

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ECZACILIK BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**PALB2 GEN VARYASYONLARININ MEME KANSERİ
YATKINLIĞINA ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Müge Yüksel BİLEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Serap YALIN

MERSİN-2012

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ECZACILIK BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

PALB2 GEN VARYASYONLARININ MEME KANSERİ
YATKINLIĞINA ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Müge Yüksel BİLEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Serap YALIN

Bu tez, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından BAP-SBE BK
(MYB) 2010-5 YL nolu proje olarak desteklenmiştir.

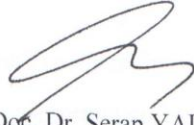
Tez No: 204

MERSİN-2012

Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Üniversitesi

Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı çerçevesinde yürütülmüş olan “PALB2 Gen Varyasyonlarının Meme Kanseri Yatkınlığına Etkilerinin Araştırılması” adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

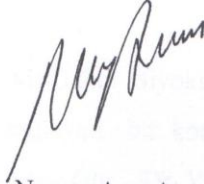
Tez Savunma Tarihi: 02.02.2012



Doç. Dr. Serap YALIN
Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı
Jüri Başkanı

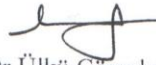


Yrd. Doç. Dr. Necmiye CANACANKATAN
Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı
Jüri Üyesi



Doç. Dr. Nurcan Aras Ateş
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Jüri Üyesi

Yukarıdaki tez, Enstitü Yönetim Kurulunun 21.02.2012 tarih ve 2012/13 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Ülkü Çömelekoğlu

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Biyokimya eğitimim süresince ve bu tezin oluşma aŐamasında daima yanımda olup bilgisini, tecrübesini, bilimsel desteğini, sabrını ve anlayıŐını eksik etmeyen, değerli hocam ve danıŐmanım Sn. Doç. Dr. Serap YALIN'a teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim süresince aldığım derslerde verdiği bilgilerle yaptığı akademik katkılardan dolayı Sn. Yrd. Doç. Dr. Necmiye Canacankatan'a teşekkür ederim.

Hasta kanlarının toplanması, hasta takip formunun oluŐturulması sırasında ve bilimsel danıŐmanlıkta yardımını esirgemeyen Adana Acıbadem Hastanesi Medikal Onkoloji Bölümü'nde görev yapan Uzm. Dr. Zehra ÇalıkuŐu ve Prof. Dr. Ertuğrul Seyrek'e teşekkür ederim.

Tezimin Real-Time PCR protokolünün gerçekteŐtirilmesinde Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvar ve ekipmanlarının kullanılmasını sağlayan, bu konuda yardımlarını esirgemeyen Sn. Prof. Dr.Gürbüz Polat'a ve ArŐ. Gör. Dr. Yener YeŐiltepe'ye teşekkür ederim. Ve son olarak bugünlere gelmemde en büyük desteği sağlayan AiLEME sonsuz saygı ve Őükranlarımı sunarım.

Müge Yüksel BİLEN

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
ÖZET	xiii
ABSTRACT	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Meme Kanserinin Tarihçesi	3
2.2.Meme Kanserinin Epidemiyolojisi	5
2.3. Sporadik ve Kalıtsal Meme Kanserleri	7
2.4. Meme Kanseri Evrelemesi	8
2.4.1. TNM Sınıflması	9
2.5. Meme Kanserinin Tedavisi	12
2.5.1. Cerrahi Tedavi	13
2.5.2. Radyoterapi	13
2.5.3. Kemoterapi	13
2.6. Risk Faktörleri	14
2.6.1. Aile Öyküsü	14
2.6.2. Genetik ve Kalıtsal Nedenler	15
2.6.2.1.Kalıtsal Sendromlar	15
2.6.3.Endokrin Nedenler	16

2.6.4. Çevresel Etkenler	17
2.7. Meme Kanseri Genetiği	19
2.7.1. Meme Kanseri Genetiğinde Temel Kavramlar	19
2.7.1.1. Germline mutasyon	19
2.7.1.2. Somatik mutasyon	19
2.7.1.3. Proto-onkogen	20
2.7.1.4. Tümör süpresör genleri	20
2.7.1.4.1.Meme Kanserinde Etkili Olan Tümör Süpressör Genler	21
2.7.1.4.1.1.BRCA1 ve BRCA2	21
2.7.1.4.1.1.1. BRCA1 Gen Ürünlerinin Nükleer Fonksiyonları	26
2.7.1.4.1.1.2.BRCA1'in Hücre İçi Görevleri	27
2.7.1.4.1.1.3.BRCA1 ve BRCA2 Genlerinin Ortak Özellikleri	28
2.7.1.4.1.1.4.BRCA1 ve BRCA2 Genlerinin Farklılıkları	28
2.7.1.4.1.1.5.BRCA1 ve BRCA2'nin DNA Hasar Tamir Mekanizması	28
2.7.1.4.1.1.6. BRCA1 ve BRCA2 Gen Mutasyonları	29
2.7.1.4.1.1.7. BRCA1 ve BRCA2'deki Mutasyonlar ve Sonuçları	29
2.7.1.4.1.2. p53	30
2.7.1.4.1.3. PTEN	31
2.7.1.4.1.4. PALB2	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM	39
3.1. Çalışma grubu ve Örnek Alımı	39
3.2.Kullanılan Araç ve Gereçler	39
3.2.1.Kullanılan Kimyasal Maddeler	39
3.2.2. Kullanılan Aletler	40
3.2.3.Kullanılan Kitler	40
3.3. Kullanılan Ayraçlar	41
3.3.1.DNA İzolasyonunda Kullanılan Ayraçların Hazırlanması	41
3.3.2. Elektroforez İçin Kullanılan Ayraçların Hazırlanması	42

3.4. Yöntemler	43
3.4.1. Tam Kandan DNA İzolasyonu	43
3.4.2. Elektroforezde Yürütme	44
3.4.3. Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR)	45
3.4.3.1. Primer ve Prob Dizaynı	45
3.4.3.2. PCR Protokolü	46
3.4.3.3. Melting Curve Analizi ile Genotip Belirlenmesi	48
3.4.4. İstatistiksel Analiz	49
4. BULGULAR	50
5. TARTIŞMA	56
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	65
7. KAYNAKLAR	62
ÖZGEÇMİŞ	63

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.Halsted'in Radikal Mastektomisi	4
Şekil 2.2.Meme kanserinin sınıflandırılması ve görülme sıklıkları	8
Şekil 2.3. BRCA1 ve BRCA2'nin kodladığı proteinler	22
Şekil 2.4.BRCA1'in kromozomal lokalizasyonu	23
Şekil 2.5.BRCA1 ve BRCA2'nin gen yapısı	25
Şekil2.6.PALB2'nin kromozomal lokalizasyonu	33
Şekil 2.7.PALB2'nin protein yapısı	33
Şekil 2.8. PALB2 geninin yapısı	35
Şekil 2.9.Homolog rekombinasyonda PALB2'nin diğer genler ile etkileşimi	37
Şekil 2.10.Kalıtsal meme kanseri ve FA ile ilişkili proteinlerin karşılıklı Etkileşimi	38
Şekil 2.11.PALB2 genindeki mutasyonların yerleşimi	39
Şekil 3.1.PALB2 İtron 11'e ait Melting Curve analizi	50
Şekil 4.1.PALB2 intron 4 (rs16940342) polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının dağılımı	54

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Çeşitli ülkelerde ve dünyada kadınlarda en sık görülen ve en çok ölüme neden olan kanser türler	6
Çizelge 2.2. Manchester sınıflanması	9
Çizelge 2.3. 2006 AJCC TNM sınıflaması	10
Çizelge 3.1. DNA izolasyon kit içeriği	42
Çizelge 3.2. PALB2 intron 4 (rs16940342)genotiplemesi için kullanılan primer ve prob dizileri	46
Çizelge 3.3. PALB2 intron 6 (rs249954) genotiplemesi için kullanılan primer ve prob dizileri	46
Çizelge 3.4. PALB2 intron 11 (rs249935) genotiplemesi için kullanılan primer ve prob Dizileri	47
Çizelge 3.5. PALB2 intron 4 (rs16940342)polimorfizm analizi için kullanılan materyallerin konsantrasyon ve miktarları	48
Çizelge 3.6. PALB2 intron 4 (rs16940342)polimorfizm analizi için PCR Koşulları	48
Çizelge 4.1. Hasta ve kontrol grubunda yaş ortalaması	51
Çizelge 4.2. Hasta gruba ilişkin klinik özellikler	52
Çizelge 4.3. PALB2 intron 4 (rs16940342) polimorfizmi genotip dağılımı	53
Çizelge 4.4 PALB2 intron 4 (rs16940342) polimorfizmi allel sıklıklarının Dağılımı	53
Çizelge 4.5. PALB2 intron 6 (rs249954) polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının dağılımı	54

Çizelge 4.6. PALB2 intron 11(rs249935) polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının dağılımı	55
Çizelge 4.7. Menopozal duruma göre PALB2 intron 4 (rs16940342) polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının dağılımı	56
Çizelge 4.8. Aile öyküsüne göre PALB2 intron 4 (rs16940342) polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının dağılımı	56
Çizelge 4.9. Östrojen reseptörüne göre PALB2 intron 4 (rs16940342) polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının dağılımı	57
Çizelge 4.10. Progesteron reseptörüne göre PALB2 intron 4 (rs16940342) polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının dağılımı	58

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BRCA1	Meme Kanseri Geni 1
BRCA2	Meme Kanseri Geni2
PALB2	Partner and Localizor of BRCA
DNA	Deoksiribonükleik Asit
FA	Fankoni Anemisi
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
REAL-TIME PCR	Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
TNM	Tümör Nodül Metastaz
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
mRNA	Mesajcı Ribonükleik Asit
UV	Ultraviyole
TBE	Tris Borik Asit EDTA
EtBr	Etidyum Bromür
HCl	Hidrojen Klorür
dNTP	Deoksiribo Nükleotid Tri Fosfat
MgCl₂	Magnezyum Klorür
FRET	Florasan Rezonans Enerji Transferi
kDa	Kilo Dalton
bp	Baz Çifti
HRT	Hormon Replasman Tedavisi

kDA

Kilodalton

PTEN

Fosfataz ve Tensin Homolog

ÖZET

PALB2 Gen Varyasyonlarının Meme Kanseri Yatkınlığına Etkilerinin Araştırılması

Meme kanseri kadınlarda tüm dünyada en sık görülen kanser tipidir. Genetik meme kanseri predispozisyonuna p-53, BRCA-1 ve BRCA-2 genlerindeki mutasyonların neden olduğu kanıtlanmıştır. PALB2 olarak adlandırılan yeni tanımlanmış Fankoni Anemi geni BRCA2 geninin ekstrem N terminal bölgesine bağlanabilir ve nükleer durumu içinde BRCA2 genini stabilize edebilir, DNA onarımında ve S fazı kontrol noktasında fonksiyon göstermesine izin verir. PALB2 genindeki biallelik mutasyonlar Fankoni Aneminin'nin alt tipi olan FA-N'e ve çocukluk döneminde kansere yatkınlığa neden olur ve düşük penetranslı meme kanserinde şüpheli alleller olarak kabul edilir. Çeşitli çalışmalar bazı PALB2 gen varyantlarının çeşitli toplumlarda meme kanseri riskini arttırdığını ortaya koymuştur. Meme kanseri ve BRCA1, BRCA2 ve p53 genleri ile ilgili literatürde çok fazla çalışma bulunmasına rağmen PALB2 ile ilgili yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır ve Türk populasyonu ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada meme kanserli hastalarda PALB2 geninin intron 4, intron 6 ve intron 11 bölgelerindeki tek nükleotid polimorfizmleri [SNP; rs16940342 (A>G), rs249954 (C>T) ve rs249935 (A>G)] araştırıldı. Çalışmaya Adana Acıbadem Hastanesi Onkoloji Polikliniği'ne müracaat eden ve meme kanseri tanısı konulan 150 hasta ve sağlıklı 150 birey dahil edildi. Hastalardan 5 ml kan EDTA'lı tüplere alınarak DNA izolasyon kitleri kullanılarak DNA izole edildi. İzole edilen DNA'lar PALB2 bölgesine spesifik primer ve probalar kullanılarak Real-Time PCR ile amplifiye edildi. intron 4 (rs16940342) polimorfizminde homozigot yabancıl tip (AA) ve heterozigot (AG) genotiplerinin dağılımı meme kanseri hastası olan grupta sırasıyla % 44,7, % 55,3, kontrol grubunda ise % 32,7, % 67,3 olarak saptandı. İtron 4 (rs16940342) polimorfizmi için genotip dağılımı bakımından gruplar arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0,033$). İtron 6 (rs249954) ve intron 11 (rs249935) polimorfizmleri ile meme kanseri arasında anlamlı bir ilişkiye rastlanmadı. Yaş değişkeni bakımından da hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,081$). Bu sonuçlar intron 4 (rs16940342) polimorfizminin meme kanseri yatkınlığı açısından önemli bir belirteç olabileceğini göstermektedir.

Anahtar sözcükler: Meme kanseri, genetik polimorfizm, BRCA1, BRCA2, PALB2

ABSTRACT

Investigation of Effects of PALB2 Genetic Variations on Breast Cancer Predisposition

Breast cancer is the most common type of cancer among women all over the world. It has been proved that genetic breast cancer predisposition is caused by the mutation in p-53, BRCA-1 ve BRCA-2 genes. The new defined Fanconi Anemia gene named as PALB2 can be bound to the extreme N terminal zone of the BRCA2 gene, and can stabilize the BRCA2 gene in its nuclear condition, and allows it to be functional at DNA repair and S phase control point. Biallelic mutations in the PALB2 gene cause FA-N, which is the sub-type of Fanconi Anemia and predisposition to cancer in childhood and are accepted as suspicious alleles at low-penetrance breast cancer. Several studies have displayed that PALB2 gene variations raise breast cancer risk in several societies. Although there are lots of studies in literature on breast cancer and BRCA1, BRCA2 ve p53 genes; studies on PALB2 are very limited and there is not any study regarding Turkish population. In this study, mono nucleotide polymorphisms at intron 6, intron 11 ve intron 4 regions of the PALB2 gene [SNP; rs249954 (C>T), rs249935 (A>G) and rs16940342 (A>G)] have been researched. In this study, 150 patients, who consult Oncology Polyclinics of Adana Acibadem Hospital, are diagnosed to have breast cancer, and 150 healthy individuals have been included. 5 ml blood has been drawn into the EDTA tubes from each patient, and DNA has been isolated by using DNA isolation kits. By using specific primers and probes, isolated DNAs have been amplified with real time PCR. The distribution of homozygote wild type (A/A) and heterozygote (A/G) genotypes at intron 4 (rs16940342) polymorphism has been stated as 44.7%, 55.3% in breast cancer group and 32.7%, 67.3% in control group. The discrepancy between the groups in terms of genotype distribution regarding rs16940342 polymorphism has been found meaningful ($p=0.033$). It has been found that no meaningful relationship between Intron 6 (rs249954) and intron 11 (rs249935) polymorphisms and breast cancer exists. On the other hand, no meaningful relationship has been found between the patient and control groups in terms of the age variable ($p=0.081$). These results show that intron 4 (rs16940342) polymorphism may be an important determinant in terms of breast cancer predisposition.

