40).

**Tablo 40.** Tahmini moleküler sınıflamaya göre U2 farkı

	<b>Moleküler sınıflama</b>	<b>N</b>	<b>Ortanca</b>	<b>Ortalama</b>	<b>Standart sapma</b>	<b>P</b> (Kruskall-Wallis)
<b>U2</b>	<b>Bazal benzeri</b>	8	0.9934	0.9851	0.12657	0.527
	<b>Luminal A</b>	23	0.9931	1.0609	0.21187	
	<b>Luminal B</b>	7	1.0686	1.1221	0.15902	
	<b>Her-2 aşırı eksprese eden</b>	15	1.0108	0.9407	0.43852	

Hastalar moleküler sınıflamaya göre gruplandırıldığında UTR bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p=0.444$ ) (Tablo 41).

**Tablo 41.** Tahmini moleküler sınıflamaya göre UTR farkı

	<b>Tahmini Moleküler Sınıflama</b>	<b>N</b>	<b>Ortanca</b>	<b>Ortalama</b>	<b>Standart sapma</b>	<b>P</b> (Kruskall-Wallis)
<b>UTR</b>	<b>Bazal benzeri</b>	8	1.0278	1.0094	0.13746	0.444
	<b>Luminal A</b>	23	1.0439	1.0668	0.22604	
	<b>Luminal B</b>	7	1.0631	1.1739	0.26058	
	<b>Her-2 aşırı eksprese eden</b>	15	1.1432	1.1591	0.23480	

#### 15. Tümörün T evresi

Hastalar tümörün T evresine göre gruplandırıldığında U2 bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p=0.184$ ) (Tablo 42).



**Tablo 42.** Tümörün T evresine göre U2 farkı

	<b>Tümörün T'si</b>	<b>N</b>	<b>Ortanca</b>	<b>Ortalama</b>	<b>Standart sapma</b>	<b>P</b> (Kruskall-Wallis)
<b>U2</b>	<b>T1</b>	4	0.9578	0.9932	0.11531	0.184
	<b>T2</b>	31	1.0686	1.0744	0.28852	
	<b>T3</b>	8	0.9795	0.9578	0.17160	
	<b>T4</b>	6	0.9116	0.8432	0.44866	

Hastalar tümörün T evresine göre gruplandırıldığında UTR bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p=0.525$ ) (Tablo 43).

**Tablo 43.** Tümörün T evresine göre UTR farkı

	<b>Tümörün T'si</b>	<b>N</b>	<b>Ortanca</b>	<b>Ortalama</b>	<b>Standart sapma</b>	<b>P</b> (Kruskall-Wallis)
<b>UTR</b>	<b>T1</b>	4	0.9894	0.9889	0.11203	0.525
	<b>T2</b>	31	1.0736	1.1229	0.22046	
	<b>T3</b>	8	1.0213	1.0776	0.32350	
	<b>T4</b>	6	1.0893	1.0822	0.24262	

### 16. Nodal tutulum

Nodal tutulumu olanlarla olanmayan hastalar arasında U2 ve UTR bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla,  $p=0.935$ ,  $p=0.171$ ) (Tablo 44).

**Tablo 44.** Nodal tutulumu göre U2 ve UTR farkı

	<b>Nodal tutulum</b>	<b>N</b>	<b>Ortanca</b>	<b>Ortalama</b>	<b>Standart sapma</b>	<b>p</b> (Mann-Whitney U)
<b>U2</b>	<b>Var</b>	35	1.0209	1.0192	0.32396	0.935
	<b>Yok</b>	16	1.0166	1.0453	0.19362	
<b>UTR</b>	<b>Var</b>	36	1.0650	1.1298	0.24184	0.171
	<b>Yok</b>	16	1.0127	1.0375	0.18682	

### 17. TNM evresi

Evrelere göre karşılaştırdığımızda U2 bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p=0.573$ ) (Tablo 45).

**Tablo 45.** Evrelere göre U2 farkı

	<b>Evre</b>	<b>N</b>	<b>Ortanca</b>	<b>Ortalama</b>	<b>Standart sapma</b>	<b>P</b> (Kruskall-Wallis)
<b>U2</b>	<b>1</b>	4	1.0432	1.1026	0.24357	0.573
	<b>2</b>	24	1.0023	0.9932	0.25198	
	<b>3</b>	18	1.0794	1.1155	0.25534	
	<b>4</b>	5	0.9204	0.8138	0.49315	

Evrelere göre karşılaştırdığımızda UTR bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p=0.709$ ) (Tablo 46).

**Tablo 46.** Evreler göre UTR farkı

	<b>Evre</b>	<b>N</b>	<b>Ortanca</b>	<b>Ortalama</b>	<b>Standart sapma</b>	<b>P</b> (Kruskall-Wallis)
<b>UTR</b>	<b>1</b>	4	1.0345	1.0606	0.20227	0.709
	<b>2</b>	24	1.0321	1.0321	0.18424	
	<b>3</b>	18	1.0641	1.1500	0.28034	
	<b>4</b>	5	1.1732	1.1097	0.26980	

## 5. TARTIŞMA

U2 ile ilgili araştırmaların alanı giderek büyümetedir. Bu güçlü SST benzeri peptidin 43 yıl önce keşfedilmesinden bu yana hastalıklardaki spesifik rolü ve etki mekanizmasını anlamaya yönelik bir çok araştırma yapılmıştır. Ancak U2 ve UTR'nin incelendiği çoğu çalışmada kardiyovasküler sisteme odaklanmış olup terapötik modülasyon için bu sistem potansiyel bir hedef olarak görülmüştür. Bu çalışmada U2 ve UTR'nin meme kanserindeki klinik ve patolojik parametrelerle olan potansiyel ilişkisini incelemeyi amaçladık. Bu çalışma meme kanseri ve U2 ilişkisinin incelendiği literatürdeki ilk çalışmadır.

Çalışmamızda hem meme kanserli dokuda hem de aynı hastalardan alınan tümörsüz meme dokusunda SST benzeri bir peptid olan U2 ve onun reseptörü olan UTR'nin eksprese edildiği saptandı. Meme kanserli hastalardan alınan 59 tümörlü dokunun 55'inde ve 59 normal dokunun 55'inde U2 ve UTR mRNA ekspresyonu saptandı. Meme kanserinde U2' ye benzeyen bir diğer vazoaktif polipeptid olan SSTR'nin bir indium işaretli oktreetid analogu ile in vivo reseptör görüntülemesi yapıldığında, primer meme dokusunda % 75'in üzerinde pozitif saptandığı daha önce gösterilmiştir (6). Ancak meme kanseri ve meme dokusunda U2 ve UTR'nin varlığı gösterilmemiştir. Bu çalışma şimdiye kadar meme dokusu ve meme kanser dokusunda U2 ve UTR mRNA ekspresyonunu gösteren literatürdeki ilk çalışmadır.

U2'nin kanserli dokulardaki etki mekanizması ve işlevleri yeterince bilinmemektedir. U2'nin UTR'yi aktivasyonunu takiben oluşan farklı etkilere aracılık eden sinyal ileti yolları oldukça karmaşıktır. RhoA / ROCK, ERK (169), EGFR transaktivasyonu (173), PKC, c-src tirozin kinaz, p38 ve MAPK yolağı bu iletişime dahil olur. MAPK yolağıyla UTR bağımlı iletinin bazı normal ve patolojik durumlarda önemli etkileri vardır (113). Yapılan bir çalışmada PI3K yolağının ise U2'nin santral vazopressör etkilerine dahil olmadığı görülmüştür (169). Rho / Rho-kinaz yolağı; hücre adezyonu, migrasyonu, şekil değişimleri ve sitokinezde etkili olmaktadır (174, 175). Rho proteinleri ve Rho-kinaz aktivitesinin çeşitli kanser modellerinde etkin role sahip olduğu gösterilmiştir (176, 177, 178, 179). Meme tümör dokusunda Rho proteinleri

(RhoA, B ve C) aşırı eksprese olmaktadır (180). RhoA protein düzeyleri ile artan meme tümör gradı arasında korelasyon bildirilmiştir (181). RhoC ekspresyonunu ile metastaz arasında bağlantı olduğu saptanmış ve RhoC'nin invaziv meme kanserlerinde metastazın önceden tahmininde bir tanı belirteci olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür (182, 183). Meme kanseri migrasyon ve metastazında Rho / Rho-kinaz yolağının aktif rol aldığı gösterilmiştir (184). Yapılan hücre kültürü ve hayvan deneylerinde, çeşitli Rho-kinaz inhibitörlerinin kullanımı ile kanser hücrelerinde migrasyonun ve metastaz özelliklerinin baskılandığı gösterilmiştir (185, 186, 187, 188, 189). U2 de aynı yolak üzerinden çeşitli dokularda farklı etkiler oluşturmaktadır (169). Bu nedenle U2'nin kanserlerde de rolü olabilir.