Key words: Breast cancer, genetic polymorphism, BRCA1, BRCA2, PALB2

1. GİRİŞ

Meme kanseri, meme ve epitelinden kaynaklanan malign tümördür. Kadınlarda en sık görülen kanser olup geçen 40 yıl boyunca meme kanseri sıklığı özellikle gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde sürekli şekilde artmaktadır. Kadınlarda görülen tüm kanserlerin % 30'undan fazlasını oluşturmaktadır (1). Sağlık Bakanlığı 2005 yılı istatistiklerine göre ülkemizde kadınlarda meme kanseri en sık görülen 10 kanser türü arasında ilk sırada yer almaktadır ve meme kanseri görülme sıklığı yüzbinde 37 dir (2). Dünya genelinde her yıl 1.000.000 dan fazla kadın meme kanseri tanısı almaktadır.

Meme kanseri; ortaya çıkışı, patolojik sınıflaması ve klinik seyri ile heterojen davranışa sahip bir hastalıktır (3). Meme kanseri gelişiminde en önemli risk faktörü yaştır. Vakaların çoğu 55 yaşın üzerindedir. Major risk faktörleri yoksa 35-55 yaşları arasında meme kanserine yakalanma riski sadece % 2,5 dir. Ancak son 30 yıl içinde 40 yaş altında meme kanseri görülme oranında az fakat anlamlı bir artış görülmektedir (4). Meme kanseri görülme sıklığını etkileyen diğer önemli faktörler ise cinsiyet, aile öyküsü, menstruel öykü, genetik, coğrafik ve çevresel faktörlerdir.

Genetik meme kanseri predispozisyonuna p-53, meme kanseri 1 (BRCA-1) ve meme kanseri 2 (BRCA-2) genlerindeki mutasyonların neden olduğu kanıtlanmıştır. Otozomal dominant geçişli bu mutasyonlar tüm meme kanseri vakalarının sadece % 5-10'unu oluşturur. Geriye kalan vakalar sporadiktir. Meme kanseri gelişimi ne kadar erken yaşta ise, ailesel faktörlerin oranı o ölçüde artar (5).

PALB2 olarak adlandırılan yeni tanımlanmış Fankoni Anemisi (FA) geni BRCA2 geninin ekstrem N terminal bölgesine bağlanabilir ve nükleer durumu içinde BRCA2 genini stabilize edebilir; DNA onarımında ve S fazı kontrol noktasında fonksiyon göstermesine izin verir. PALB2 genindeki biallelik mutasyonlar FA'nın alt tipi olan FA-N'e ve çocukluk döneminde kansere yatkınlığa neden olur ve düşük penetranslı göğüs kanserinde şüpheli alleller olarak kabul edilir (6).

Meme kanseri ve BRCA1, BRCA2 ve p53 genleri ile ilgili literatürde çok fazla çalışma bulunmasına rağmen PALB2 ile ilgili yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır; sadece Çin, Finlandiya ve İngiliz toplumlarında PALB2 genindeki bazı genetik

varyasyonların meme kanserine yatkınlığı arttırdığı ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır. Literatür verilerine göre Türk toplumunda meme kanseri ile PALB2 varyantları arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu alışmada, PALB2 genindeki üç varyasyonun toplumumuzdaki sıklığının ve meme kanseri ile genetik ilişkilerinin araştırılarak genetik yatkınlığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu nedenle meme kanserli hastalarda PALB2 geninin intron 4, intron 6 ve intron 11 bölgelerindeki varyasyonlar çalışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Meme Kanserinin Tarihçesi

Milattan önce 3000- 2500 yılları arasında Eski Mısır'da İmhotep tarafından yazıldığı tahmin edilen tıbbi bir papirusta meme kanseri ile ilgili ilk kayıtlara rastlanmıştır (7). İmhotep kanamayı durdurmak için koterizasyon (kızdırılmış demir aletleri ile yara yakma) ve damarları bağlama tekniğini geliştiren hekimdir (1).

Hipokrat kanlı meme başı akıntısı ile gelen meme kanserli bir hastayı tanımlamış ve menopoza ile meme kanseri arasındaki ilişkiyi belirlemiştir (7).

En önemli cerrahlardan biri olan Leonides (MS 100) tarihte ilk defa meme kanserini mastektomi ve aksiller küraj ile tedavi eden hekimdir. Bu dönemde Roma tıbbının etkisi ile geliştirilen cerrahi aletlerin çeşitliliği ve mükemmelliği dikkat çekicidir (8-10).

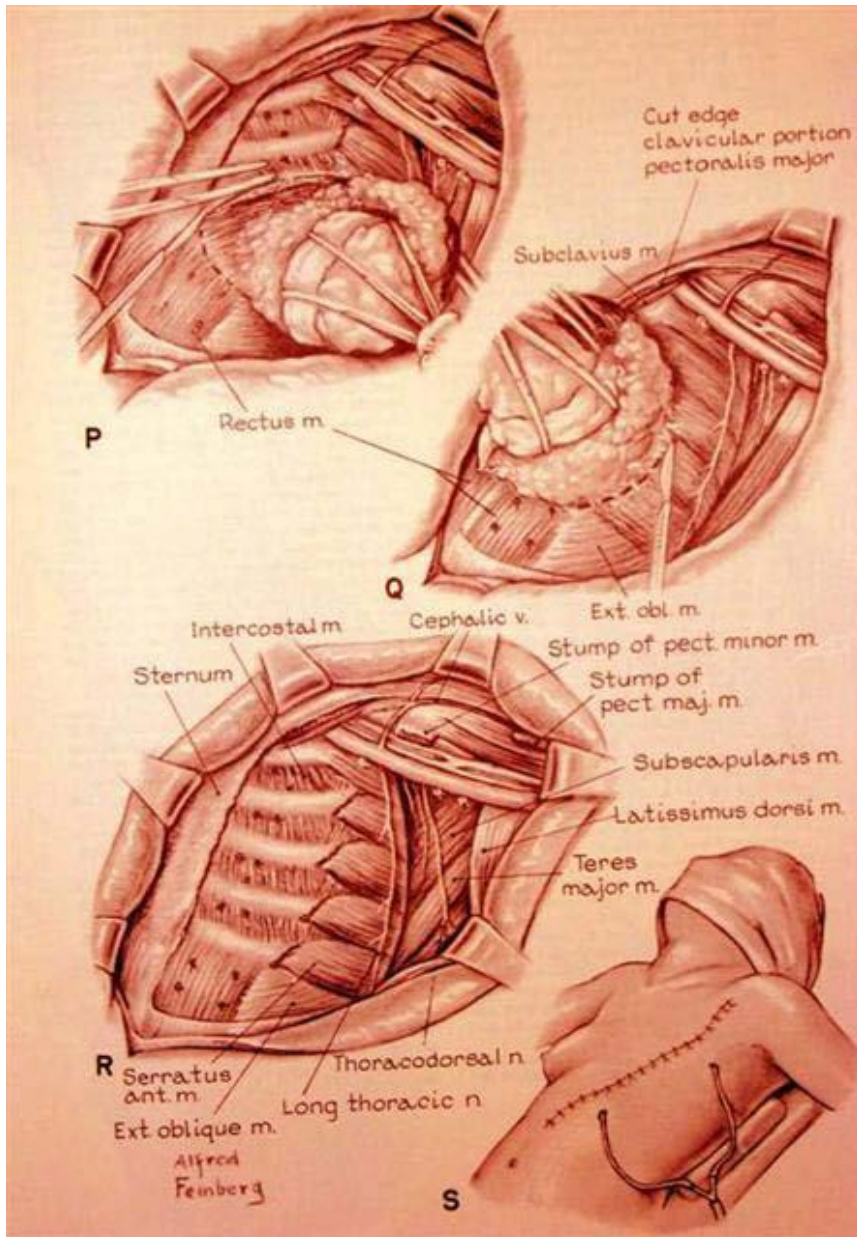
Aynı sırada (MS 30) Roma'lı Celsus tarafından iltihabın dört kardinal belirtisi tanımlanmıştır. Ayrıca meme kanserinin 4 evresini; erken kanser, ülseriz kanser, ülserli kanser, karnibahar şeklinde ülserli kanser şeklinde tanımlamış ve adeta bugün TNM (T; Tümör, N; Lenf nodu, M; Metastaz) sınıflamasında T1, T2-T3-T4 tümörleri tarif etmiştir. Celsus erken kanser dışındaki meme kanserlerine cerrahi işlem uygulanmaması gerektiğini savunmuştur (7).

Ortaçağ'da Aegina'lı Paul (MS 625) ve Milano'lu Lanfranc (MS 1250) yazdıkları kitaplarda meme cerrahisi hakkında oldukça geniş bilgiler vermişlerdir. Razi, meme kanserinin tüm olarak çıkarılabildiği durumlarda cerrahi tedavi ve alttaki dokuların koterizasyonunu önermiştir. İbni Sina'nın "Kanun Fil Tıbb" isimli kitabı asırlar boyunca tek referans kitap olarak Avrupa'da geçerliliğini korumuştur (5,8,9).

W.S.Halsted 1894'de Baltimor Johns Hopkins hastahanesinde oluşturduğu ameliyathanesinde radikal mastektomilerini (RM) uygulamıştır. Halsted RM'sinde prensip olarak meme, üzerini örten cilt, majör ve minör pektoral kaslar ve aksiller doku

bir bütün olarak çıkarılmakta ve cilt defekti greft ile kapatılmaktadır (Şekil 2.1).

N.Y. Presbyterian hastahanesinde memenin fizik muayenesini standardize etmiş, Colombia klinik sınıflamasını oluşturmuş ve inoperabilite kriterlerini koyarak RM'nin lüzumsuz yere uygulanmasını engellemiştir. Bu çalışmalar TNM sınıflamasının esasını oluşturmuş ve 1954'de International Union Against Cancer ilk TNM sınıflamasını yapmıştır (10).



Şekil 2.1. Halsted'in Radikal Mastektomisi

Mammografi meme kanserinin erken tanısını sağlayan en önemli keşiftir. A.Salomon Almanya’da, 1913 de S.L.Warren New York’da ilk mammografi denemelerini yapmışlar ancak R.Egan’ın yumuşak doku tekniğini geliştirmesinden sonra yaygın olarak kullanıma girmiştir. Ultrasonografi 1950’li yıllarda, ışın vermeden birçok lezyonun saptanmasını sağlayan bir yöntem olarak kullanılmaya bağlanmış, bunu manyetik rezonans görüntülemesi ve PET gibi daha sofistike yöntemler izlemiştir (7,10).

20. yüzyılın ortalarında radikal cerrahi karşıtları çoğalmıştır. Danimarka’dan Kaae ve Johansen, Edinburg’dan McWhirter basit mastektomi+aksiller inflamasyonu savunmuşlardır (5). Cleveland’dan G.Crile, geniş cerrahi girişimlerin ölüm oranlarını azaltmadığını ileri sürerek sadece tümör ve aksiller lenf bezlerinin çıkarılması esasına dayanan konservatif cerrahiye savunmuş ve uygulamıştır (10).

2.2. Meme Kanserinin Epidemiyolojisi

Meme kanseri tüm dünyada kadınlarda görülen kanserler arasında prevalansı en yüksek tümör olup akciğer kanserlerinden sonra en fazla ölüm sebebidir (Çizelge 2.1). Amerika Birleşik Devletleri’nde (ABD) kadınlardaki bütün kanserlerin % 32’sini meme kanseri oluşturmaktadır. Amerikan Kanser Birliği, 2008 yılında ABD de 182.460 yeni meme kanserli hasta ve 40.480 meme kanserinden ölüm olduğunu belirtmiştir (11-13). Avrupa’da yılda 180.000, Türkiye’de 30.000, dünya genelinde ise 1.000.000 yeni olgu saptanmaktadır (14).

Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü’nün (NCI) Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) programının son verilerine göre her dokuz kadından biri yaşam boyu invaziv meme kanseri gelişme riskine sahiptir.

Meme kanserindeki artış, tarama yöntemlerinin daha sık ve düzenli kullanılmasına bağlı tanı oranındaki artışa ve toplumların ortalama yaşam sürelerinin uzamasıyla hastalığın ileri yaş grubunda daha sık görülmesi ile açıklanmaktadır (11). Bununla beraber meme kanseri sıklık oranları dünyada coğrafik değişiklikler göstermektedir. Mozambik, Gambiya ve Japonya gibi ülkelerde meme kanseri sıklığı en

düşük iken ABD de ve Kuzey Avrupa ülkelerinde meme kanseri sıklığı en yüksektir. Bu durum, beslenme alışkanlıkları ile birlikte endüstrileşmiş modern yaşamda kadınların mensturasyonun daha erken yaşta başlaması, daha ileri doğum yaşı, oral kontraseptif ve hormon replasman tedavisi (HRT), menapoz yaşının gecikmesi, uzamış yaşam beklentisi gibi değişikliklerin etkisinde kalmasına bağlanmaktadır (12).

Çizelge 2.1. Çeşitli ülkelerde ve dünyada kadınlarda en sık görülen ve en çok ölüme neden olan kanser türleri (12)

ÜLKELER	OLGU	ÖLÜM
Türkiye	Meme Over Mide	Meme Mide Over
ABD	Meme Akciğer Kolon/Rektum	Akciğer Meme Kolon/Rektum
İngiltere	Meme Kolon/Rektum Akciğer	Meme Akciğer Kolon/Rektum
Mısır	Meme Serviks Mesane	Meme Serviks Mesane
Kamboçya	Serviks Meme Karaciğer	Serviks Karaciğer Akciğer
Dünya	Meme Serviks Kolon/Rektum	Meme Akciğer Serviks

Meme kanserine bağlı mortalite ABD de 1950 ile 1989 yılları arasında aynı oranda kalmıştır. Meme kanserinden ölüm oranı 1990 ile 1999 yılları arasında belirgin şekilde azalmıştır. Bu azalma, erken tanı oranında artma ve tedavilerdeki gelişmelere bağlanmaktadır. ABD de meme kanseri, akciğer kanserinden sonra kadınlarda kanser ölümlerinden sorumlu ikinci hastalık olmasına rağmen, 5 yıllık sağ kalım oranı beyaz kadınlarda % 63'den % 89'a, siyah kadınlarda % 46'dan % 79'a yükselmiştir (12).

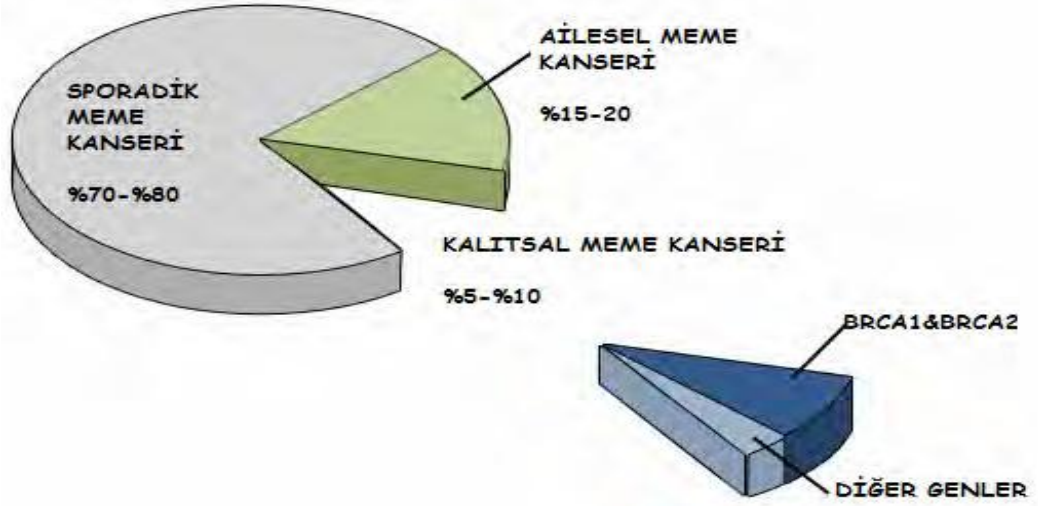
T.C. Sağlık Bakanlığının 2005 yılı verilerine göre Türkiye'de toplam 24.815 hastaya kanser tanısı konulmuş ve kanser insidansı yüzbinde 173,85 olarak saptanmıştır. Kadınlarda meme kanseri görülme sıklığının ise yüzbinde 37 olduğu ve en sık görülen on kanser türü arasında ilk sırada yer aldığı bildirilmiştir (1).

2.3. Sporadik ve Kalıtsal Meme Kanseri

Meme kanserleri; sporadik ve kalıtsal olmak üzere ikiye ayrılır. **Sporadik meme kanseri**; meme dokusu hücrelerinin östrojenle sürekli periyodik proliferasyona uğraması sonucunda DNA hasarına yatkınlık oluşmasıyla (15), **kalıtsal meme kanseri**; BRCA1 veya BRCA2 gen çiftinin birinde doğuştan inaktivasyon, diğerinde pubertede hücre proliferasyonu esnasında somatik mutasyon sonucunda tümör gelişmesi şeklinde olur (16).

Meme kanseri oluşumuna birçok gen karışır ancak kalıtsal meme kanserlerinden sorumlu olarak, özellikle genom devamlılığının koruyuculuğunda iş gören proteinleri üreten bazı genlerin germ hücrelerindeki mutasyonları gösterilmiştir (17). Ancak kanser çeşitlerinin çoğunda mutasyonlar somatik hücrelerde meydana gelir ve bu mutasyonlar üreme hücreleriyle gelecek nesillere aktarılamaz (sporadik kanserler) (18).

Kalıtsal meme kanserinin aksine sporadik meme kanserine yüksek sıklıkta (%70-80) rastlanmaktadır (Şekil 2.2) (17). Sporadik kanserlerle yapılan çalışmalarda 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 kansere yatkınlık genleridir. Bu genlerde meydana gelen polimorfizmler, tıbbi ve yaşamsal faktörlerle birlikte sporadik meme kanseri için yüksek risk oluşturmaktadırlar (18).



Şekil 2.2. Meme kanserinin sınıflandırılması ve görülme sıklıkları (18).

2.4. Meme Kanseri Evrelemesi

Evreleme yapmak, meme kanseri tanısı alan hastaların klinik durumunun gösterilmesi, hastalığın seyrinin ve hangi tedavi rejiminin seçileceğinin belirlenmesinde oldukça faydalıdır. Meme kanseri tedavisi geçmişte tamamen klinik evrelemeye dayandırılmış ise de, özellikle cerrahi dışı tedavinin belirlenmesinde günümüzde patolojik evreleme ön plandadır.

Nitekim, evreleme sistemlerinin gelişimi gözönüne alındığında zaman içerisinde patolojik değerlendirme ile ilişkili parametrelerin daha ön plana çıktığı görülmektedir. Klinik evrelemeye örnek olarak Manchester sınıflaması yapılmıştır (Çizelge 2.2)

Çizelge 2.2. Manchester sınıflandırması

Evre I	Memede sınırlı kalmış tümör
Evre II	Tümör memede sınırlı kalmış, ancak palpabl ve mobil lenf nodları mevcut
Evre III	Meme dışına yayılım gösteren tümör
IIIa	Deri tutulumu ya da büyük bir alanda fiksasyon veya deri ülserasyonu varlığı
IIIb	Kasa veya fasiaya tümör fiksasyonu, +/- mobil lenf nodu varlığı
Evre IV	Tümör meme dışına uzanmış ve göğüs duvarına tam fiksasyon mevcut, supraklaviküler lenf nodu yada karşı memede lenf nodu varlığı, satellit nodüller veya uzak metastaz varlığı

2.4.1. TNM Sınıflaması

Günümüzde kullanılan evreleme sistemi tümör büyüklüğü (T), lenf nodu metastazı varlığı (N) ve uzak metastaz varlığına (M) dayalı olarak sınıflama yapan TNM evreleme sistemidir. İlk olarak 1942’de Pierre Denoix evreleme sistemini başlatmıştır, günümüzde Amerikan Birleşik Kanser Komitesi (American Joint Committee on Cancer=AJCC)’nin TNM sınıflaması kullanılmaktadır (Çizelge 2.3). Burada önemli olan evreleme sistemlerinin heterojen bir hastalığı ve erken malignensiden fatal metastazlara giden klinik tabloları sunmasıdır. 2006 yılında AJCC TNM sınıflamasını yeniden düzenledi (19).

Çizelge 2.3. 2006 AJCC TNM sınıflaması (19)

2006 AJCC TNM SINIFLAMASI	
Primer Tümör: T (Tümörün makroskopik görünümü)	
Tx	Değerlendirilemeyen primer tümör
To	Primer tümöre ait bulgu yok
Tis	İn situ karsinom
Tis (DCIS)	Duktal karsinoma in situ
Tis (LCIS)	Lobüler karsinoma in situ
Tis (Paget)	Meme başının Paget hastalığı (primer başka tümör yok)
T1	En büyük çapı < 2 cm tümör
T1mik	Mikroinvazyon; en büyük çapı < 0,1 cm tümör
T1a	0,1 cm < Tümör çapı < 0,5 cm
T1b	0,5 cm < Tümör çapı < 1,0 cm
T1c	1 cm < Tümör çapı < 2 cm
T2	2 cm < Tümör çapı < 5 cm
T3	Tümör çapı > 5 cm
T4	Aşağıda belirtilen dokulara direkt yayılımı olan herhangi büyüklükte tümör
T4a	Pektoralis majör kası dışında göğüs duvarına yayılım

Çizelge 2.3. 2006 AJCC TNM sınıflaması (19) (devam)

T4b	Ödem, "peau d'orange", cilt ülserasyonu veya satellit cilt nodülleri		
T4c	T4a ve T4b		
T4d	İnflamatuvar karsinom		
Bölgesel Lenf Nodları: N (Klinik Sınıflama)			
Nx	Değerlendirilemeyen nodal tutulum (örn: daha önce çıkarıldığı için)		
No	Bölgesel lenf nodu tutulumu yok		
N1	Hareketli, ipsilateral bölgesel lenf nodu metastazı		
N2	Komşu dokulara yapışık ipsilateral aksiller lenf nodu metastazı		
N3	İpsilateral infraklaviküler lenf nodu metastazı veya ipsilateral internal mammaryan lenf nodu metastazı + aksiller lenf nodu metastazı veya supraklaviküler lenf nodu		
Uzak Metastaz: M			
Mx	Değerlendirilemeyen uzak metastaz		
Mo	Uzak metastaz yok		
M1	Uzak metastaz var		
MEME KANSERİNDE EVRELEME SİSTEMİ			
EVRE	T	N	M
0	Tis	N0	M0
I	Tm1k	N0	M0
	T1	N0	M0

Çizelge 2.3. 2006 AJCC TNM sınıflaması (19) (devam)

IIA	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
IIIA	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T3	N2	M0
	T4	N0	M0
IIIB	T4	N1	M0
	T4	N2	M0
	T4	N2	M0
IIIC	T1-4	N3	M0
IV	T1-4	N0-3	M1

2.5. Meme Kanserinin Tedavisi

Hastanın yaşı, özellikleri, riskleri ve tedavi protokolleri ile ilgili yararlar, kanserin biyolojik karakteristiği ile optimal tedaviye uygun safha değerlendirildikten sonra, hasta ve doktoru birlikte tedavi kararı alabilmektedirler. Meme kanserli kadınların çoğu cerrahi tedaviye alınırlar. Cerrahi tedavi ise sıklıkla diğer tedavi yöntemlerinden olan monoklonal antikor tedavisi, hormonal tedavi, kemoterapi ve radyasyon terapisi gibi diğer tedavi yöntemleri ile birlikte yürütülmektedir (20).

2.5.1. Cerrahi Tedavi

Meme kanserli kadınların çoğuna, diğer herhangi bir tedavi uygulamasına başlanmadan önce, cerrahi tedavi uygulanmaktadır (20). Cerrahi tedavinin amacı, öncelikle meme ve lenf nodlarından kanserli dokunun çıkarılmasıdır. Meme koruyucu tedavi, evre I ve II meme kanserli kadınların çoğu için uygun primer tedavidir ve memeyi korumakla birlikte, total mastektomi ve aksiler diseksiyonuna eşdeğer bir sağ kalım sağlamasından dolayı tercih edilmektedir (20).

2.5.2. Radyoterapi

Radyasyon tedavisi; yüksek enerjili ışınları ya da parçacıkları kullanılmak suretiyle, cerrahi tedavi ya da uygulamadan sonra göğüs duvarı, koltukaltı ve meme bölgesinde kalmış kanser hücrelerinin tahrip edilmesi esasına dayanmaktadır (20). Klinik çalışma sonuçları, mastektomi ve kemoterapiden sonra, radyasyon tedavisi uygulandığında, lenf nodu pozitif olan kadınlarda yaşam süresinin uzamakta olduğunu ortaya koymuştur (20).

2.5.3. Kemoterapi

Kemoterapi ya da ilaçla tedavi; diğer uzak organlara kadar yayıldığı bilinen veya bilinmeyen kanser hücrelerinin, kan dokusuna ilaç vermek suretiyle, bu hücrelere ulaşıp onların buldukları yerde öldürülmesi uygulaması olarak ifade edilmektedir. Başka bir ifade ile tanımlamak gerekirse, ilaçla kanserin tedavi edilmesi anlamına gelen kemoterapi, kanser hücrelerinin bölünmesinin ve gelişmelerinin durdurulmasını ve öldürülmesini, sağlamaktadır (20). Tanımlamalardan açıkça anlaşıldığı gibi, kemoterapi;

tümör ya da kanser hücreleri küçük ve gelişme dönemlerinde bulduklarında uygulandığında, daha yararlı ve başarılı bir tedavi yöntemi olmaktadır (20).

Kemoterapi, tümör küçük ve gelişme sürecinde olduğu zaman çok yararlı olmaktadır. Çünkü hızlı gelişen tümörler, hücreleri bölünmekte olduğundan ve antineoplastik ilaçlara duyarlılık gösterdiğinden, kemoterapi ile yıkılmaya daha müsaittirler (20). Meme kanserli hastalara uygulanan kemoterapi, tipik olarak 2-3 haftayı içeren dönemler halinde daha önce kararlaştırılan 2 ya da 3 kemoterapik ilacın birlikte uygulanmasına dayanan bir tedavi olmaktadır (20). Birçok kimyasal ajan ya da ilacın bir arada kullanılması; değişik mekanizmalarla sinerjistik etkilerin artışına yol açılması, ilaç duyarsızlığının azalması ve muhtemel toksik etkilerin minimuma indirilmesinin sağlanması nedeniyle tercih edilmektedir (20).

2.6. Risk Faktörleri

Birçok kanser gibi meme kanserinin de nedeni bilinmemektedir. Ancak epidemiyolojik çalışmalar risk faktörü olabilecek bazı kuvvetli bulgular ortaya koymaktadır. Meme kanseri için öncelikle kadın olmak, ikinci olarak da yaş önemli faktörlerdendir (21).

2.6.1. Aile Öyküsü

Ailede bir veya birden fazla birinci veya ikinci derece kan akrabalarında meme kanseri saptanmış olması ailevi meme kanseri serisi, kalıtsal meme/over kanseri sendromu olarak adlandırılmıştır. Anne veya kızkardeşinde menopoza öncesi döneminde meme kanseri gelişen ve birinde iki taraflı olan her iki kadından birinde meme kanseri gelişecektir. Ancak genel olarak bakıldığında, kızkardeş, anne veya kızında meme kanseri bulunan kadınların meme kanserine yakalanma riski 2,5-3 kat artmaktadır (21).

2.6.2. Genetik ve Kalıtsal Nedenler

BRCA1 ve BRCA2 gen mutasyonu taşıyıcılarının meme ve over kanseri gelişimi açısından risk altında oldukları çeşitli retrospektif ve prospektif çalışmalarda gösterilmiştir (22,23). Bu genin ailevi meme ve over kanserinde etyolojik rol oynadığı kabul edilmektedir (24).