Anjiogenezin tümör büyümesi ve yayılımının önemli bir parçası olduğu gösterilmiştir. Fizyolojik anjiogenezin aksine tümörle ilişkili anjiogenez son derece düzensiz ve organizasyondan yoksundur. Damarlaşma bozuk ve vasküler geçirgenlik artmıştır. Bu nedenle son yıllarda tümör anjiogenezi sık araştırılan bir hedef olmuştur. Bu sürecin merkezinde proanjiogenik faktör ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) vardır. Bunlar reseptörleriyle birlikte hücre büyümesini ve yeni damar oluşumu düzenlerler (104). U2'nin anjiotensin 2 ile birlikte adventisyel fibroblastalarda VEGF sekresyonunu sinerjistik olarak uyardığı gösterilmiştir (190). Bu da tümör anjiogenezinde en önemli basamaklardan birini teşkil eder. U2 tümör hücrelerinde büyümeyi uyarıcı faktör olarak da görev almaktadır. U2'nin birçok hücre fenotiplerinde güçlü bir mitojenik etki oluşturduğu raporlanmıştır (119, 168). Yine yapılan bir çalışmada U2'nin kısmen Akt ve ERK yoluyla kalp kası hücrelerini doksorubisin tarafından indüklenen apoptozisten hücre sağkalımını arttırarak koruyabileceği gösterilmiştir (191). Böyle bir etkiyi kanser hücresinde de gösteriyor olabilir. Meme kanserinde tümörün prognozu ve en uygun tedavi stratejisini saptamada yaş, menopoz, tümör gradı, tümör çapı, nodal tutulum, evre, Her-2, ER ve PR durumu gibi özelliklerin bilinmesi gereklidir. Biz de çalışmamızda hastalarımızın bu özelliklerini tesbit ederek U2 mRNA ve UTR mRNA ekspresyonu ile ilişkilerini inceledik.

Plazma U2 düzeylerinin kadınlarla erkekler arasında farklılık göstermediğini gösteren birkaç çalışma vardır (192, 132). Bir çalışmada ise kadınlarda daha düşük olduğu gösterilmiştir (131). Çalışmamızda hastalarımızın tamamı kadın olduğu için normal doku ile tümörlü doku arasında U2 ve UTR bakımından cinsiyetler arasında bir

fark olup olmadığını ortaya koyamadık. Hasta yaşı ile U2 arasında ilişkiyi incelediğimizde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptamadık ( $p=0.71$ ,  $r=-0.250$ ). Hastaların yaşı ile UTR arasında ise istatistiksel olarak zayıf bir korelasyon saptandı ( $p=0.038$ ,  $r=-0.281$ ). Hasta yaşı ve cinsiyeti U2 ekspresyonunda farklılık oluşturabilir fakat bu tam olarak şimdiye kadar aydınlatılamamıştır (106).

Çalışmamızda U2 ile UTR arasında pozitif yüksek bir ilişki saptandı ( $r=0,632$ ,  $p=0,001$ ). Dokularda U2 arttıkça UTR de artmaktaydı.

Hastaların 35 (% 58.3)'i premenopozal, 24 (% 40.7)'si postmenopozal idi. Premenopozal hastaların yaş ortalaması  $42.2 \pm 7.3$ , postmenopozal hastaların yaş ortalaması  $60.7 \pm 10.7$  idi. Premenopozal ve postmenopozal grup arasında ER, PR, Her-2, grade, evre arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (sırasıyla,  $p=0.20$ ,  $p=0.62$ ,  $p=0.23$ ,  $p=0.31$ ,  $p=0.67$ ). Bununla birlikte premenopozal grupta U2, postmenopozal gruptan daha yüksek bulundu ( $p<0.04$ ). Hastaları U2'ye göre  $<0.9$ ,  $0.9-1.1$ ,  $>1.1$  olarak üç gruba ayırarak incelediğimizde de U2  $>1.1$  olan grupta daha fazla premenopozal hasta dağılımı varken,  $<0.9$  olan grupta daha fazla postmenopozal hasta dağılımı vardı ( $p<0.05$ ). Premenopozal grupta UTR, postmenopozal gruptan daha yüksek bulundu. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p<0.05$ ). İstatistiksel anlamlılığa ulaşan bu farklar iki grup arasındaki yaş farkı ile ilişkili değildi. Zira yaşla U2 arasında bir ilişki saptanmadı ( $p=0.71$ ,  $r=-0.250$ ). Yaşla UTR arasında ise zayıf bir ilişki saptandı ( $p=0.038$ ,  $r=-0.281$ ). Menopozun doğrudan etkisi olarak yorumlandı. Grieco P ve arkadaşları da prostat kanseri ve UTR ilişkisini inceledikleri bir çalışmada azalmış UTR'nin Gleason skoru  $> 7$  olan yüksek gradlı ve orta gradlı hastalarda kötü sağkalımın bir negatif prognostik belirteci olduğunu saptamışlardır (10). Bizim hastalarımızda da UTR postmenopozal grupta düşük bulundu.

Gold ve arkadaşları, sigara ile U2 düzeyleri arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmada, radyoimmünoassay (RIA) ile yapılan ölçümde sigara içenlerde plazma U2 düzeylerini yüksek bulmuşlar, aynı hastalarda immünoluminometrik assay (ILMA) ile yapılan ölçümde ise sigaranın U2 düzeylerini etkilemediğini saptamışlardır (193). Bizim çalışmamızda ise sigara içenler ile içmeyenler arasında UTR ve U2'de anlamlı farklılık görülmedi (sırasıyla,  $p=0.174$ ,  $p=0.196$ ). Bizim çalışmamız gen ekspresyon çalışması olduğundan dolayı plazma ürotensin düzeylerini yansıtmayabilir.

Ekstranodal invazyon meme kanserinde kötü prognostik faktörlerdendir. Sağkalım, hastalık özgün sağkalım, hastaliksız sağkalım ve bölgesel nüksle ilişkili bulunmuştur (194, 195, 196). Yapılan bir çalışmada ekstranodal invazyon, aksiller lenf nodu pozitif olan hastaların % 70'inde pozitif bulunmuştur (197). Türkiye' den yapılan bir çalışmada da aksiller lenf nodu pozitif olguların % 36.7'sinde ekstranodal invazyon saptanmıştır. Bizim çalışmamızda ise nodal durumu bilinen 54 hastanın 38 tanesinde aksiller lenf nodu tutulumu mevcuttu. Literatür verileri ile uyumlu olarak bu 38 hastanında 12'sinde (% 31.5) ekstranodal tutulum saptandı. U2 bakımından ekstranodal invazyonu olan ve olmayan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p=0.174$ ). Ekstranodal invazyonu olan grupta UTR ekstranodal invazyonu olmayan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ( $p<0.05$ ).

Meme kanserinde vasküler invazyon tümörün gradı, lenf nodu tutulumu ve tümör çapı ile ilişkili bulunmuştur (198, 199). Bir çalışmada meme kanserli hastaların % 35.83'ünde vasküler invazyon pozitif saptanmıştır (197). Bizim çalışmamızda ise 59 hastanın 13'ünde (% 22) vasküler invazyon saptandı. Vasküler invazyonu olan ve olmayan grupta U2 ve UTR arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla  $p=0.975$ ,  $p=0.736$ ).

Lenfatik invazyon, hem lenf nodu tutulumu pozitif hem de lenf nodu tutulumu negatif meme kanserli hastalar için bağımsız bir prognostik faktördür (56). Tümör çapı 30 mm'den küçük olan insitu ve invazif meme kanserli hastalarda yapılan bir çalışmada lenfatik invazyon tümör çapı, makrokalsifikasyon, histolojik invazivite, yaş ve satellit lezyon ile birlikte aksiller lenf nodu tutulumunun bağımsız 6 prognostik faktöründen biri olarak bulunmuştur (200). Çalışmamızda lenfatik invazyonu olmayan grupta U2 lenfatik invazyonu olan gruba göre istatistiksel olarak sınırda anlamlı yüksek bulundu ( $p<0.048$ ). İki grup arasında UTR açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ( $p=0.714$ ). Hastalar U2,  $<0.9$ ,  $0.9-1.1$ ,  $>1.1$  olarak gruplandırıldığında lenfatik invazyon olan grupta U2  $<0.9$  olan hastaların, lenfatik invazyonu olmayan grupta  $>1.1$  olan hastaların daha fazla dağıldığı görüldü ( $p<0.035$ ). Hastalar UTR  $<0.9$ ,  $0.9-1.1$ ,  $>1.1$  olarak gruplandırıldığında lenfatik invazyon olan ve olmayanlar arasında hasta dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p=0.889$ ).

Somatostatin, ERK 1 / 2 sinyallerinin inhibisyonu yoluyla karsinogeneziste önemli iki aşama olan invazyon ve migrasyonu engelleyici etkiler göstermektedir (201).