2.6.2.1. Kalıtsal Sendromlar

Herediter Meme-Over Kanseri Sendromu: Bu sendromlu tüm kişilerin mutant BRCA 1 genini taşıdığı kabul edilmekte ve 70 yıllık yaşam boyunca meme kanseri oluşma riski de % 56- 85 olarak hesaplanmaktadır (25).

Bölgeye Özgü Kalıtsal Meme Kanseri: BRCA 2 geniyle yakın ilişkili olan bu sendromda premenopozal dönemde erken yaşta ortaya çıkmakta ve bilateral başlangıç göstermektedir (26,27).

Li-Fraumeni Sendromu: Bu nadir sendrom, premenopozal meme kanseri, sarkom, beyin tümörleri, lösemi/lenfoma ve adrenokortikal birlikteliğiyle karakterizedir (26).

Cowden Sendromu: Otozomal dominant nadir bir sendrom olup, multipl mukokütanöz hematom, tiroid tümörü ve memede fibrokistik değişiklikler bir arada görülür. Bu sendroma sahip kadınların yaklaşık yarısında meme kanseri gelişmesi nedeniyle sıkı takip, hatta profilaktik bilateral mastektomi önerilmektedir (28).

Meme kanseri ayrıca Muir sendromu ve ataxia-telenjektazi gibi ailesel sendromların bir parçası olarak da görülebilir (29).

2.6.3. Endokrin Nedenler

Menarş Yaşı ve Menopoz

Meme kanseri riskini artıran nedenlerin çoğu kadınların yaşamındaki jinekolojik ve endokrinolojik olaylarla bağlantılıdır. Menarş yaşı meme kanseri gelişme riskini etkileyen bir faktördür. Erken menarş ve geç menopoz bu sayının artışı anlamına gelmekte ve yaklaşık olarak riski % 30- 50 oranında artırmaktadır. Buna karşın geç menarş ve erken menopoz da bu riski aynı oranda azaltmaktadır (30).

Hamilelik – Laktasyon – Düşükler

İlk olarak Mac Mahan hamileliğin ve ilk hamilelik yaşının meme kanseri gelişme riski ile ilişkili olduğuna dikkatleri çekmiş ve hiç doğum yapmamış kadınlarda, kanser riskinin doğum yapmış kadınlara göre 1,4 kat daha fazla olduğunu belirtmiştir. Doğum sayısındaki artışın meme kanseri riskinde hafif bir azalmaya neden olduğu bildirilmiş, her iki doğumda bu riskin % 15 azaldığı öne sürülmüştür (31).

Hamileliğin ilk üç aylık döneminde kan östradiol düzeyindeki hızlı artış, ilk hamilelikte daha sonraki hamileliklere göre daha belirgindir. Artmış östradiol düzeyi kısa zamanda çok sayıda ovuluar dönem geçirmeye eşdeğerdir. Bu durumun kanser yönünden yapacağı olumsuz etkiye rağmen erken yaşta hamileliğin hangi mekanizmayla kanser riskini azaltıcı etki gösterdiği henüz açıklığa kavuşmamıştır.

4-12 ay arası emziren kadınlarda riskin % 11, iki sene veya daha fazla emzirenlerde ise % 25 oranında azaldığı gösterilmiştir (32). Emzirmenin meme kanseri riskini azalttığı bilinmektedir (33). Ayrıca emzirmeyen kadınlarda meme kanseri riskinin yüksek olduğu da bilinmektedir (34).

Oral Kontraseptifler

Oral kontraseptif kullanımının kadınlarda meme kanseri riskini artırdığına dair kesin bir kanıt yoktur. Fakat düşünölenin aksine olarak meme kanseri tanısı konduğunda hastalık klinik olarak oral kontraseptif kullananlarda veya kullanmış olanlarda hiç kullanmamış olanlara göre daha erken evrede bulunmuştur (35).

HRT

Hormonların özellikle de östrojenlerin meme dokusunu uzun süre etkilemesinin meme kanseri riskini artırdığı bilinmektedir. Erken menarş, geç menapoz, doğumyapmama ya da ilk doğumu 30 yaşından sonra yapma östrojenlerin meme dokusunu etkileme sürecini uzatır. Bu nedenle geç menarş, 30 yaş öncesi doğum, emzirme ve erken menapozun meme kanseri riskini azalttığı düşünülmektedir. Mc Credie ve arkadaşları 30 yaşından önce doğum yapmanın meme kanseri rölatif riskini (RR) 1,8 arasında azalttığını belirlemişlerdir (36).

Bu konu 50'den fazla vaka-kontrol ve kohort çalışmalarında tartışılmıştır. Başlangıçta sonuçlar karmaşık görünürken daha sonra meta analizlerin değerlendirilmesiyle özellikle uzun süreli kullanımda HRT'nin meme kanseri gelişmesinde 1,3-1,4 görece risk oluşturduğu gösterilmiştir. Son zamanlarda yapılan 51 epidemiyolojik çalışmanın değerlendirildiği analizde uzun süreli HRT alanlarda görece risk 1,31 olarak bulunmuştur (37).

2.6.4. Çevresel Etkenler

Beslenme

Dünya üzerinde meme kanseri görülme sıklığının ülkeden ülkeye değişmesi ve göç eden insanlarda artan meme kanseri sıklığının (göç ettikleri ülkedekine uyan bir

sıklığa erişmesi) sadece genetik nedenlerle açıklanamaması, dikkatlerin çevresel etkenler ve özellikle beslenme üzerine toplanmasına neden olmuştur (38).

Liften zengin gıdanın bilier sistemden barsağa dökülen östrojenlerin reabsorbsiyonunu inhibe ederek meme kanseri oluşumuna karşı koruyucu bir etkisinin olabileceği ileri sürülmüştür. Hayvan çalışmalarında da liften zengin besinlerin meme tümörü sıklığını azalttığı gösterilmiştir (21).

Vitaminler

A vitamininin içinde bulunduğu karotenoidler antioksidan özelliklere sahip olduklarında DNA hasarına yol açan reaktif oksijen radikallerine karşı hücrel savunmayı artırabilirler (39). A vitamininin meme kanseri oluşumu konusundaki koruyucu etkisinin değerlendirildiği bir meta analizde A vitamininin anlamlı bir koruyucu etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (25).

Yine antioksidan etkiye sahip olan E vitamini ile yapılan çalışmalarda meme kanseri konusunda koruyucu bir etki gözlenmemiştir (40).

C vitamini ile yapılan çeşitli çalışmalarda C vitamininin meme kanseri oluşumundaki koruyucu etkisi konusunda farklı sonuçlar bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada olumlu etki bildirilirken (41), ABD’de yapılan bir çalışmada uzun süre C vitamini alanların 14 yıllık takibi sonucunda risk azalması gözlenmemiştir (42).

Alkol Alımı

Çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda alkol alımının kadınlarda meme kanseri gelişme riskini artırdığı bildirilmiştir. Bu risk artışı içilen alkollü içeceklerin türüne bağlı olmayıp, içilen miktara bağlıdır. Erken yaşta alkole başlamak önemli bir risk faktörü olabilir. Premenopozal kadınlarda alkol alımı total östrojen düzeylerinin ve östrojen biyoyararlanımının artışına yol açar. Alkol alımı ve postmenopozal obezite birlikteliği plazma östrojen düzeylerinde değişikliğe yol açarak meme kanseri gelişme riskine katkıda bulunabilir. Son zamanlarda yapılan epidemiyolojik çalışmalar, alkol

alımına bağlı meme kanseri gelişme riski artışının folat alımı ile azaltılabileceğini göstermiştir (43).

Radyasyona Maruz Kalma

İyonize radyasyon maruziyeti meme kanseri için bilinen bir risk faktörüdür. Atom bombasına maruz kalanlarda ve doğum sonrası mastit, akne, hirsutizm gibi nedenlerle radyoterapi alanlarda düşük veya orta derece radyasyon dozlarından sonra meme kanseri gelişme riskinde artış gözlenmiştir (43).

2.7. Meme Kanseri Genetiği

2.7.1. Meme Kanseri Genetiğinde Temel Kavramlar

2.7.1.1. “Germline” Mutasyon

Gonadlardaki germ hücrelerinde (eşey hücresi; sperm ya da ovum) ortaya çıkan mutasyonlardır. Bu tür bir mutasyon taşıyan bireyler bunu çocuklarına geçirebilir. Mutasyonu alan çocuk yalnızca germ hücrelerinde değil, vücudunun tüm hücrelerinde o mutasyonu taşıyacaktır. Kalıtsal kanserlerden germline mutasyonlar sorumludur (44).

2.7.1.2. Somatik Mutasyon

Germ hücreleri haricindeki vücut hücrelerinde, yani somatik hücrelerde ortaya çıkan mutasyonlardır. Bu tür mutasyonlar sonraki kuşaa geçmez, biyolojik sonuçları yalnızca ortaya çıktıkları bireyi etkiler. Kalıtsal özellik göstermeyen, yani sporadik kanserlerin gelişiminde somatik mutasyonlar rol oynar (44).

2.7.1.3. Proto-onkogen

Hücre çoğalmasında itici rol oynayan genlerdir. Hücre çoğalması normalde fizyolojik gereksinimlere göre ve kontrollü olarak yürütülmektedir (44).

Protoonkogenlerin belli başlı işlevleri aşağıda gösterilmiştir.

1. Transkripsiyon faktörleri
2. Büyüme faktörü ve büyüme faktörü reseptörleri
3. Apoptozisin baskılanması
4. Kromatinin modifiye edilmesi
5. Hücre içi sinyal iletimi
6. Membranla ilişkili G proteinleri

Bir proto-onkogen, aktive edici bir mutasyona uğrayarak devamlı (konstitüsyonel) bir etkinlik durumu içine girebilir; böyle bir proto-onkogene de onkogen denir.

2.7.1.4. Tümör Süpresör Genleri

Hücre çoğalmasında negatif yönde rol oynayan genlerdir. Proliferasyonu doğrudan baskılayan tümör süpresör genlere “bekçi” (gatekeeper) tipi genler denmektedir. Bekçiler hücre çevrimini (siklusunu) denetlerler, hücreyi apoptozise yönlendiren genler de bu gruptadır. Örneğin TP53 her iki özelliğe de sahip önemli bir tümör süpresör genidir (45). Tümör süpresör genlerinde ortaya çıkan işlev kaybettirici mutasyonlar da hücreye çoğalma yönünde bir üstünlük sağlar.

Hücre çoğalmasını doğrudan baskılayan bekçi tipi tümör süpresör genlerden başka, dolaylı etki gösterenler de vardır. Bunlara da “bakıcı” (caretaker) tipi tümör

süpresör genleri denir. Bakıcılar genomun bütünlüğünden sorumlu DNA tamir genleridir ve mutasyon oluşumunu engellerler. Bunların kendileri işlev kaybettirici bir mutasyona uğradığında, genom boyunca mutasyonlar ortaya çıkmaya başlar, yani genomik instabilite gelişir. Genomik instabilite bekçi tipi tümör süpresör genleri ve protoonkogenlerin mutasyona uğramasıyla sonuçlanabilir. Bazı germline tümör süpresör gen mutasyonları kalıtsal kanserlerle ilişkilidir. Bunlar sporadik kanserlerde de mutasyona uğrayabilirler (45).

2.7.1.4.1. Meme Kanserinde Etkili Olan Tümör Süpressör Genler

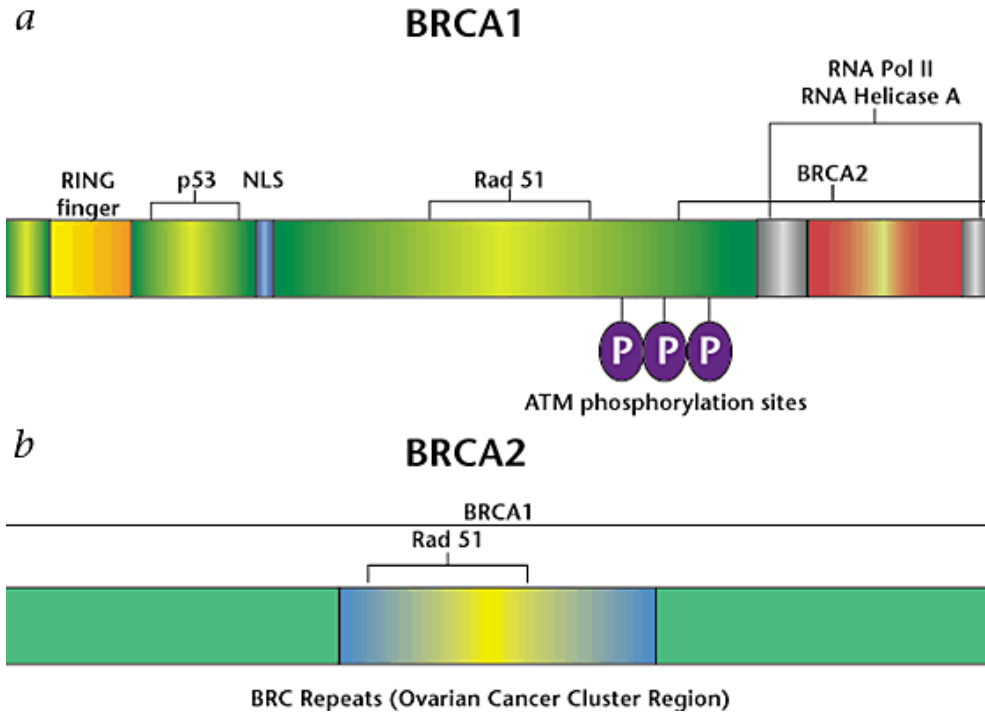
2.7.1.4.1.1. BRCA1 ve BRCA2

Meme kanser genleri olarak bilinen BRCA1 ve BRCA2'nin, 1994 ve 1995'teki keşifleri, herediter meme kanserli hastaların optimal tedavileri konusunda birçok soru ortaya atılmasına sebep olmuş, risk altındaki popülasyon için kanser görüntüleme yöntemlerinin gelişmesinde patlamaya sebep olmuştur. Gerçekte normal genetik yapının bir parçası olarak herkes bu genleri taşır, meme kanseri açısından risk altındaki kişiler ise bu genlerde mutasyona sahiptirler. BRCA1 ve BRCA2 genlerindeki mutasyonlar, heterozigot taşıyıcılar için meme ve over kanseri açısından kuvvetli predispozan faktördürler. Penetransları oldukça fazla değişkenlik gösterir, bu da BRCA ilişkili kanser riskinin, yaşam tarzı ve çevresel faktörlerle modifiye edilebileceğini göstermektedir (46).

BRCA1, normalde hücre siklusunda negatif regülatör fonksiyon görür ve neoplastik progresyonun aktif inhibitörüdür. BRCA1 ve BRCA2 genleri, DNA hasarına karşı oluşan hücresel yanıtta rol oynayan proteinleri kodlar (Şekil 2.3) (47).

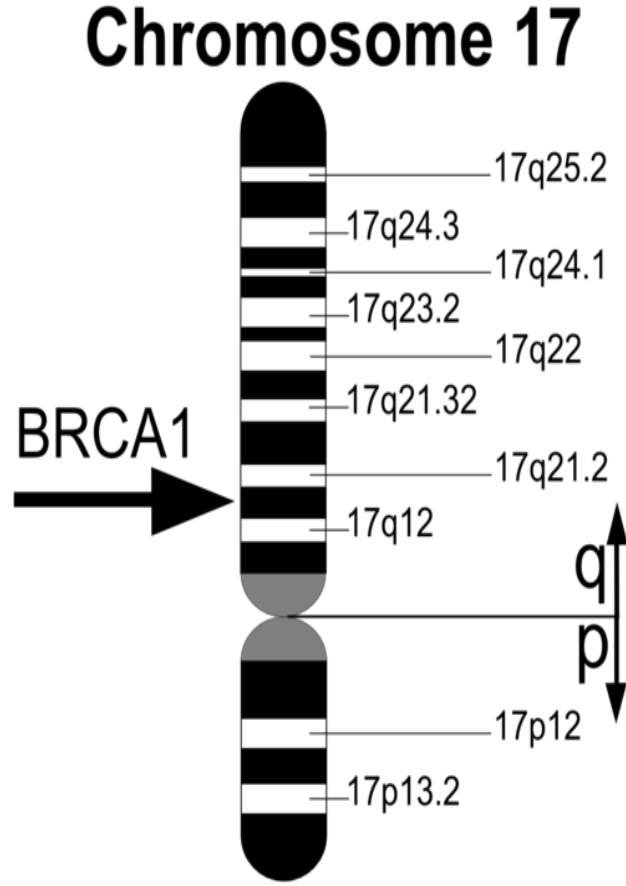
Yüzlerce mutasyon tanımlandığı halde bunlar yine de mutasyonların tamamını temsil etmemektedir ve kişi rutin tetkiklerde saptanamayan bir mutasyona sahip olabilir. Bazı mutasyonlar ile bazı etnik gruplar arasında ilişki bulunmuştur. Afrika ve Avrupa kökenli ailelerde yapılan karşılaştırmalı bir çalışmada, mutasyon spektrumunun oldukça

farklı olduğu saptanmıştır (48). BRCA ilişkili meme kanserinin prognozu hakkındaki çalışmaların sonuçları ise değişkendir, hiçbir fark bulunmadığı sonucuna varanların yanısıra, daha iyi veya daha kötü prognoz görülen çalışmalar da vardır (49).



Şekil 2.3. BRCA1 ve BRCA2'nin kodladığı proteinler

BRCA1 geni kromozom 17q21 kromozomu üzerinde lokalizedir (Şekil 2.4). 24 eksonu vardır (22 kodlama eksonu, alternatif 5'UTR eksonları, 1a ve 1b). BRCA1'in ekson 11'i (3,4 kb), 1863 amino asitlik proteinin % 61'ini kodlar (Şekil 2.5) (50).



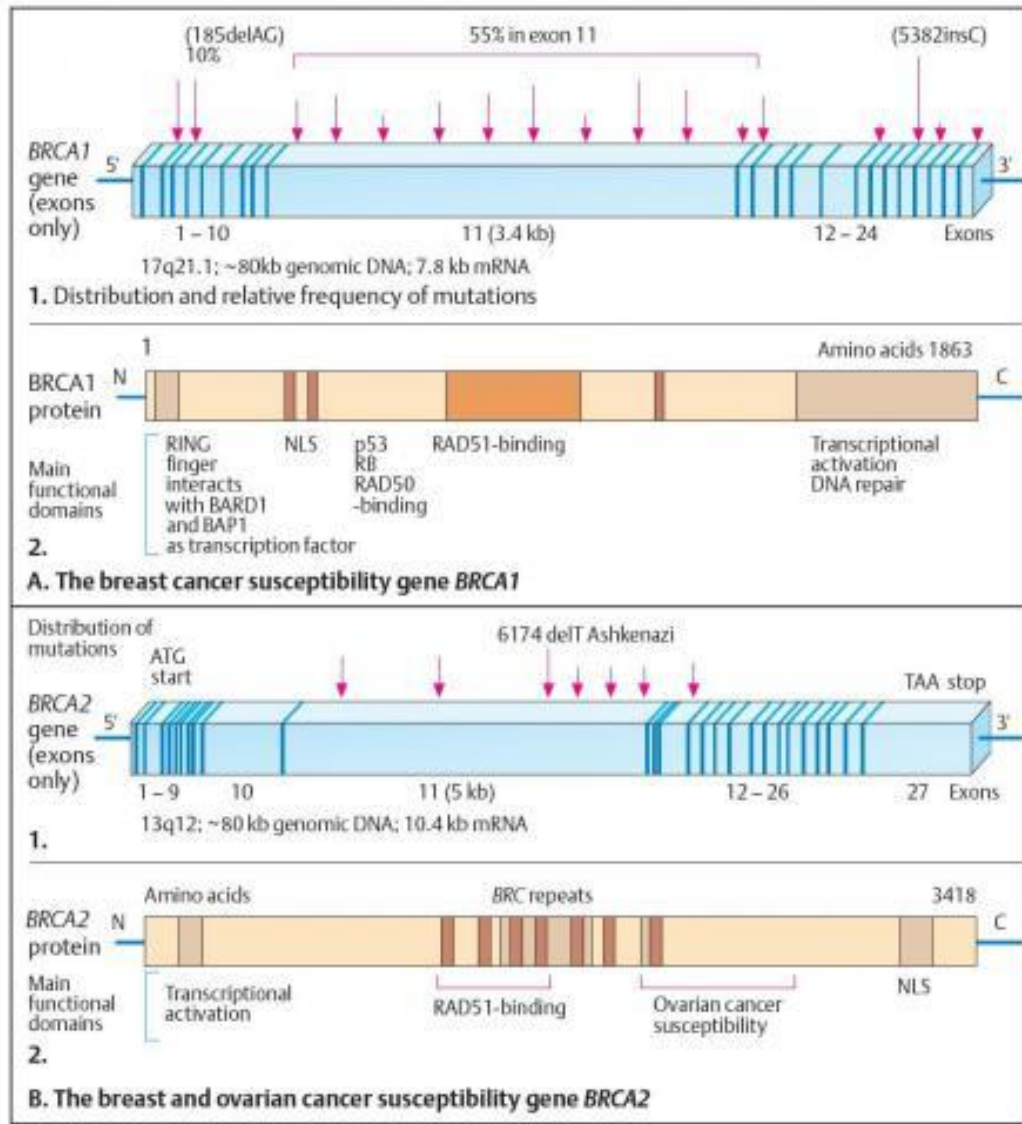
Şekil 2.4. BRCA1'in kromozomal lokalizasyonu

BRCA1, granin ailesi ile homolog bir seriye sahip 220 kDa bir serin fosfoproteindir. Fosforilasyon durumu ve BRCA1 miktarı ise hücre siklusuna bağlıdır. Geç G1 ve S fazlarında hiperfosforilasyona uğrar ve hemen M fazından sonra defosforile olur. BRCA1 miktarı S fazında en yüksektir, G2/M fazlarında da yüksek kalmaya devam eder ve erken G1'de düşer (51).

N-terminalinde çinko bağlayan bir RING bölgesi ve santral bölgesinde de nükleer lokalizasyon sinyalleri içerir. BRCA1 ekspresyonu, granin proteinlerine benzer şekilde, östrojen tarafından indüklenir. BRCA1 subselüler lokalizasyonu ise farklı şekillerde tanımlanmıştır. Tamamen veya predominant olarak nükleer lokalizasyonda olduğunu savunan yayınlar çoğunluktadır (51). Birçok normal hücre tipinde nükleer iken meme ve over kanser hücrelerinde sitoplazmik lokalizasyona geçtiğini iddia eden

yayınlar vardır (52). Bunun yanında, sekrete edilen bir protein olarak sitoplazmik lokalizasyonun da tariflendiği yayınlar mevcuttur (53).

BRCA2 ise büyük 350-380 kDa bir proteindir. BRCA2 kromozom 13q12.3 üzerinde bulunur, 27 eksondan oluşur ki ekson 11'i oldukça büyüktür (4.9 kDa). Ekson 11, BRCA2'nin, DNA tamir yolunda rol oynayan bir rekombinaz enzim olan RAD51 fonksiyonunu kontrol ettiği, sekiz 'BRC' tekrarından oluşan yapısal bir motifi kodlar (Şekil 2.5) (50).



Şekil 2.5. BRCA1 ve BRCA2'nin gen yapısı

Birçok farklı insan dokusu, BRCA1'e çok benzer bir paternde, BRCA2 mRNA eksprese eder fakat en yüksek seviyeler meme ve timusta, daha düşük oranlarda da akciğer, over ve dalakta gözlenir (54). Normal hücrelerde BRCA2, özellikle hücre siklusunun geç-G1/erken-S fazında eksprese edilen nükleer bir proteindir (55). Farelerde, BRCA1 ve BRCA2, püberte, gebelik ve laktasyondaki meme epitelyum hücrelerinin morfogenezi ve diferansiasyonu sırasındaki duktal proliferasyon sırasında koordinasyonlu olarak up-regüle olurlar (56).

Her iki protein de, DNA hasarını takiben RAD51 ile beraber S fazında subnükleer lokusta birlikte bulunurlar (57). RAD51, çift sarmal DNA kırıklarının tamirinde ve homolog rekombinasyonunda yer alan BRCA2 ile interaksiyon halinde olan anahtar bir proteindir.

BRCA1 fonksiyonu, transkripsiyonal kontrol, fosforilasyon ve protein-protein interaksiyonlarını içeren değişik birtakım mekanizmalarla kontrol edilir. Son çalışmalar göstermiştir ki BRCA1, nükleer-sitoplazmik mekik proteindir. Subselüler lokalizasyonu nükleer lokalizasyonlu sinyal aracılı nükleer import reseptör yolu ve sinyal vasıtalı nükleer eksport yolu ile kontrol edilir. DNA hasarı, p53'ü de gerektiren bir mekanizma ile BRCA1 nükleer eksportunu indükler (58).

BRCA1, DNA tamirinde, transkripsiyonel regülasyonda, hücre büyüme kontrolünde ve genomik bütünlüğün sağlanmasında önemli rol oynar. BRCA1, endokrin dokularda eksprese edilir fakat özellikle erken gelişim sırasında diğer hücrelerde de mevcuttur. BRCA1, sinir sisteminde, embriyonik fare beyin dokusunda gelişmekte olan nöroepitelde en yüksek seviyelerde olmak üzere, gösterilmiştir (59).

Meme ve over hücrelerinde ikinci allelde heterozigosite kaybı ile takip edilen BRCA1 veya BRCA2'nin bir mutant allelinin kalıtımı ile otozomal dominant geçiş, komple gen inaktivasyonuna sebep olur.

Genel popülasyonun yalnızca % 0,1-0,2'si BRCA1 ve BRCA2 mutasyon taşıyıcılarıdır. Tüm meme kanseri vakalarının % 2-3'ünde BRCA1 ve BRCA2 mutasyonu saptandığı halde, bu oran 40 yaşaltında meme kanseri tanısı alan vakalarda % 10, herediter meme kanseri vakalarında ise % 75'tir. BRCA1 mutasyonu yaşam boyunca % 85 meme kanseri geliştirme riskine yol açar. Spesifik olarak 40 yaşından sonra % 20, 50 yaşından sonra % 51, 70 yaşından sonra ise % 85 risk vardır. Over

kanseri geliştirme riski ise 70 yaşından sonra % 40-50'dir. BRCA2 mutasyonu ise daha geç yaşta da olsa yaşam boyunca % 85 meme kanseri geliştirme riskine yol açar. BRCA2 mutasyon taşıyıcılarında, 50 yaşından sonra % 28, 70 yaşından sonra % 84 oranında meme kanseri, 50 yaşından sonra % 0,4, 70 yaşından sonra ise % 27 oranlarında over karsinomu gelişimi bildirilmiştir (60).

BRCA1'in subsellüler lokalizasyonu hakkında değişik yayınlar mevcuttur. İlk önce, BRCA1'in normal meme epitel hücrelerinin nükleusunda lokalize olduğu fakat malign meme ve over neoplazmalarında aberant sitoplazmik lokalizasyon gösterdiği rapor edilmiştir (52). Daha sonra ise BRCA1'in, Golgi aparatından sekrete edildiği için hem sitoplazmada hem de hücre membranında olduğu yayınlanmıştır (53). Bir çalışmada BRCA1'in hem normal hem malign meme dokusunda nükleer lokalizasyonda bulunduğu gösterilirken, diğer bir çalışmada BRCA1 proteininin nükleustaki tübül benzeri sitoplazmik invaginasyonlarda mevcut olduğunu iddia edilmektedir (51,61). BRCA1 subsellüler lokalizasyonundaki çelişkiler, antikor spesivitesine, kullanılan fiksasyon metoduna, kullanılan antikor ve antijen retrieval metoduna ve ekson 11'e sahip olmayan bant 'splice' varyant izoformlarının varlığına bağlı olabilir (51,62-64).

2.7.1.4.1.1.1. BRCA1 Gen Ürünlerinin Nükleer Fonksiyonları

BRCA1 proteininin yapısı, nükleustaki fonksiyonları hakkında bilgi verir (65). BRCA1; nükleer lokalizasyon sinyallerine sahiptir. Bu sinyaller bir stoplazmik molekülün nükleoplazmaya yer değiştirmesine olanak sağlamaktadır. BRCA1'de bu sinyallerden üç tane bulunmaktadır (66,67). Sinyallerden ikisi; BRCA1 proteininin importin α ve β 'dan oluşan iki sitozolik reseptör ile bağlanmasını sağlar. Üçüncü nükleer lokalizasyon sinyali ise BRCA1 proteinine GTP bağlayıcı protein, oluşan substrat-reseptör kompleksinin nükleer porlardan gerekli enerjiyi sağlamaktadır. Nükleus içinde importin β kompleksinden ayrılır ve importin α , substratın nükleus içindeki işlevi bitene kadar substrata eşlik eder (65,66).