Yapılan çalışmalar genellikle meme kanserinde SSTR ekspresyonunun yaş, menopozal durum ve histolojik grad'dan bağımsız olduğunu işaret etmektedir (202). Retrospektif çalışmalar SSTR ekspresyonu gösteren meme kanserli hastaların daha uzun nüksüz sağkalıma sahip olduklarını göstermiştir (203). Ayrıca bir çalışmada ER / PR pozitif, grad 1 ve nod negatif tümörlü hastalarda SSTR2 pozitif olanların daha iyi prognoza sahip oldukları da gösterilmiştir (204). Bizim çalışmamızda da SST benzeri vazoaktif peptid olan U2 ve onun reseptörü olan UTR'nin meme kanserinde ektranodal invazyon ve lenfatik invazyon gibi prognostik belirteçlerle ilişkisini saptandı.

İnvazif karsinomların % 85-90'ı duktus epitelinden kaynaklanır. İnvazif duktal karsinom meme kanserinin en sık görülen formudur (37, 38). Meme kanserli İnvazif duktal karsinom olanlarla olmayanlar arasında ortalama fU2 ve fUTR açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla,  $p=0.119$ ,  $p=0.107$ ). Hastalar fU2 düzeylerine göre  $<0.9$ ,  $0.9-1.1$ ,  $>1.1$  olarak gruplara ayrılarak incelendiğinde invazif duktal karsinom olan ve olmayan grup arasında dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p=0.123$ ).

Memenin metaplastik karsinomu (MPK) meme kanserlerinin % 5'inden azını oluşturur. Bizim çalışmamızda 6 (% 10.2) hastada MPK görüldü. MPK Mikst epitelyal ve mezenkimal diferansiyasyon ile glandüler ve non-glandüler yapıları birlikte içerir. En popüler olan Wargotz ve Norris sınıflaması spindle hücreli, skuamous hücreli, karsinosarkom, matriks üreten ve osteoklastik dev hücreli olmak üzere 5 alt tipe ayırır. MPK daha büyük tümör çapı ve daha hızlı tümör büyümesi ile karakterizedir. Sıklıkla ER, PR ve Her-2 negatiftir. Lenfatiklerden ziyade akciğer ve kemik metastazına eğilimlidir. IDC ve İLC ile karşılaştırıldığında nüks hızında artış ve daha kötü prognozla ilişkilidir (205). Çalışmamızda metaplastik olanlar ile olmayanlar karşılaştırıldığında U2 ve UTR bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla,  $p=0.500$ ,  $p=0.359$ ).

İnvazif meme kanserlerinde grad'ın prognostik önemi vardır. Grad arttıkça diferansiyasyon azalır. Grad 3 tümörlerde nüksün arttığı gösterilmiştir (49). Hastalar grad'lara göre gruplandırıldığında aralarında U2 ve UTR bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla,  $p=0.381$ ,  $p=0.550$ ). Hastalar U2 ve UTR düzeylerine göre  $<0.9$ ,  $0.9-1.1$ ,  $>1.1$  olarak gruplara ayrılarak incelendiğinde grad'lar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla,  $p=0.965$ ,  $p=0.380$ ).

Meme kanserinde hormon reseptörünün mevcudiyetinin hem prediktif hem de prognostik önemi vardır (28, 51). ER pozitif olanlarla negatif olanlar arasında U2 ve UTR açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla,  $p=0.820$ ,  $p=0.795$ ). PR pozitif olanlarla negatif olanlar arasında U2 ve UTR bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla,  $p=0.690$ ,  $p=0.528$ ).

Meme kanserinde Her-2 aşırı ekspresyonu prognostik ve prediktif değer taşımaktadır. Ancak çalışmamızda Her-2 pozitif olanlarla negatif olanlar arasında U2 ve UTR bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla,  $p=0.664$ ,  $p=0.220$ ).

Meme kanserinde moleküler sınıflama bir dizi prognostik ve prediktif değer taşıyan genlerin mevcudiyetine dayanır (39, 40). Bu sınıflamaya göre tümör biyolojisi ve sağ kalımı farklı olan 5 alt tip; Luminal A, Luminal B, Normal meme benzeri, Her2 overeksprese eden ve bazal benzeri meme kanseri olarak tanımlanmıştır (40, 41). Hastalar tahmini moleküler sınıflamaya göre gruplandırıldığında U2 ve UTR bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla,  $p=0.527$ ,  $p=0.444$ ).

Aksiller lenf nodu metastatik olmayan meme kanserinde en önemli prognostik faktördür (46, 47, 28). Nodal tutulumu olanlarla olmayanlar arasında fU2 ve fUTR bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla,  $p=0.935$ ,  $p=0.171$ ).

Tümör çapı ve TNM evreleme sistemindeki T metastatik olmayan meme kanserinde aksiller lenf nodu tutulumundan sonra en önemli ikinci prognostik faktördür (46, 47). Hastalar tümörün T evresine göre gruplandırıldığında U2 ve UTR bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla,  $p=0.184$ ,  $p=0.525$ ). Evrelere göre karşılaştırdığımızda ise U2 ve UTR bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla,  $p=0.573$ ,  $p=0.709$ ).



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak;

1. U2 ile UTR arasında anlamlı yüksek bir pozitif ilişki bulundu.
2. Premenopozal hastalarda U2 ve UTR postmenopozal olanlardan yüksek bulundu.
3. Ekstranodal invazyonu olanlarda UTR daha düşük bulundu.
4. Lenfatik invazyonu olanlarda U2 daha düşük bulundu.

U2'nin menopoz, ekstranodal invazyon ve lenfatik invazyonla ilişkisi ilgi çekicidir. Hasta sayımızın azlığı nedeniyle prognostik ve prediktif özelliklere göre örnekler gruplandırıldığında gruplara yeterince hasta düşmemesi ortaya çıkması muhtemel bazı ilişkileri örtmüştü olabilir. Bu nedenle meme kanseri ile U2 ilişkisini anlamaya yönelik olarak daha büyük hasta gruplarında yapılacak çalışmalara ve hücre kültür çalışmalarına ihtiyaç vardır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Antoniou AC, Easton DF. Models of genetic susceptibility to breast cancer. *Oncogene*. 2006; 25(43) : 5898.
2. Wooster R, Weber BL. Breast and ovarian cancer. *N Engl J Med*. 2003;348(23): 2339
3. Foulkes WD. Inherited susceptibility to common cancers. *N Engl J Med*. 2008; 359(20): 2143.
4. Barrett SV. Breast cancer. *J R Coll Physicians Edinb*. 2010; 40(4): 335-8.
5. Normanno N, Morabito A, De Luca A, Piccirillo MC, Gallo M, Maiello MR, Perrone F. Target-based therapies in breast cancer: current status and future perspectives. *Endocr Relat Cancer*. 2009; 16(3): 675-702.
6. Watt HL, Kharmate G, Kumar U. Biology of SST in breast cancer. *Mol Cell Endocrinol*. 2008; 286(1-2): 251-61.
7. Maguire JJ, Kuc RE, Davenport AP. Orphan-receptor ligand human urotensin II: Receptor localization in human tissues and comparison of vasoconstrictor responses with endothelin-1. *Br J Pharmacol*. 2000; 131: 441-446.
8. Zhu YC, Zhu YZ, Moore PK. The role of urotensin II in cardiovascular and renal physiology and diseases. *Br J Pharmacol*. 2006; 148: 884-901.
9. T. Asano, M. Aoyagi, K. Hirakawa and Y. Ikawa, Effect of endothelin-1 as a growth factor on a human glioma cell line: its characteristic promotion of DNA synthesis. *J Neurooncol*. 1984; 18: 1-7.
10. Grieco P, Franco R, Bozzuto G, Toccaceli L, Sgambato A, Marra M, Zappavigna S, Migaldi M, Rossi G, Striano S, Marra L, Gallo L, Cittadini A, Botti G, Novellino E, Molinari A, Budillon A, Caraglia M. Urotensin II Receptor Predicts the Clinical

Outcome of Prostate Cancer Patients and Is Involved in the Regulation of Motility of Prostate Adenocarcinoma Cells. *J Cell Biochem.* 2011; 112(1):341-53.

11. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. *Cancer statistics 2012.* CA: A Cancer Journal for Clinicians. 2011

12. Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A. *Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths.* CA Cancer J Clin. 2011; 61(4):212-36.

13. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). *Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials.* Lancet. 2005; 365 (9472):1687-717.

14. 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.

15. American Cancer Society. *Cancer Facts & Figures 2011.* Atlanta, GA: American Cancer Society; 2011;2

16. Bevers, T. at all. (2010). *National Comprehensive Cancer Network Clinical Practice Guidelines in Oncology Breast Cancer Risk Reduction Version 1.2012.*

17. DeSantis C, Siegel R, Bandi P, Jemal A. *Breast cancer statistics, 2011.* CA Cancer J Clin. 2011; 61(6):409-18.

18. Yaghjian L, Colditz GA, Rosner B, Tamimi RM. *Mammographic breast density and breast cancer risk by menopausal status, postmenopausal hormone use and a family history of breast cancer.* Cancer Causes Control. 2012;23(5):785-90

19. Dupont WD, Parl FF, Hartmann WH, Brinton LA, Winfield AC, Worrell JA, et al. *Breast cancer risk associated with proliferative breast disease and atypical hyperplasia.* Cancer. 1993; 71(4):1258-65.