RAD51 ile ilişkiye giren bölüm sayesinde BRCA1 ile hücre nükleusundaki RAD51 ile bağlantı kurar. RAD51'in görevleri; mayotik rekombinasyon ve kromozom

kırıklarının onarımıdır. Sonuçta; kromozom çifti gerektiği gibi kırılır. Rekombinasyonda bu kırılma DNA'ların yer değiştirmesini sağlar. Tamirde kromozom kırıklarını onarımı için bir şablon oluşturur (68,69).

Mitotik hücrelerde RAD51 ve BRCA1 proteinlerinin nokta paternleri belirgin eşleşme gösterirler. Mayotik hücrelerde bu proteini kodlayan genler eş kromozomlar üzerinde yer alırlar. RAD51 bölgesinden sonra granin motifi bulunur. Görevi; salgılama yapmaktır. BRCA1 molekülünün evriminde yer almaz. BRCA1 proteininin C terminalinde BRCT domaini bulunur. Herbir BRCA1 proteini BRCT bölgesinde iki çekirdek motifi içerir. Bu bölgede BRCA1'in evriminde yer almaz (68).

BRCA1'in nükleus içindeki fonksiyonları; RAD51'e bağlandığında kromozomal tamir, BARD1'e bağlandığında hedef geni tanıyıp transkripsiyon faktörü gibi davranmaktadır (70).

2.7.1.4.1.1.2. BRCA1'in Hücre İçi Görevleri

- I.**BARD1 sayesinde transkripsiyon faktörü olarak davranmak
- II.**DNA hasar tamiri
- III.**DNA sentezi öncesi kontrol; RB, ESF, p53 sayesinde G1/S fazında kontrolü sağlamak
- IV.**Kromozom oluşumu
- V.**DNA replikasyonu, rekombinasyonu ve genetik stabilizasyonu.RAD51 ile olan etkileşim
- VI.**Östrojen reseptörünün aktivitesini düzenlemek (69).

2.7.1.4.1.1.3. BRCA1 ve BRCA2 Genlerinin Ortak Özellikleri

Her iki gen de hızla çoğalan meme epitel hücrelerinde (hamilelikte ve puberte sonrasında) yüksek ölçüde eksprese olmaktadır. Hücre siklusu sırasında G1 fazından S fazına geçişte (check point) etkili oldukları gözlenmiştir. Glukokortikoidler tarafından regülasyonlarının arttırıldığı, büyüme faktörü eksikliğinde ise bu genlerin regülasyonunun azaldığı gözlenmiştir (71,72).

BRCA2'nin de BRCA1'e benzer nükleer lokalizasyon sinyallerine sahip olduğu, ikisinin de ekson 2'lerinde translasyonu başlatıcı bölgeye sahip oldukları gözlenmiştir. Ekson 11'lerinin tümör supressör genlerde dahil olmak üzere diğer genlerden çok daha büyük olduğu gözlenmiştir.

2.7.1.4.1.1.4. BRCA1 ve BRCA2 Genlerinin Farklılıkları

BRCA1, BRCA2'ya göre daha yüksek kanser geliştirme riski taşımaktadır. BRCA1 genindeki mutasyonlar kalıtsal meme kanserinin % 40-60'ından sorumluyken BRCA2 genindeki mutasyonlar kalıtsal meme kanserinin % 30-40'ından sorumludur (71,72).

BRCA1 gen mutasyonları yüksek oranda sadece meme ve rahim kanserine neden olmakta, BRCA2 mutasyonları ise; meme ve rahim kanserlerinden başka; prostat, pankreas kanserlerine ve erkeklerde meme kanserine neden olmaktadır (71,72).

2.7.1.4.1.1.5. BRCA1 ve BRCA2'nin DNA Hasar Tamir Mekanizması

BRCA1 ve BRCA2'nin DNA hasar tamirindeki fonksiyonları ve olayın gelişim aşaması şu şekildedir:

Normal yolak; BRCA1 ve BRCA2 normal fonksiyonlarına sahipken eksojen veya endojen kaynaklı bir DNA hasarı olduğunda BRCA1, ATM kinaz tarafından fosforillenir ve BRCA1, BRCA2, Rad51 ve BARD1'den oluşan kompleks meydana gelir ve bu kompleks PCNA (proliferating cell nuclear antigen) işaretli DNA replikasyonunun olduğu kromozomal bölgeye doğru hareket eder. DNA tamiri gerçekleşir ve normal siklusu devam eder (69,70,73).

Nonfonksiyonel yolak; eğer BRCA1 ve ya BRCA2 ya da her ikisinde bir fonksiyon kaybı varsa BRCA1, ATM kinaz tarafından fosforillenecek ve aynı kompleks tekrar oluşacaktır. Fakat BRCA1 kompleksi DNA hasar tamirini yönetmekte yetersiz olacaktır, bu da hücreyi iki yönden birine sürükleyecektir; genin tamiri başarısız olursa p53 miktarı artacak, p21 devreye girecek böylelikle hücre siklusu durduktan sonra hücre ölümü gerçekleşecektir.

p53 gibi kritik kontrol genlerinde hasar belirirse p53 ve p21 gibi kontrol genleri aktive olamayacak ve hücre proliferasyon olacaktır. Bu da hücrenin kanser yolunda ilerlemesine neden olacaktır.

2.7.1.4.1.1.6. BRCA1 ve BRCA2 Gen Mutasyonları

BRCA1'de meydana gelen mutasyonların rahim kanseri geliştirme riski BRCA2'ye göre daha fazladır. F.G.Couch ve arkadaşları; BRCA1 için 263 hasta üzerinde yaptıkları çalışmalarda 27 tip mutasyon saptamışlar (74). S.A.Gayther ve arkadaşları; BRCA2 için 226 hasta üzerinde yaptıkları çalışmalarda 26 tip mutasyon saptamışlar (75).

2.7.1.4.1.1.7. BRCA1 ve BRCA2'deki Mutasyonlar ve Sonuçları

BRCA1 ve BRCA2 genlerindeki mutasyonların kalıtsal olarak aktarılmasının kanser riskini 8 kat arttırdığı tespit edilmiştir. BRCA1 ve BRCA2 genleri üzerinde 2000 mutasyon saptanmış ve bu mutasyonları taşıyanların hayatları boyunca % 56-87 arası

meme kanseri ve % 20-60 arası rahim kanseri geliştirme riskine sahip oldukları bulunmuştur (71).

Mutasyon sonucunda; gen ürünü ya az sentezlenir ya da hiç sentezlenmez ya da bozuk fonksiyon gösterir. BRCA genlerindeki mutasyonların sonucunda; gen promoterlarının hipermetilasyonuna bağlı olarak BRCA1 mRNA'da düşüş olur ve BRCA1 proteini yeteri kadar sentezlenmez.

Nükleer lokalizasyon sinyallerinde defekt olursa, BRCA1 proteini nükleus içine giremez ve Rad51 ve BARD1 ile olan fonksiyonlarını yerine getiremez (76,77).

Mutasyon sonucunda BRCA1'in ring bölgesinde 61. ve 64. rezidülerdeki sisteinler yerine glisin kodlanır; sonuçta çinko iyonunun koordinasyonu bozulur ve parmaksı yapı oluşamaz ve BARD1 ile ilişkiye geçilemez (78).

İyonize radyasyon da mutasyona neden olabilmektedir (özellikle BRCA2 gen defektleri) bundan dolayı mammografi gibi radyasyon kullanılan tanı ve tedavi yöntemlerinin BRCA2 mutasyonu taşıyıcılarında kanseri tetikleyici etki yapabilmektedir. BRCA2 defektli meme kanserli hastalarda kullanılan temel gen terapisi radyasyonla tedaviye üstünlük göstermektedir.

2.7.1.4.1.2. p53

p53 geni 17. kromozomun p13-1 bandına yerleşmiştir ve moleküler ağırlığı 53 kDa'luk nükleer bir proteini kodlar. UV ışık, karsinojenler ve sitostatiklerin DNA'da oluşturdukları hasarı ortadan kaldırmak üzere aktifleşir. Hasar düzeltilemez ise hücre apoptoza yönlendirilir. p53 geninin her iki alleldeki kaybı (heterozigotluk kaybı) veya nokta mutasyonları çeşitli tümörlerde ve meme kanserlerinde gösterilmiştir. Meme kanserlerinde p53'ün yaklaşık % 60'ının nokta mutasyonu şeklinde bulunduğu, bunun birçok kanser tipinde kimyasal kanserojenlerle olduğu ileri sürülmüştür. Meme kanserlerinde 17p' n i n kaybı ile malign histopatolojik özellikler arasında yakın ilişki vardır (79-82).

Meme kanserlerinde aşırı p53 protein üretimi kötü prognoz için bir indikatördür. Dokuda mutant p53 pozitifliğinin tespiti % 80-90 oranında meme kanserlerini doğrular. Meme kanserlerinde yapılan çalışmalar, p53 ekspresyonu ile yüksek tümör derecesi,

yüksek proliferasyon indeksi, aneploidi ayrıca östrojen reseptörü (ER) ve progesteron reseptörü (PR) yokluğu arasında yakın ilişki olduğu fikrinde birleşmiştir. Bu parametreler kısa ömür ile ilişkili olduğundan p53 pozitifliği kötü prognoz ile de yakın ilişkilidir. Teşhis sırasında lenf nodu metastazına sahip olanlar kadar genelde tüm hastalarda kısa yaşam süresi ve hastalığın gözlenmediği aralıklar ile p53 ekspresyonu arasında prognostik bir anlamlılık bulunmuştur (82).

Meme kanserlerinin % 20-30 unda p53 inaktivasyonu gözlenir. p53 mutasyonlarının tespiti in situ'dan invazif karsinomaya geçiş için bir marker olarak kullanılabilir. In situ duktal karsinomlar da p53 mutasyonu gözlenmediği, buna karşılık meme karsinogenezinin erken evrelerinde p53'ün mutasyona uğradığı bildirilmiştir. Primer meme kanserli vakalarda p53, % 15 oranında pozitif saptanmış ve p53'ün meme kanserinin prognozundaki önemi belirtilmiştir (81).

Li-Fraumeni sendromuna sahip ailelerin germ hücrelerinde p53 predipozisyonu tespit edilmiştir. Li-Fraumeni sendromuna ait veriler içeren kişilerde, ayrıca normal meme dokusunda p53 mutasyonu saptanırsa bu erken bir meme karsinogenez bulgusu olarak kabul edilir (83). p53 mutasyonlarının invaziv meme kanserlerinin gelişiminden önce ortaya çıktığı, hastalığın önlenmesi ve tedavisi için önemli bir belirteç olduğu ileri sürülmektedir (84). p53'ün tümör çapı ve aksiller lenf tutulumu ile ilişkili olmadığını gösteren çalışmalar yanında, ER negatif meme karsinomlarında özellikle medullar ve adenoid kistik karsinomlarda p53 pozitifliği dikkat çekicidir (85).

2.7.1.4.1.3. PTEN

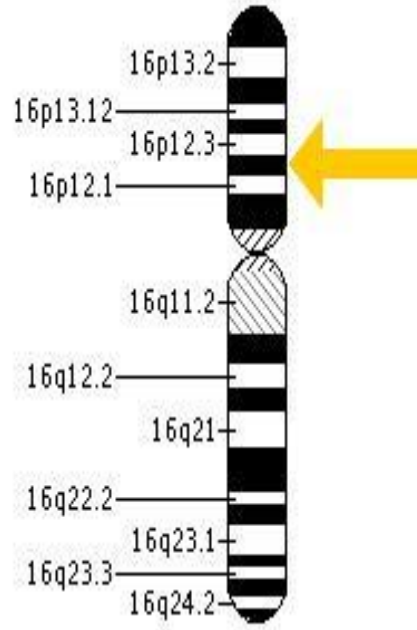
PTEN (phosphatase and tensin homologue, deleted on chromosome 10) geni hücre çekirdeği dışında yer alan tümör baskılayıcı gen olup hücrenin büyümesi, çoğalması, yaşamı ve migrasyonu gibi çok sayıda hücresel fonksiyonları denetlemektedir. PTEN geni 10q23 kromozomal bölgede yer almaktadır; lipid fosfataz etkisi ile fosfoinozimid-3 kinaz/ protein kinaz B (PI3K/AKT) sinyal yolunun ikincil habercisi olan fosfotidil inositol 3,4,5 trifosfatın (PIP 3) D3 konumundaki fosfatı ayırarak etkide bulunur. İşlev kaybı olabilmesi için her iki allelde de mutasyon olması

gereklidir. PTEN geninde en sık 5a-8b eksonları arasındaki mutasyon saptanmaktadır. Bunun sonucunda PTEN geni üretilmemekte ve gerek hücre çekirdeğinde, gerekse sitoplazmada PIP3/AKT yolunun etkisi ile oluşan kontrolsüz hücre çoğalması engellenememektedir. PTEN üretim kaybı endometriyal (86-96), prostat (97), meme (98) ve gliyal tümörlerde saptanmıştır. Tip 1 endometriyal kanserlerde “mikrosatellit instabilite”, “PTEN”, “k-ras” ve “b-katenin” gen mutasyonu olmak üzere 4 tip moleküler genetik değişiklik tespit edilmiştir (86,87,93). Bu moleküler değişiklikler atipik endometriyal hiperplazilerde de tanımlanmıştır (99).

Atlanta grubu, Soyoola ve arkadaşlarının Çin, Afrika ve Amerikalı kadınlarda MMAC1/PTEN gen mutasyonu ve bu mutasyona bağlı olarak p53 genindeki değişikliklerin endometriyal kanserlerdeki oranını araştırdığı 2003 Ocak tarihli yayınlarında % 28 oranında pozitiflik bulmuşlardır. Özellikle ileri evre kanserlerde daha yüksek oranda pozitiflik tespit etmişlerdir (100).

2.7.1.4.1.4. PALB2

PALB2 (**p**artner and **l**ocalizer of **BRCA2**), kromozom 16p12.2 üzerinde yerleşmiş ve BRCA2 ile ilgili yollarda bulunan bir proteini kodlayan gendir (Şekil 2.6, Şekil 2.7) (101). 131.295 Da molekül ağırlığına sahiptir; 13 ekson ve 38.196 baz çiftinden oluşur.



Şekil 2.6. PALB2'nin kromozomal lokalizasyonu

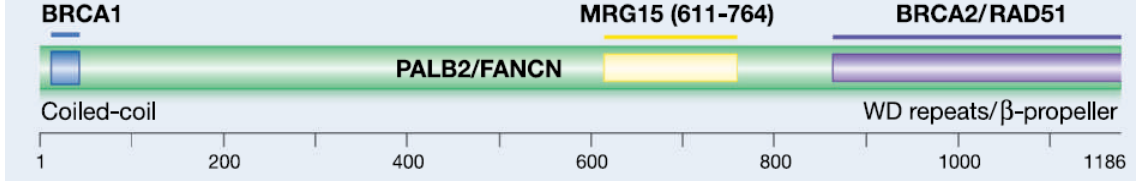


Şekil 2.7. PALB2'nin protein yapısı

PALB2, BRCA2 bağlayıcı protein (102) olarak 2006 yılında tespit edilmiş ve yakın zamanda BRCA1 ve RAD51 (103-106) ile doğrudan etkileşimi olduğu bildirilmiştir.

Protein affinite saflaştırma çalışmalarından PALB2'nin ilk defa BRCA2'nin fonksiyonel eşi olduğu tanımlanmıştır. Xia ve arkadaşlarının (103) yaptığı çalışmada BRCA2 antikoru ile endojen BRCA2 immunopresipite edilmiştir. BRCA2 antikoru olan OP95'in kullanımı sonucunda az sayıda protein Hela hücre ekstraktlarında keşfedilmiştir. Majör proteinler BRCA2 ve RAD51 olarak tanımlanmış; çöktürme sonucunda da yeni bir protein FLJ21816/LOC79728 olarak belirtilmiştir. Bu protein daha sonra PALB2 olarak adlandırılmıştır (103).

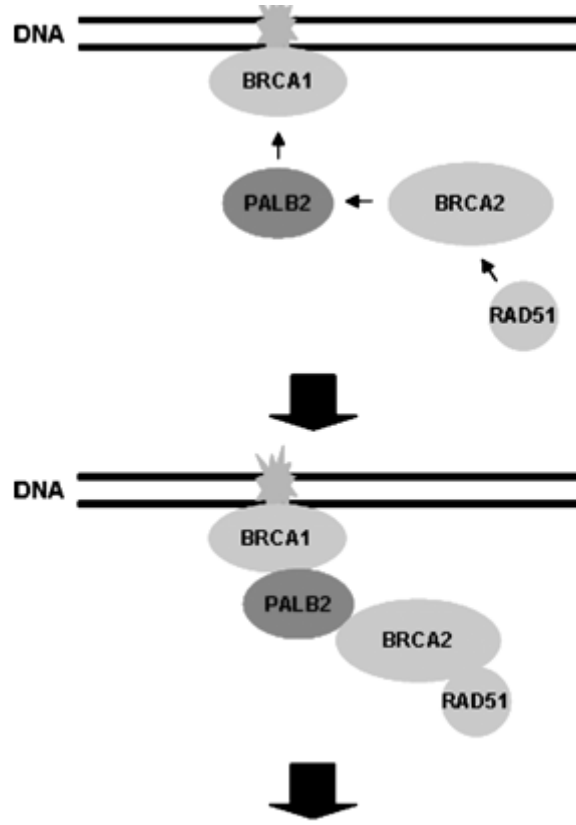
1.186 aminoasitlik PALB2 geni sarmal-bobin modeli şeklindedir. PALB2'nin amino terminali çift kıvrımlı domain yapısına, karboksi-terminal de WD40 tekrar motiflerine sahiptir (Şekil 2.8). WD40 tekrarları hücre bölünmesinin kontrolü, protein-protein etkileşimleri, RNA işlenmesi ve transkripsiyonel regülasyon gibi çeşitli hücresel işlemlerde fonksiyon görürler ve BRCA2/PALB2 kompleks oluşumu için de gereklidirler. PALB2'nin N-terminalinde mikrotübül ilişkili protein MAP1'in hafif zincir 3'ü ve Prefoldin'in (aktin ve tubulinle etkileşen bir polipeptid) bir parçası ile dizi homolojisi bulunmaktadır. 9-44. amino asitler arasında yer alan çift kıvrımlı domain BRCA1'in bağlanma bölgesidir ve BRCA1'in çift kıvrımlı domaini ile doğrudan etkileşir. Protein-protein etkileşimlerinde ve PALB2'nin oligomerizasyonunda yine çift kıvrımlı domain etkilidir. Oligomerizasyon, çift zincir kırıklarında PALB2'nin merkez noktasına yığılması için gereklidir. 836-1186 amino asitler arasındaki bölge de WD40 tekrar domaini olup BRCA2'nin amino-terminali için bağlanma yerini sağlar. Fonksiyonel çalışmalar BRCA2'nin fonksiyonel eşi olan PALB2'nin doğrudan BRCA1 ile etkileştiğini ve BRCA1 ve BRCA2 arasında bağlayıcı olarak davrandığını göstermektedir. WD40 tekrar fonksiyonel domainin kaybına neden olan kırılma tipi (truncating) mutasyonlar BRCA1-PALB2-BRCA2 etkileşimini bozar ve çift zincir kırık tamirini etkiler. PALB2 ayrıca çift zincir kırık tamirinde görev alan RAD51 ile kendisinin N-terminali (1-200 amino asit) ile etkileşir. PALB2-RAD51 bağlanmasını bozabilen bu bölgedeki mutasyonlar bu tamir yolağındaki PALB2'nin fonksiyonunu etkileyebilir (104).



Şekil 2.8. PALB2 geninin yapısı

Oliver ve arkadaşlarının (105) , X -ışın kristalografî çalışmalarında PALB2'nin C-terminalinin, PALB2 proteininin stabilizasyonu için önemli olduğunu ve bu bölgenin sonundaki dört kodon kaybının Y118X mutasyonuna neden olarak hızlıca degrade olan bir protein oluşturduğunu rapor etmişlerdir. Tek nükleotid varyantlarının çoğunluğu PALB2 geninin C-terminal ucuna lokalizedir ve birkaçı da N-terminaldedir.

PALB2, BRCA2 geninin ekstrem N-terminal bölgesine bağlanır ve BRCA2'nin stabilitesini destekler; DNA onarımında ve S fazı kontrol noktasında fonksiyon göstermesine izin verir. PALB2 homolog rekombinasyon ve çift zincir kırık tamirinde fonksiyon görür. DNA hasarından sonra çekirdekte RAD51-BRCA2'nin DNA hasar yerlerine yerleşimi PALB2 bağımlıdır. Hasarlı kromatindeki PALB2 ve BRCA2'nin lokalizasyonunda BRCA1 tarafından düzenlenir. PALB2 proteini doğrudan BRCA1'e bağlanır ve BRCA1-PALB2-BRCA2 bir kompleks oluşturur ve bu komplekte PALB2, BRCA1 ve BRCA2 arasında bir köprü oluşturur (Şekil 2.9). BRCA1 ve PALB2 birlikteliği BRCA2 tarafında yürütülen DNA tamir hasarı için önemlidir. Üç proteinden oluşan kompleks DNA çift zincir kırıklarından sonra homolog rekombinasyon tamirinde gereklidir. PALB2'nin azaldığı hücrelerde BRCA1/2'ye bağımlı olan DNA tamir yolu bozulur. Bu durum PALB2 geninin inaktivasyonunun BRCA1 veya BRCA2 genlerinin inaktivasyonunda olduğu gibi benzer biyolojik ve fenotipik değişikliklere neden olabileceğini göstermektedir (106).



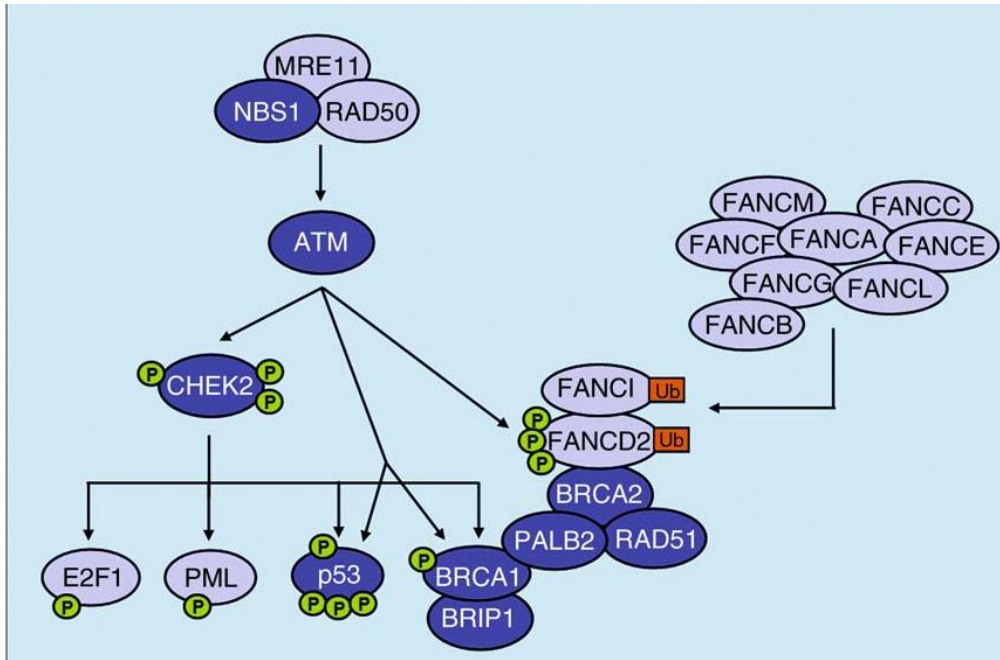
Homolog rekombinasyon

Şekil 2.9. Homolog rekombinasyonda PALB2'nin diğer genler ile etkileşimi

BRCA2 ve PALB2 FA-meme kanseri yolağında birlikte fonksiyon görürler. Monoallelik ve biallelik BRCA2 ve PALB2 mutasyon taşıyıcıları birçok klinik özelliği paylaşır. Heterozigot durumda germline bir mutasyonun varlığı meme, pankreas ve olası diğer kanserlerdeki risk artışıyla bağlantılı iken bu genin biallelik inaktivasyonu FA ile sonuçlanır (101).

Şu ana kadar tespit edilmiş 13 FA geni vardır. FA, otozomal resesif yada DNA çapraz bağlanma ajanları veya hücresel düzeyde kromozomal düzensizliğe karşı aşırı duyarlı X'e bağlı 13 genden birindeki germline biallelik mutasyonların neden olduğu genetik bir hastalıktır. BRCA2 ve PALB2 bilinen iki FA genidir (Şekil 2.10). Bu iki gen biallelik mutasyon taşıyıcılarında çocukluk çağı solid tümörlerinde, kadınlarda görülen meme kanseri vakalarında, monoallelik mutasyon taşıyıcılarındaki pankreas kanserlerinde artmış risk olarak adlandırılır (107,108). PALB2 geni başlangıçta BRCA2

geninin eşi ve lokalizörü olarak adlandırılmış olsada bu genin bir protein ürününün FA yolağında fonksiyonu olduğu saptandıktan sonra FANCD1 olarak adlandırılmıştır. FA hastalarındaki çalışmalar PALB2 geninin biallelik mutasyonlarının bu hastalığın alt tiplerinden sorumlu olduğunu göstermektedir (109). DNA tamir işlemi sırasındaki BRCA2 ve PALB2 arasındaki ilişki ve FA sendromunun klinik özelliklerindeki benzerlik karsinogenezde PALB2 değişikliklerinin rolünün olduğunu belirtmektedir. PALB2 değişikliklerinin ailesel meme, pankreas ve over kanserleri ile ilişkili olduğu bazı çalışmalarda gösterilmiştir.

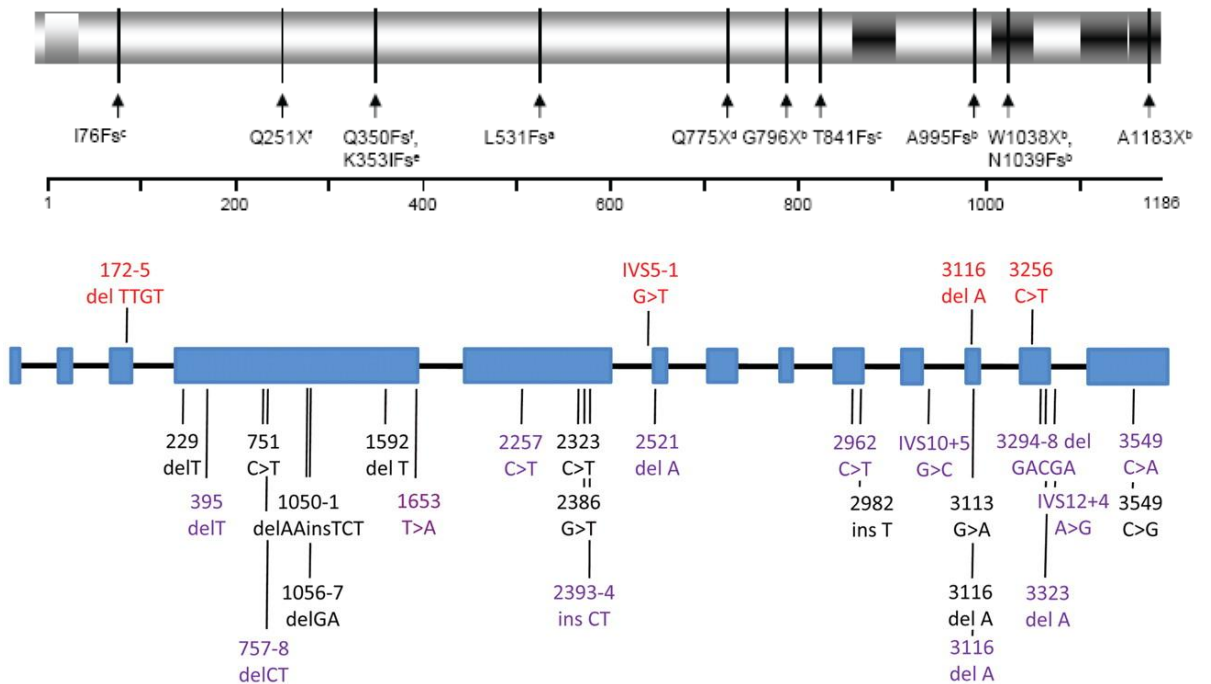


Şekil 2.10. Kalıtsal meme kanseri ve FA ile ilişkili proteinlerin karşılıklı etkileşimi

2007 yılından bu yana ailesel meme kanserlerinde PALB2 mutasyonlarının etkili olduğu tespit edildiğinden beri meme kanserinde patojenik PALB2 mutasyonları ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır (110-118). BRCA1 ve BRCA2 ile etkileşimi olan PALB2, CHEK2, BRIP1 ve ATM genlerindeki mutasyonların meme kanseri riskini iki kat arttırdığı saptanmıştır (110). PALB2 mutasyonlarının coğrafi yayılımı henüz kapsamlı olarak analiz edilmemiş ve kendi popülasyonlarındaki meme kanseri

vakalarında herhangi bir PALB2 mutasyonunu tanımlamak için yapılan çalışmalar başarısız olmuştur (119,120).