20. Chen Y, Thompson W, Semenciw R, Mao Y. *Epidemiology of contralateral breast cancer.* Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 1999; 8(10):855-61.

21. Courneya KS, Katzmarzyk PT, Bacon E. Physical activity and obesity in Canadian Cancer survivors: population-based estimates from the 2005 Canadian Community Health Survey. *Cancer* In pres. 2008;112(11):2475-82.
22. Evans JS, Wennberg JE, McNeil BJ. The influence of diagnostic radiography on the incidence of breast cancer and leukemia. *N Engl J Med*. 1986; 315:810-5.
23. De Bruin ML, Sparidans J, van't Veer MB. Breast cancer risk in female survivors of Hodgkin's lymphoma: lower risk after smaller radiation volumes. *J Clin Oncol*. 2009; 27(26):4239.
24. Longnecker MP, Newcomb PA, Mittendorf R, Greenberg ER, Clapp RW, Bogdan GF, et al. Risk of breast cancer in relation to lifetime alcohol consumption. *J Natl Cancer Inst*. 1995; 87(12):923-9.
25. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and breastfeeding : collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50302 women with breast cancer and 96973 women without the disease. *Lancet*. 2002; 360(9328): 187-95.
26. 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 vwithout breast cancer from 54 epidemiological studies. *Lancet*. 1996; 347(9017):1713-27.
27. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52,705 women with breast cancer and 108,411 women without breast cancer. *Lancet*. 1997; 350(9084):1047-59.
28. DeVita, Hellman, and Rosenberg's *Cancer: Principles & Practice of Oncology*, 9th Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2011: 1392-1446
29. Narod SA. Modifiers of risk of hereditary breast cancer. *Oncogene*. 2006; 25(43):5832.
30. Lakhani SR, Van De Vijver MJ, Jacquemier J, et al. The pathology of familial breast cancer: predictive value of immunohistochemical markers estrogen receptor,

progesterone receptor, HER-2, and p53 in patients with mutations in BRCA1 and BRCA2. *J Clin Oncol.* 2002; 20(9):2310

31. Kauff ND, Satagopan JM, Robson ME, et al. Risk-reducing salpingo-oophorectomy in women with a BRCA1 or BRCA2 mutation. *N Engl J Med.* 2002; 346(21):1609.

32. Garber J. Risk Factors. in: Silva EO, Zumda S (Eds.). *Breast cancer.* 3rd ed. Oxford: Elsevier Saunders. 2005; 26-53.

33. 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

34. Hankey BF, Curtis RE, Naughton MD et al. A retrospective cohort analysis of second breast cancer risk for primary breast cancer patients with an assessment of the effect of radiation therapy. *J Natl Cancer Inst.* 1983; 70: 797-804.

35. Giacotti V. Breast cancer markers. *Cancer Letters.* 2006; 243 (2): 145-159.

36. Bloom HJ, Richardson WW. Histological grading and prognosis in breast cancer; a study of 1409 cases of which 359 have been followed for 15 years. *Br J Cancer.* 1957 Sep; 11(3):359-77.

37. 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.

38. Tavassoli FA, Devillee P, eds. *World Health Organisation classification of tumours: pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs.* Lyon: IARC Pres. 2003.

39. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature.* 2000; 406(6797):747.

40. 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(19):10869.

41. Sørlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, Deng S, Johnsen H, Pesich R, Geisler S, Demeter J, Perou CM, Lonning PE, Brown PO, Børresen-Dale A-L, Botstein D. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003; 100: 8418–8423.
42. Gruvberger S, Ringnér M, Chen Y, et al. Estrogen receptor status in breast cancer is associated with remarkably distinct gene expression patterns. *Cancer Res*. 2001; 61(16):5979.
43. Van't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature*. 2002; 415(6871):530.
44. Volland HK, Caldas C. The breast cancer genome-a key for better oncology. *BMC Cancer*. 2011;11:501.
45. Edge SB, Byrd DR, Compton CC, et al., eds. *AJCC Cancer Staging Manual 7th Edition*. New York: Springer; 2010.
46. 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.
47. Henderson, I.C., Patek, A.J. The relationship between prognostic and predictive factors in the management of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 1998; 52: 261-288.
48. Hortobagyi GN. Can we cure limited metastatic breast cancer? *J Clin Oncol*. 2002; 20: 620-623.
49. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*. 1991; 19: 403-410.
50. Bernstein V, et al. How young is too young? The impact of age on premenopausal breast cancer prognosis. *Breast Cancer Res Treat*. 2002; 76:A137
51. Arpino G, Weiss H, Lee AV, et al. Estrogen receptor-positive, progesterone receptor-negative breast cancer: association with growth factor receptor expression and tamoxifen resistance. *J Natl Cancer Inst*. 2005; 97: 1254-1261.

52. Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol*. 2007; 25: 118-145.
53. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med*. 2001; 344(11):783–792.
54. Cianfrocca M, Goldstein LJ. Prognostic and predictive factors in early-stage breast cancer. *Oncologist*. 2004; 9(6):606–16.
55. Bryant J, Fisher B, Gündüz N, Costantion JP, Emir B. S-phase fraction combined with other patient and tumor characteristics for the prognosis of node-negative, estrogen-receptor-positive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 1998; 51: 239-53.
56. Davis BW, Gelber R, Goldhirsch A, et al. Prognostic significance of peritumoral vessel invasion in clinical trials of adjuvant therapy for breast cancer with axillary lymph node metastasis. *Hum Pathol*. 1985; 16: 1212-1218.
57. van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ, et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med*. 2002; 347(25):1999.
58. Piccart MJ, Loi S, Van'tVeer L, et al. Multi-center external validation study of the Amsterdam 70-gene prognostic signature in node negative untreated breast cancer: are the results still outperforming the clinical-pathological criteria? *Breast Cancer Res Treat*. 2004; 88(S17): (abst 38).
59. Goldhirsch A, Wood WC, Gelber RD, et al. Meeting highlights: updated international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer. *J Clin Oncol*. 2003; 21(17):3357.
60. Sotiriou C, Wirapati P, Loi S, et al. Gene expression profiling in breast cancer: understanding the molecular basis of histologic grade to improve prognosis. *J Natl Cancer Inst*. 2006; 98(4):262.
61. Paik S, Shak S, Tang G, et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *N Engl J Med*. 2004; 351(27):2817.

62. Albain KS, Barlow WE, Shak S, et al. Prognostic and predictive value of the 21-gene recurrence score assay in postmenopausal women with node-positive, oestrogen-receptor-positive breast cancer on chemotherapy: a retrospective analysis of a randomised trial. *Lancet Oncol.* 2010; 11(1):55.
63. Mamounas E, Tang G, Fisher B, et al. Association between the 21-gene recurrence score assay and risk of locoregional recurrence in node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer: results from NSABP B-14 and NSABP B-20. *J Clin Oncol.* 2010; 28(10):1677
64. Ma XJ, Hilsenbeck SG, Wang W, et al. The HOXB13:IL17BR expression index is a prognostic factor in early-stage breast cancer. *J Clin Oncol.* 2006; 24(28):4611
65. Ma XJ, Wang Z, Ryan PD, et al. A two-gene expression ratio predicts clinical outcome in breast cancer patients treated with tamoxifen. *Cancer Cell.* 2004; 5(6):607
66. Ayers M, Symmans WF, Stec J, et al. Gene expression profiles predict complete pathologic response to neoadjuvant paclitaxel and fluorouracil, doxorubicin, and cyclophosphamide chemotherapy in breast cancer. *J Clin Oncol.* 2004; 22(12):2284
67. Acharya CR, Hsu DS, Anders CK, et al. Gene expression signatures, clinicopathological features, and individualized therapy in breast cancer. *JAMA* 2008; 299(13):1574
68. 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(33):5287
69. Camps C, Buffa FM, Colella S, et al. hsa-miR-210 is induced by hypoxia and is an independent prognostic factor in breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2008; 14(5):1340
70. Kovalchuk O, Filkowski J, Meservy J, et al. Involvement of microRNA-451 in resistance of the MDF-7 breast cancer cells to chemotherapeutic drug doxorubicin. *Mol Cancer Ther.* 2008; 7:2152.
71. Miller T, Ghoshal K, Ramaswamy B, et al. microRNA-221/222 confers tamoxifen resistance in breast cancer by targeting p27Kip1. *J Biol Chem.* 2008; 283:29897.



72. Breast cancer NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology Version. 3.2012.
73. Gapstur SM, Morrow M, Sellers TA. Hormone replacement therapy and risk of breast cancer with a favorable histology: results of the Iowa Women's Health Study. *JAMA*. 1999; 281 (22):2091.
74. Bell DW. Our changing view of the genomic landscape of cancer. *J Pathol*. 2010; 220(2):231.
75. Wood LD, Parsons DW, Jones S, et al. The genomic landscapes of human breast and colorectal cancers. *Science*. 2007; 318(5853):1108.
76. Velculescu VE. Defining the blueprint of the cancer genome. *Carcinogenesis*. 2008; 29(6):1087.
77. Turnbull C, Rahman N. Genetic predisposition to breast cancer: past, present, and future. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2008; 9:321.
78. Hirshfield KM, Rebbeck TR, Levine AJ. Germline mutations and polymorphisms in the origins of cancers in women. *J Oncol*. 2010; 2010:297671.
79. Turner NC, Reis-Filho JS. Basal-like breast cancer and the BRCA1 phenotype. *Oncogene*. 2006; 25(43):5846.
80. Venkitaraman AR. Cancer susceptibility and the functions of BRCA1 and BRCA2. *Cell*. 2002; 108(2):171.
81. Fong PC, Boss DS, Yap TA, et al. Inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase in tumors from BRCA mutation carriers. *N Engl J Med*. 2009; 361(2):123.
82. O'Shaughnessy J, Osborne C, Pippen J, et al. Efficacy of BSI-201, a poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP1) inhibitor, in combination with gemcitabine/carboplatin (G/C) in patients with metastatic triple-negative breast cancer (TNBC): Results of a randomized phase II trial. *J Clin Oncol* 2009;27:18s.
83. Stratton MR, Rahman N. The emerging landscape of breast cancer susceptibility. *Nat Genet*. 2008; 40(1):17.

84. Hoffman AE, Zheng T, Yi C, et al. microRNA miR-196a-2 and breast cancer: a genetic and epigenetic association study and functional analysis. *Cancer Res.* 2009; 69(14):5970.
85. Forbes SA, Bhamra G, Bamford S, et al. The catalogue of somatic mutations in cancer (COSMIC). *Curr Protoc Hum Genet.* 2008; chapter 10:unit 10.11.
86. Stratton MR, Campbell PJ, Futreal PA. The cancer genome. *Nature.* 2009; 458(7239):719.
87. Copeland NG, Jenkins NA. Deciphering the genetic landscape of cancer—from genes to pathways. *Trends Genet.* 2009; 25(10):455.
88. Kao J, Pollack JR. RNA interference-based functional dissection of the 17q12 amplicon in breast cancer reveals contribution of coamplified genes. *Genes Chromosomes Cancer.* 2006; 45(8):761.
89. Barski A, Cuddapah S, Cui K, et al. High-resolution profiling of histone methylations in the human genome. *Cell* 2007; 129(4):823
90. Veeck J, Esteller M. Breast cancer epigenetics: from DNA methylation to microRNAs. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2010; 15(1):5
91. Mataga MA, Rosenthal S, Heerboth S, Devalapalli A, Kokolus S, Evans LR, Longacre M, Housman G, Sarkar S. *Anticancer Res.* Anti-breast cancer effects of histone deacetylase inhibitors and calpain inhibitor. 2012; 32(7):2523-9.
92. Zhou Q, Shaw PG, Davidson NE. Inhibition of histone deacetylase suppresses EGF signaling pathways by destabilizing EGFR mRNA in ER-negative human breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat* 2009; 117(2):443
93. Lee Y, Ahn C, Han J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature* 2003; 425(6956):415
94. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100(1):57.

95. Russo J, Russo IH. *Oncol Res. Cellular basis of breast cancer susceptibility.* 1999;11(4):169-78.
96. Yarden Y, Sliwkowski MX. *Untangling the ErbB signalling network.* *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001; 2(2):127.
97. Hudis CA. *Trastuzumab-mechanism of action and use in clinical practice.* *N Engl J Med* 2007; 357(1):39.
98. Geyer CE, Forster J, Lindquist D, Chan S, Romieu CG, Pienkowski T, Jagiello-Gruszfeld A, Crown J, Chan A, Kaufman B, Skarlos D, Campone M, Davidson N, Berger M, Oliva C, Rubin SD, Stein S, Cameron D. *Lapatinib plus capecitabine for HER2-positive advanced breast cancer.* *N Engl J Med.* 2006; 355(26):2733-43.
99. Blackwell KL, Burstein HJ, Storniolo AM, Rugo HS, Sledge G, Aktan G, Ellis C, Florance A, Vukelja S, Bischoff J, Baselga J, O'Shaughnessy J. *Overall survival benefit with lapatinib in combination with trastuzumab for patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic breast cancer: final results from the EGF104900 Study.* *J Clin Oncol.* 2012; 30(21):2585-92
100. Kucab JE, Dunn SE. *Role of IGF-1R in mediating breast cancer invasion and metastasis.* *Breast Dis* 2003; 17: 41–7.
- 101 Beaver JA, Park BH. *The BOLERO-2 trial: the addition of everolimus to exemestane in the treatment of postmenopausal hormone receptor-positive advanced breast cancer.* *Future Oncol.* 2012; 8(6):651-7.
102. Gradishar WJ. *Sorafenib in locally advanced or metastatic breast cancer.* *Expert Opin Investig Drugs.* 2012; 21(8):1177-91.
103. Folkman J. *Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease.* *Nat Med.* 1995; 1(1):27-31. Review.
104. Ellis LM, Hicklin DJ. *VEGF-targeted therapy: mechanisms of anti-tumour activity.* *Nat Rev Cancer.* 2008; 8(8):579.
105. Miller KD, Wang M, Gralow J, et al. *A randomized phase III trial of paclitaxel versus paclitaxel plus bevacizumab as first-line therapy for locally recurrent or*

metastatic breast cancer: a trial coordinated by the Eastern Cooperative Group (E2100). *Breast Cancer Res Treat* 2005b;94:S6

106. D. Pearson, J.E. Shively, B.R. Clark, I.I. Geschwind, M. Barkley, R.S. Nishioka and H.A. Bern, Urotensin II: a SST-like peptide in the caudal neurosecretory system of fishes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 77 (1980): 5021-5024.

107. Ross B, McKendy K, Giaid A. Role of urotensin II in health and disease. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2010; 298(5):R1156-72. Review.

108. Ames RS, Sarau HM, Chambers JK, Willette RN, Aiyar NV, Romanic AM, Loudon CS, Foley JJ, Sauermelch CF, Coatney RW, Ao Z, Disa J, Holmes SD, Stadel JM, Martin JD, Liu WS, Glover GI, Wilson S, McNulty DE, Ellis CE, Elshourbagy NA, Shabon U, Trill JJ, Hay DW, Ohlstein EH, Bergsma DJ, Douglas SA. Human urotensin-II is a potent vasoconstrictor and agonist for the orphan receptor GPR14. *Nature*. 1999 Sep 16; 401(6750):282-6. Erratum in: *Nature*. 1999; 402(6764):898.

109. Charles CJ, Rademaker MT, Richards AM, Yandle TG. Urotensin II: evidence for cardiac, hepatic and renal production. *Peptides*. 2005; 26(11):2211-4.

110. R.S. Ames, H.M. Sarau, J.K. Cambers et al., Human urotensin II is a potent vasoconstrictor and agonist for the orphan receptor GPR14. *Nature*. 401 (1999): 282–286.

111. Liu Q, Pong SS, Zeng Z, Zhang Q, Howard AD, Williams DL, Davidoff M, Wang R, Austin CP, McDonald TP, Bai C, George SR, Evans JF, Caskey CT. Identification of urotensin II as the endogenous ligand for the orphan G-protein-coupled receptor GPR14. *Biochem Biophys Res Commun*. 266: 174–178, 1999.

112. Lavecchia A, Cosconati S, Novellino E. Architecture of the human urotensin II receptor: comparison of the binding domains of peptide and non-peptide urotensin II agonists. *J Med Chem*. 2005; 48(7):2480-92.

113. Marchese A, Heiber M, Nguyen T, Heng HH, Saldivia VR, Cheng R, Murphy PM, Tsui LC, Shi X, Gregor P, George SR, O'Dowd BF, Docherty JM. Cloning and chromosomal mapping of three novel genes, GPR9, GPR10, and GPR14, encoding receptors related to interleukin 8, neuropeptide Y, and SST receptors. *Genomics*. 1995; 29: 335–344.

114. Proulx CD, Holleran BJ, Lavigne P, Escher E, Guillemette G, Leduc R. Biological properties and functional determinants of the urotensin II receptor. *Peptides*. 2008; 29(5):691-9.
115. Sáez ME, Smani T, Ramírez-Lorca R, Díaz I, Serrano-Ríos M, Ruiz A, Ordoñez A. Association analysis of urotensin II gene (UTS2) and flanking regions with biochemical parameters related to insulin resistance. *PLoS One*. 2011 ; 6(4):19327.
116. Sugo T, Murakami Y, Shimomura Y, Harada M, Abe M, Ishibashi Y, et al. Identification of urotensin II-related peptide as the urotensin II immunoreactive molecule in the rat brain. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003; 310:860-8.
117. Pelletier G, Lihmann I, Dubessy C, Luu-The V, Vaudry H, Labrie F. Androgenic down-regulation of urotensin II precursor, urotensin II-related peptide precursor and androgen receptor mRNA in the mouse spinal cord. *Neuroscience*. 2005; 132:689-96.
118. Malagon MM, Molina M, Gahete MD, Duran-Prado M, Martinez- Fuentes AJ, Alcain FJ, Tonon MC, Leprince J, Vaudry H, Castaño JP, Vazquez-Martinez R. Urotensin II and urotensin II-related peptide activate SST receptor subtypes 2 and 5. *Peptides*. 29: 711-720, 2008.
119. Marco J, Egido EM, Hernández R, Silvestre RA. Evidence for endogenous urotensin-II as an inhibitor of insulin secretion: study in the perfused rat pancreas. *Peptides*. 29: 852–858, 2008.
120. Yoshimoto T, Matsushita M, and Hirata Y. Role of urotensin II in peripheral tissues as an autocrine/paracrine growth factor. *Peptides*. 2004; 25(10):1775-81. Review.
121. Affolter JT, Newby DE, Wilkinson IB, Winter MJ, Balment RJ, Webb DJ. No effect on central or peripheral blood pressure of systemic urotensin II infusion in humans. *Br J Clin Pharmacol*. 54: 617–621, 2002.
122. Maguire JJ, Davenport AP. Is urotensin-II the new endothelin? *Br J Pharmacol*. 137: 579-588, 2002.
123. Flohr S, Kurz M, Kostenis E, Brkovich A, Fournier A, Klabunde T. Identification of nonpeptidic urotensin II receptor antagonists by virtual screening based on a

pharmacophore model derived from structure-activity relationships and nuclear magnetic resonance studies on urotensin II. *J Med Chem.* 45: 1799-1805, 2002.

124. Boucard A, Sauvé S, Guillemette G, Escher E, Leduc R. Photolabelling the rat urotensin II/GPR14 receptor identifies a ligand-binding site in the fourth transmembrane domain. *Biochem J.* 370: 829-838, 2003.

125. Boivin S, Guilhaudis L, Milazzo I, Oulyadi H, Davoust D, Fournier A. Characterization of urotensin-II receptor structural domains involved in the recognition of U-II, URP, and urantide. *Biochemistry.* 45: 5993-6002, 2006.

126. M.R. MacLean, D. Alexander, A. Stirrat et al., Contractile responses to human urotensin-II in rat and human pulmonary arteries: effect of endothelial factors and chronic hypoxia in the rat. *Brit J Pharmacol.* 130 (2000): 201–204.

127. Yoshimoto T, Matsushita M, Hirata Y. Architecture of the human urotensin II receptor: comparison of the binding domains of peptide and non-peptide urotensin II agonists. *J Med Chem.* 2005; 48(7):2480-92.

128. Douglas SA, Ohlstein EH. Human urotensin-II, the most potent mammalian vasoconstrictor identified to date, as a therapeutic target for the management of cardiovascular disease. *Trends Cardiovasc Med.* 2000; 10(6):229-37. Review.

129. Matsushita M, Shichiri M, Imai T, Iwashina M, Tanaka H, Takasu N and Hirata Y: Co-expression of urotensin II and its receptor (GPR14) in human cardiovascular and renal tissues. *J Hypertens.* 19: 2185-2190, 2001.

130. Tölle M, van der Giet M. Cardiorenovascular effects of urotensin II and the relevance of the UT receptor. *Peptides.* 2008; 29(5):743-63. Review.

131. Lim M, Honisett S, Sparkes CD, Komesaroff P, Kompa A, Krum H. Differential effect of urotensin II on vascular tone in normal subjects and patients with chronic heart failure. *Circulation.* 2004; 109:1212-1214.

132. Ng LL, Loke I, O'Brien RJ, Squire IB, Davies JE. Plasma urotensin in human systolic heart failure. *Circulation.* 2002; 106: 2877-2880.

133. Cheung BM, Leung R, Man YB, Wong LY. Plasma concentration of urotensin II is raised in hypertension. *J Hypertens*. 2004; 22: 1341-1344.
134. Totsune K, Takahashi K, Arihara Z, Sone M, Satoh F, Ito S, Kimura Y, Sasano H, Murakami O. Role of urotensin II in patients on dialysis. *Lancet*. 2001; 358: 810–811.
135. Heller J, Schepke M, Neef M, Woitas R, Rabe C, Sauerbruch T. Increased urotensin II plasma levels in patients with cirrhosis and portal hypertension. *J Hepatol*. 2002; 37:767–772.
136. Bousette N, Patel L, Douglas SA, Ohlstein EH, Giaid A. Increased expression of urotensin II and its cognate receptor GPR14 in atherosclerotic lesions of the human aorta. *Atherosclerosis*. 2004; 176:117-123.
137. Gruson D, Rousseau MF, Ahn SA, van Linden F, Ketelslegers JM. Circulating urotensin II levels in moderate to severe congestive heart failure: its relations with myocardial function and well established neurohormonal markers. *Peptides* 27: 1527–1531, 2006.
138. Ozer O, Davutoglu V, Ercan S, Akcay M, Sari I, Sucu M, Celik A, Aksoy N, Cicek H, Al B. Plasma urotensin II as a marker for severity of rheumatic valve disease. *Tohoku J Exp Med*. 218: 57–62, 2009.
139. Suguro T, Watanabe T, Kodate S, Xu G, Hirano T, Adachi M, Miyazaki A. Increased plasma urotensin-II levels are associated with diabetic retinopathy and carotid atherosclerosis in Type 2 diabetes. *Clin Sci*. 115: 327–334, 2008.
140. Wilkinson IB, Affolter JT, de Haas SL, Pellegrini MP, Boyd J, Winter MJ, Balment RJ, Webb DJ. High plasma concentrations of human urotensin II do not alter local or systemic hemodynamics in man. *Cardiovasc Res*. 2002; 53(2):341-7.
141. Watanabe T, Kanome T, Miyazaki A, Katagiri T. Human urotensin II as a link between hypertension and coronary artery disease. *Hypertens Res*. 29: 375–387, 2006.
142. Papadopoulos P, Bousette N, Al-Ramli W, You Z, Behm DJ, Ohlstein EH, Harrison SM, Douglas SA, Giaid A. Targeted overexpression of the human urotensin receptor transgene in smooth muscle cells: effect of UT antagonism in ApoE knockout mice fed with Western diet. *Atherosclerosis*. 204: 395–404, 2009.

143. Totsune K, Takahashi K, Arihara Z, Sone M, Ito S, Murakami O. Increased plasma urotensin II levels in patients with diabetes mellitus. *Clin Sci*. 2003; 104(1):1-5.
144. Totsune K, Takahashi K, Arihara Z, Sone M, Murakami O, Ito S, Kikuya M, Ohkubo T, Hashimoto J, Imai Y. Elevated plasma levels of immunoreactive urotensin II and its increased urinary excretion in patients with Type 2 diabetes mellitus: association with progress of diabetic nephropathy. *Peptides*. 25: 1809–1814, 2004.
145. Langham RG, Kelly DJ, Gow RM, Zhang Y, Dowling JK, Thomson NM, Gilbert RE. Increased expression of urotensin II and urotensin II receptor in human diabetic nephropathy. *Am J Kidney Dis*. 44: 826–831, 2004.
146. Mallamaci F, Pizzini P, Tripepi G, Zoccali C. Urotensin II in end-stage renal disease: an inverse correlate of sympathetic function and cardiac natriuretic peptides. *J Nephrol*. 18: 727–732, 2005.
147. Mallamaci F, Cutrupi S, Pizzini P, Tripepi G, Zoccali C. Urotensin II and biomarkers of endothelial activation and atherosclerosis in end-stage renal disease. *Am J Hypertens*. 19: 505-510, 2006.
148. Sauzeau V, Mellionec EL, Bertoglio J, Scalbert E, Pacaud P, Loirand G. Human urotensin II-induced contraction and arterial smooth muscle cell proliferation are mediated by RhoA and Rho-kinase. *Circ Res*. 2001; 88: 1102–1104.
149. Watanabe T, Suguro T, Kanome T, Sakamoto Y, Kodate S, Hagiwara T, Hongo S, Hirano T, Adachi M, Miyazaki A. Human urotensin II accelerates foam cell formation in human monocyte-derived macrophages. *Hypertension*. 2005; 46(4):738-44.
150. Russell FD, Molenaar P. Investigation of signaling pathways that mediate the inotropic effect of urotensin-II in human heart. *Cardiovasc Res*. 2004; 63:673-681.
151. Tzanidis A, Hannan RD, Thomas WG, Onan D, Autelitano DJ, See F, et al. Direct actions of urotensin II on the heart: Implications for cardiac fibrosis and hypertrophy. *Circ Res*. 2003; 93:246-253.
152. Ribatti D, Vacca A and Presta M: The discovery of angiogenic factors: a historical review. *Gen Pharmacol*. 35: 227-231, 2002.



153. Clozel M, Binkert C, Birker-Robaczewska M, Boukhadra C, Ding SS, Fischli W, Hess P, Mathys B, Morrison K, Müller C, Müller C, Nayler O, Qiu C, Rey M, Scherz MW, Velker J, Weller T, Xi JF, Ziltener P. Pharmacology of the urotensin-II receptor antagonist palosuran (ACT-058362; 1-[2-(4-benzyl-4-hydroxy-piperidin-1-yl)-ethyl]-3-(2-methyl-quinolin-4-yl)-urea sulfate salt): first demonstration of a pathophysiological role of the urotensin System. *J Pharmacol Exp Ther.* 2004; 311(1):204-12.
154. Spinazzi R, Albertin G, Nico B, Guidolin D, Di Liddo R, Rossi GP, Ribatti D, Nussdorfer GG. Urotensin-II and its receptor (UT-R) are expressed in rat brain endothelial cells, and urotensin-II via UT-R stimulates angiogenesis in vivo and in vitro. *Int J Mol Med.* 2006; 18(6):1107-12.
155. Tsoukas P, Kane E, Giaid A. Potential Clinical Implications of the Urotensin II Receptor Antagonists. *Front Pharmacol.* 2011; 2: 38.
156. M. Kushihara, K. Yamaguchi, K. Nagasaki et al., Production of endothelin in human cancer cell lines. *Cancer Res.* 1990; 50: 3257–3261.
157. M. Shichiri, Y. Hirata, T. Nakajima et al., Endothelin-1 is an autocrine/paracrine growth factor for human cancer cell lines. *J Clin Invest.* 1991; 87:1867–1871.
158. M. Sone, K. Takahashi, K. Totsune et al., Expression of endothelin-1 and endothelin receptors in cultured human glioblastoma cells. *J Cardiovasc Pharmacol* 26 Suppl 1. 2000; 390–392.
159. K. Takahashi, E. Hara, O. Murakami et al., Production and secretion of endothelin-1 by cultured choroid plexus carcinoma cells. *J Cardiovasc Pharmacol* 31 Suppl 1. 1998;367–369.
160. K. Takahashi, M. Nakayama and S. Shibahara, Production and secretion of neuropeptides by nervous system tumors. *Canc J.* 1998; 11: 237–241. Review.
161. K. Takahashi, A. Yoshinoya, O. Murakami, K. Totsune and S. Shibahara, Production and secretion of two vasoactive peptides, adrenomedullin and endothelin-1, by cultured human adrenocortical carcinoma cells. *Peptides.* 2000; 21: 251–256.
162. M.J. Miller, A. Martinez, E.J. Unsworth et al., Adrenomedullin expression in human tumor cell lines. *J Biol Chem.* 1996; 271: 23345–23351.

163. Takahashi K, Totsune K, Murakami O, Shibahara S. Expression of urotensin II and urotensin II receptor mRNAs in various human tumor cell lines and secretion of urotensin II-like immunoreactivity by SW-13 adrenocortical carcinoma cells. *Peptides*. 2001; 22 (7): 1175-1179.
164. Douglas SA, Naselsky D, Ao Z, Disa J, Herold CL, Lynch F, Aiyar NV. Identification and pharmacological characterization of native, functional human urotensin-II receptors in rhabdomyosarcoma cell lines. *Br J Pharmacol*. 2004; 142(6): 921-32.
165. Wu YQ, Song Z, Zhou CH, Xing SH, Pei DS, Zheng JN. Expression of urotensin II and its receptor in human lung adenocarcinoma A549 cells and the effect of urotensin II on lung adenocarcinoma growth in vitro and in vivo. *Oncol Rep*. 2010; 24 (5):1179-84.
166. Morimoto R, Satoh F, Murakami O, Totsune K, Arai Y, Suzuki T, Sasano H, Ito S, Takahashi K. Immunolocalization of urotensin II and its receptor in human adrenal tumors and attached non-neoplastic adrenal tissues. *Peptides*. 2008; 29(5): 873-80.
167. Shenouda A, Douglas SA, Ohlstein EH, Giaid A. Localization of urotensin-II immunoreactivity in normal human kidneys and renal carcinoma. *J Histochem Cytochem*. 2002; 50 (7): 885-9.
168. Takahashi K, Totsune K, Murakami O, Arihara Z, Noshiro T, Hayashi Y and Shibahara S: Expression of urotensin II and its receptor in adrenal tumors and stimulation of proliferation of cultured tumor cells by urotensin II. *Peptides*. 2003; 24: 301-306.
169. Lin Y, Matsumura K, Tsuchihashi T, Fukuhara M, Fujii K, Iida M. Role of ERK and Rho kinase pathways in central pressor action of urotensin II. *J Hypertens*. 2004; 22 (5): 983-8.
170. Zeng ZP, Liu GQ, Li HZ, Fan XR, Liu DM, Tong AL, Zheng X, Liu C. The effects of urotensin-II on proliferation of pheochromocytoma cells and mRNA expression of urotensin-II and its receptor in pheochromocytoma tissues. *Ann N Y Acad Sci*. 2006; 1073: 284-289.
171. Takahashi K, Totsune K, Kitamuro T, Sone M, Murakami O, Shibahara S. Three vasoactive peptides, endothelin-1, adrenomedullin and urotensin-II, in human tumour

cell lines of different origin: expression and effects on proliferation. *Clin Sci*. 2002; 103 Suppl 48:35S-38S.

172. Giuliani L, Lenzini L, Antonello M, Aldighieri E, Belloni AS, Fassina A, Gomez-Sanchez C, Rossi GP. Expression and functional role of angiotensin-II and its receptor in the adrenal cortex and medulla: novel insights for the pathophysiology of primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009; 94: 684–690.

173. Liu JC, Chen CH, Chen JJ, Cheng TH. Urotensin II induces rat cardiomyocyte hypertrophy via the transient oxidization of Src homology 2-containing tyrosine phosphatase and transactivation of epidermal growth factor receptor. *Mol Pharmacol*. 2009; 76 (6): 1186-95.

174. Kimura K, Ito M, Amano M, Chihara K, Fukata Y, Nakafuku M, et al. Regulation of myosin phosphatase by Rho and Rho-associated kinase (Rho-kinase). *Science*. 1996; 273:245-8.

175. Fukata Y, Oshiro N, Kinoshita N, Kawano Y, Matsuoka Y, Bennett V, et al. Phosphorylation of adducin by Rho-kinase plays a crucial role in cell motility. *J Cell Biol*. 1999; 145:347-61.

176. van Nieuw Amerongen GP, van Hinsbergh VW. Cytoskeletal effects of rho-like small guanine nucleotide-binding proteins in the vascular system. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001; 21:300-11.

177. Ying H, Biroc SL, Li WW, Alicke B, Xuan JA, Pagila R, et al. Rho kinase inhibitor fasudil inhibits tumor progression in human and rat tumor models. *Mol Cancer Ther*. 2006; 5:2158-64.

178. Kamai T, Arai K, Sumi S, Tsujii T, Honda M, Yamanishi T, et al. The rho/rho-kinase pathway is involved in the progression of testicular germ cell tumour. *BJU Int*. 2002; 89:449-53.

179. Yoshinaga K, Inoue H, Tanaka F, Mimori K, Utsunomiya T, Mori M. Platelet-derived endothelial cell growth factor mediates Rho-associated coiled-coil domain kinase messenger RNA expression and promotes cell motility. *Ann Surg Oncol*. 2003; 10:582-7.

180. Fritz G, Brchetti C, Bahlmann F, Schmidt M, Kaina B. Rho GTPases in human breast tumours: expression and mutation analyses and correlation with clinical parameters. *Br J Cancer*. 2002; 87:635-44.
181. Fritz G, Just I, Kaina B. Rho GTPases are over-expressed in human tumors. *Int J Cancer*. 1999; 81:682-7.
182. Klier CG, van Golen KL, Zhang Y, Wu ZF, Rubin MA, Merajver SD. Characterization of RhoC expression in benign and malignant breast disease: a potential new marker for small breast carcinomas with metastatic ability. *Am J Pathol*. 2002; 160:579-84.
183. Klier CG, Griffith KA, Sabel MS, Gallagher G, van Golen KL, Wu ZF, et al. RhoC-GTPase is a novel tissue biomarker associated with biologically aggressive carcinomas of the breast. *Breast Cancer Res Treat*. 2005; 93: 101-10.
184. Lin M, van Golen KL. Rho-regulatory proteins in breast cancer cell motility and invasion. *Breast Cancer Res Treat*. 2004; 84:49-60.
185. Takamura M, Sakamoto M, Genda T, Ichida T, Asakura H, Hirohashi S. Inhibition of intrahepatic metastasis of human hepatocellular carcinoma by Rho-associated protein kinase inhibitor Y-27632. *Hepatology*. 2001; 33:577-81.
186. Lawler K, Foran E, O'Sullivan G, Long A, Kenny D. Mobility and invasiveness of metastatic esophageal cancer are potentiated by shear stress in a ROCK- and Ras-dependent manner. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2006; 291:C668-77.
187. Ogawa T, Tashiro H, Miyata Y, Ushitora Y, Fudaba Y, Kobayashi T, et al. Rho-associated kinase inhibitor reduces tumor recurrence after liver transplantation in a rat hepatoma model. *Am J Transplant*. 2007; 7:347-55.
188. Nakajima M, Hayashi K, Egi Y, Katayama K, Amano Y, Uehata M, et al. Effect of Wf-536, a novel ROCK inhibitor, against metastasis of B16 melanoma. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2003; 52:319-24.
189. Nakajima M, Hayashi K, Katayama K, Amano Y, Egi Y, Uehata M, et al. Wf-536 prevents tumor metastasis by inhibiting both tumor motility and angiogenic actions. *Eur J Pharmacol*. 2003; 459:113-20.

190. Song N, Ding W, Chu S, Zhao J, Dong X, Di B, Tang C. Urotensin II stimulates vascular endothelial growth factor secretion from adventitial fibroblasts in synergy with angiotensin II. *Circ J*. 2012; 76(5):1267-73.
191. Chen YL, Loh SH, Chen JJ, Tsai CS. Urotensin II prevents cardiomyocyte apoptosis induced by doxorubicin via Akt and ERK. *Eur J Pharmacol*. 2012; 680 (1-3):88-94.
192. Bicak U, Karabiber H, Ozerol HI, Aslan M, Ilhan A, Yakinci C. Possible pathogenic link between migraine and urotensin-II. *J Child Neurol*. 2008; 23: 1249–1253.
193. Gold, S.J., et al., Does cigarette smoking increase plasma urotensin II concentrations? *Eur J Clin Pharmacol*, 2007; 63(3): 253-7.
194. Bucci JA, Kennedy CW, Burn J, Gillett DJ, Carmalt HL, Donnellan MJ, Joseph MG, Pendlebury SC. Implications of extranodal spread in node positive breast cancer: a review of survival and local recurrence. *Breast*. 2001; 10 (3): 213-9.
195. Goldstein NS. The significance of extracapsular axillary lymph node extension by metastatic breast cancer. *Int J Surg Pathol*. 1995; 3:65-6.
196. Altinyollar H, Berberoğlu U, Gülben K, Irkin F. The correlation of extranodal invasion with other prognostic parameters in lymph node positive breast cancer. *J Surg Oncol*. 2007; 95(7):567-71.
197. Ahmad Z, Khurshid A, Qureshi A, Idress R, Asghar N, Kayani N. Breast carcinoma grading, estimation of tumor size, axillary lymph node status, staging, and nottingham prognostic index scoring on mastectomy specimens. *Indian J Pathol Microbiol*. 2009; 52(4):477-81.
198. Fisher ER, Anderson S, Tan-Chin E, Fisher B, Eaton L, Wolmark N. Fifteen Year prognostic discriminants for invasive breast carcinoma: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol-06. *Cancer*. 2001; 91: 1679-88.
199. Pinder SE, Ellis IO, Galea M, O' Rourke S, Blamey RW, Elston CW. Pathological prognostic factors in breast cancer. III Vascular invasion. Relationship with recurrence and survival in a large study with long term followup. *Histopathology*. 1994; 24:41-7.

200. Mitsuyama S, Anan K, Toyoshima S, Nishihara K, Abe Y, Iwashita T, Ihara T, Nakahara S, Katsumoto F, Tamae K, Abe R, Hachitanda Y. Histopathological Predictors of Axillary Lymph Node Metastases in Patients with Breast Cancer. *Breast Cancer*. 1999; 6 (3): 237-241.
201. Pola S, Cattaneo MG, Vicentini LM. Anti-migratory and anti-invasive effect of SST in human neuroblastoma cells: involvement of Rac and MAP kinase activity. *J Biol Chem*. 2003; 278 (42): 40601-6.
202. Schulz S, Schulz S, Schmitt J, Wiborny D, Schmidt H, Olbricht S, Weise W, Roessner A, Gramsch C, Höllt V. Immunocytochemical detection of SST receptors sst1, sst2A, sst2B, and sst3 in paraffin-embedded breast cancer tissue using subtype-specific antibodies. *Clin Cancer Res*. 1998; 4 (9): 2047-52.
203. Foekens, J.A., Portengen, H., van Putten, W.L.J., Trapman, A., Reubi, J.C., Alexieva-Figusch, J., Klijn, J.G.M., Prognostic value of receptors for insulin-like growth factor 1, SST, and epidermal growth factor in human breast cancer. *Cancer Res*. 1989;49:7002-7009.
204. Cameron Smith, M., Orlando, C., Serio, M., Maggi, M., SST receptors and breast cancer. *J. Endocrinol. Invest*. 2003; 26: 124-130.
205. Leddy R, Irshad A, Rumboldt T, Cluver A, Campbell A, Ackerman S. Review of metaplastic carcinoma of the breast: imaging findings and pathologic features. *J Clin Imaging Sci*. 2012; 2:21.

T.C.  
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK DEĞERLENDİRME KOMİSYONU  
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU					
	ARAŞTIRMA ADI	177 Meme kanserinde ürotensin II nin klinik ve patolojik parametrelerle ilişkisi				
	SORUMLU ARAŞTIRICI UNVAN/ADI-SOYADI	Prof.Dr.Celalettin CAMCI Tıp Fak. Tıbbi Onkoloji B.D				
	YARDIMCI ARAŞTIRICI UNVANI/ADI-SOYADI	Prof.Dr.Abdullah AYDIN Tıp Fak. Patoloji A.D Yrd.Doç.Dr.Serdar ÖZTUZCU Tıp Fak. Tıbbi Biyoloji A.D Uzm.Dr.Ozan BALAKAN Tıp Fak. Tıbbi Onkoloji B.D Uzm.Dr.Ali SÜNER Tıp Fak. Tıbbi Onkoloji B.D				
	KOORDİNATÖR MERKEZ					
	DESTEKLEYİCİ					
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Değişiklik No/Tarihi	Dili			
	PROTOKOL	-	-			
	ARAŞTIRICI BROŞÜRÜ	-	-			
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLURU	-	-			
	OLGU RAPOR FORMU	-	-			
ÇALIŞMA ESASI	İYİ KLİNİK UYGULAMALARI KLAVUZU					
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 07/2011- 20		Tarih:30.06.2011			
	Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalında yapılması planlanan ve yukarıda adı geçen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgelerin araştırmanın gerekece, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak 30.06.2011 tarihli Etik Kurul toplantısında incelenmesi sonucunda, adı geçen araştırmanın yapılmasının uygunluğuna toplantıya katılan üyelerin oy birliği ile karar verilmiştir.					
ETİK KURUL ÜYELERİ						
Unvanı/Adı-Soyadı/ Etik Kurul Üyeligi	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Doç.Dr.Belgin ALAŞEHİRLİ Başkan	Farmakoloji	G.Ü.Tıp Fak. Farmakoloji A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof.Dr.Vedat DAVUTOĞLU	Kardiyoloji	G.Ü.Tıp Fak. Kardiyoloji A.D	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	KATILMADI
Doç.Dr.Nejdet ADANIR Üye	Diş Hekimi	G.Ü. Diş Hek. Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Doç.Dr.Ercan SIVASLI Üye	Pediyatri	G.Ü.Tıp Fak. Pediyatri A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç.Dr.Yasemin ZER Üye	Mikrobiyoloji	G.Ü.Tıp Fak. Biyokimya A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd.Doç.Dr.Beyhan CENGİZ Üye	Fizyoloji	G.Ü.Tıp Fak. Fizyoloji A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd.Doç.Dr.Arif TÜRKMEN	Plastik Rek. ve Est. Cerrahi	G.Ü.Tıp Fak. Plastik Rek. ve Est. Cerrahi A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Uzm.Ecz.Ahmet BOŞNAK Üye	Eczacı	G.Ü. Tıp Fak. Farmakoloji A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	KATILMADI
Av.Sevilay DEMİR Sivil Üye	Avukat	G.Ü Hukuk Müş.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	KATILMADI
İnş.Müh. Baha Günhan GÜNGÖRDÜ	İNŞ.MÜH	SİVİL ÜYE GASKI	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	KATILMADI