Batı populasyonlarında PALB2'nin düşük penetranslı meme kanseri yatkınlık allellerinin olabileceği doğrulanmıştır. Genlerdeki mutasyonların prevalansı farklı populasyonlarda genetik ve çevresel faktörlere bağlı olarak değişebilir. Altı çalışma PALB2 deki 10 farklı kırılma tipi (truncating) mutasyonun meme kanseri riskini arttırdığını rapor etmiştir (110). Bu mutasyonlardan 2323C>T (Q775X) Fransız Kanadalılarda son zamanlarda atasal (founder) mutasyon olarak tanımlanmıştır ve erken başlangıçlı (<50 yaş) meme kanserli Fransız Kanadalı kadınlarda % 0,5 olarak bulunmuştur. Benzer şekilde 1592delT Finlandiyalılarda atasal mutasyon olarak düşünülmüş ve Finlandiya dışında bu mutasyona rastlanmamıştır. 751C<T ve 1050_1051delAAinsTCT PALB2 kırılma tipi (truncating) mutasyonları da Çin populasyonunda tanımlanmış ve erken başlangıçlı meme kanserli Çinli kadınların % 1'inde PALB2 mutasyonlarının etkili olduğu saptanmıştır (110). Avustralya populasyonunda da 3113G>A (W1038X) ve 196C>T (Q66X) olarak belirtilen iki kırılma tipi (truncating) mutasyon bulunmuş olup, 196C>T (Q66X) mutasyonu ilk defa saptanmıştır (Şekil 2.11) (104).



Şekil 2.11. PALB2 genindeki mutasyonların yerleşimi

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubu ve Örnek Alımı

Bu çalışma 01.10.2010-15.08.2011 tarihleri arasında gerçekleştirildi. Çalışmaya Adana Acıbadem Hastanesi Onkoloji Polikliniği'ne müracaat eden ve meme kanseri tanısı konulan 30-76 yaş arası, 150 hasta ile daha önce meme kanseri tanısı konmamış, aile öyküsünde meme kanserli hasta bulunmayan, sigara ve alkol alışkanlığı olmayan 25-66 yaş arası, 150 sağlıklı kadın dahil edildi. Çalışma Acıbadem Üniversitesi Tıbbi Araştırmaları Değerlendirme Komisyonu'nun 21.06.2010 tarih ve 469 no' lu kararınca onaylandı. Hem hasta hem de kontrol grubundaki bireyler çalışmaya alınmadan önce çalışma konusunda bilgilendirildi. Tüm olgulardan çalışma ile ilgili "rıza formu" alındı.

Hasta grubu için ailesinde meme kanseri öyküsünün olup olmadığı, menopoz durumu östrojen ve progesteron reseptörü durumu ile ilgili bilgiler kaydedildi.

Hasta ve kontrol grubundaki bireylerden DNA izolasyonu için alınan 5 ml venöz kan EDTA içeren tüplere konuldu ve DNA izolasyonuna kadar -20 °C de buzdolabında saklandı.

3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

3.2. 1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Mutlak etil alkol (Merck-1.00986)
- Tris-Hidroklorid (Amresco-0234)
- Etilen Diamin Tetra Asetik Asit (EDTA) (Merck-1.08421)
- Ethidium Bromid (Amresco-X328)

- Orange G (Sigma-O3756)
- Agaroz (Sigma-A5093)

3.2.2. Kullanılan Aletler

- Mikrosantrifüj (Eppendorf)
- Soğutmalı Santrifüj (Sigma, 2-16K)
- Mikrodalga Fırın (Arçelik)
- Derin Dondurucu (Regal, RDD 1145)
- Hassas Terazı (Mettler Toledo)
- Buzdolabı (Regal, RBD 4602 NCF)
- Otomatik pipet (Gilson)
- Gerçek zamanlı PCR cihazı (Light Cyclers 480 II, Roche)
- Elektroforez Tankı (Biolab, HU 13)
- Elektroforez Güç Kaynağı (Wealtec, ELITE 300)
- Jel Görüntüleme Sistemi (Bio-Imaging Systems)
- Vorteks (VELP)
- Etüv (Binder)

3.2.3. Kullanılan Kitler

- High Pure PCR Template Kit (Katalog no. 1 796 828, Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Germany)

3.3. Kullanılan Ayıraçlar

3.3.1. DNA İzolasyonunda Kullanılan Ayıraçların Hazırlanması

DNA izolasyonu için High Pure PCR Template Kiti kullanıldı. Kit içeriği Çizelge 3.1’de verildi.

Çizelge 3.1. DNA izolasyonunda kullanılan kit içeriği

Kimyasal	Miktarı	İçeriği
Bağlayıcı tampon	20 ml	6 M guanidin-HCL, 10 mM Tris-HCL, %20 Triton X-100 (v/v), pH:4,4
Proteinaz K	90 mg	Liyofilize preparat
İnhibitör uzaklaştırıcı tampon	33 ml	5 M guanidine-HCL, 20 mM Tris-HCL, pH:6,6
Yıkama tamponu	20 ml	20 mM NaCl, 2 mM Tris-HCL, pH:7,5
Elüsyon tamponu	40 ml	10 mM Tris, pH:8,5

Yukarıda kit içeriğinde verilen DNA izolasyon setinde bulunan Proteinaz K, inhibitör uzaklaştırıcı tampon, yıkama tamponu DNA izolasyon kitinin prospektüsünde verilen bilgiler doğrultusunda aşağıda verilen şekilde işlemlere tabi tutuldu. Bağlayıcı tampon ve elüsyon tamponu ise hiçbir işlem uygulanmadan kullanıldı.

- **Proteinaz K:** Liyofilize proteinaz K’ya 4,5 ml bidistile su eklendi ve çalışma gününe kadar 500 µl’lik porsiyonlara ayrılarak -20 °C’ de saklandı.
- **İnhibitör uzaklaştırıcı tampon:** 33 ml tampona 20 ml mutlak etil alkol eklendi.
- **Yıkama tamponu:** 20 ml yıkama tamponuna 80 ml mutlak etil alkol eklendi.

3.3.2. Elektroforez İçin Kullanılan Ayıraçların Hazırlanması

10XTBE (Tris-Borik Asit-EDTA) Stok Solüsyonu pH 8,8

- Tris Baz.....108 g
- Borik Asit.....55 g
- EDTA.....8,3 g

Tartılan kimyasal maddeler distile suda çözüldü ve pH'sı 8,8'e ayarlandı. Distile su ile 1 litreye tamamlandı.

Elektroforez Yürütme Tamponu

10X TBE tampondan distile su ile seyreltilerek hazırlanmış olan 1X TBE içerisine 0,5 µg/ml konsantrasyonunda etidyum bromid (EtBr) konularak hazırlandı.

Agaroz Jel Çözeltilisi

2,4 g agaroz, 120 ml 1X TBE içerisinde mikrodalga fırında eritildikten sonra 0,5 µg/ml konsantrasyonda EtBr eklendi.

Orange G Çözeltilisi

- Na₂EDTA.....2,232 g
- Orange G.....200 mg
- Gliserol.....60 ml
- Distile su.....40 ml

3.4. Yöntemler

3.4.1. Tam Kandan DNA İzolasyonu

Hücreler, tüm nükleazları hemen inhibe eden bir koatropik tuz (guanidin-HCL) varlığında proteinaz K ile kısa bir inkübasyon sonunda parçalanır. Hücresel nükleik asitler pürifikasyon filtre tüplerinde bulunan özel fiber cam yapıya seçici olarak bağlanır. Bağlı nükleik asitler kontamine edici hücresel elemanlardan hızlı yıkama ve çevirme işlemleri ile arındırılır. Özel bir inhibitör temizleyici tampon ile bu işlem gerçekleştirilir. Son olarak düşük yoğunluklu tuz elüsyonu ile nükleik asitlerin fiber cam yapıdan ayrılmaları sağlanır.

DNA İzolasyon Protokolü

- Ependorf tüpüne, 200 µl EDTA' lı tam kan alındı ve üzerine sırasıyla 200 µl bağlayıcı tampon ve 40 µl proteinaz K eklendi ve tüpler hemen vortekslendi.
- Tüpler 10 dakika 72°C'de inkübe edildi.
- Tüpe 100 µl izopropanol eklendi, vortekslendi ve karışım özel filtre tüplerine aktarıldı.
- 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj edildi, filtreden geçen karışım atıldı.
- Filtre tüpün içine 500 µl inhibitör uzaklaştırıcı tampon eklendi.
- 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj edildi, filtreden geçen karışım atıldı.
- Filtre tüpün içine 500 µl yıkama tamponu eklendi.
- 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj edildi, filtreden geçen karışım atıldı.
- İkinci kez filtre tüpün içine 500 µl yıkama tamponu eklendi.
- 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj edildi, filtreden geçen karışım atıldı.
- Filtre tüp boşaltıldıktan sonra 10 saniye 13.000 rpm'de santrifüj edildi.
- Filtre tüpü, yeni bir ependorf tüpü içine yerleştirildi. 72°C'de bekletilmiş olan elüsyon tampondan 200 µl filtre tüpe pipetlendi.
- 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj sonunda, filtre tüpten ayrılan, saf DNA elde edilmiş oldu.

3.4.2. Elektroforezde Yürütme

DNA izolasyonu sonunda elde edilen örnekler % 2' lik agaroz jelde elektroforez işlemine tabi tutuldu ve jel görüntüleme sisteminde incelendi.

3.4.3. Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR)

RT-PCR hedef DNA'daki nükleotid dizisi bilinen nokta mutasyon ya da delesyon içeren bir bölgesinin amplifiye edilerek mutasyonun tespit edilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Analiz denatürasyon, amplifikasyon, melting ve soğuma olmak üzere dört basamakta yapılmaktadır. Çalışmaya başlamadan önce Taq polimeraz, iki primer ve prob, dört çeşit deoksiribonükleotid fosfat (dNTP), belirli derişimde magnezyum klorür ($MgCl_2$) ve üzerinde çalışılacak DNA'dan oluşan karışım hazırlanır.

Denatürasyon basamağında sıcaklık artırılır ve DNA zincirindeki nükleotidler arasındaki bağlar kopararak amplifikasyon işlemine hazır hale getirilir. DNA denatüre edildikten sonra oligonükleotid yapısındaki primerler sentezlenecek hedef bölgeyi belirleyecek şekilde ayrılan DNA zincirlerine yapışırlar. Termofilik bir bakteri olan *Thermus aquaticus*' dan saflaştırılan Taq polimeraz enzimi yardımıyla belirlenen bölge dört çeşit dNTP kullanılarak sentezlenir. Annealing (uzama) adı verilen sentez işlemi sırasında mutasyon olan diziye uygun olarak sentezlenmiş olan mutasyon probu (mutation probe) mutasyon bölgesine, diğer prob olan çapa probu (anchor probe) ise mutasyon probunun 5' ucu tarafına ve arada en fazla 5 nükleotidlik mesafe kalacak şekilde yerleşir. Amplifikasyon işlemi ortalama 40-50 kez tekrar edilerek yaklaşık 2^{40-50} sayıda ürün elde edilmiş olur.

3.4.3.1. Primer ve Prob Dizaynı

Bütün amplifikasyon primerleri standart fosforamid kimyası (MWG-Biotech) ve tüm flurofor-işaretli proplar TIB-MOLBIOL tarafından sentezlendi ve ters faz HPLC ile saflaştırıldı. Çalışma için kullanılan primer prob setleri Çizelge 3.2.-3.4. deki gibidir.

Çizelge 3.2. PALB2 intron 4 (rs16940342)genotiplemesi için kullanılan primer ve prob dizileri

Primer ve Proplar	Primer ve Prob Dizileri
Forward Primer	5'_CTGTGTTCCAACGCACC_3'
Reverse Primer	5'_CCT6ACTTTTTGATGACTTTGTATCC_3'
Belirleme Probu	5'_CATGTCCAATGGTACAGAGCA--FL_3'
Çapa Probu	5'-CCTGCTACCTATTTTTGCACATAAAGTTG--P_3'

Çizelge 3.3. PALB2 intron 6 (rs249954) genotiplemesi için kullanılan primer ve prob dizileri

Primer ve Proplar	Primer ve Prob Dizileri
Forward Primer	5'_GGGTAATGCAGGCAGACATTA_3'
Reverse Primer	5'_GAGAGCTCAAAACATAAACAGAGG_3'
Belirleme Probu	5'_AATATTCTCTCCAGTGTCTCGTGTCTTACAT--FL_3'
Çapa Probu	5'-AAAACCTTAATGAACTGAAAAGAATTCA--P_3'

Çizelge 3.4. PALB2 intron 11 (rs249935) genotiplemesi için kullanılan primer ve prob dizileri

Primer ve Proplar	Primer ve Prob Dizileri
Forward Primer	5'_GGACCACTTTGTGTGTTACT_3'
Reverse Primer	5'_GTCCTACAGCCAGAAAATTTA_3'
Belirleme Probu	5'_CCCGTGGCATCTTTTTTCA—FL_3'
Çapa Probu	5'_TTGGATAGCAATGTTTGTCTTTCTTGAAA—P_3'

Tek nükleotid polimorfizm (SNP)'lere ait veriler NCBI SNP veri bankası (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?locusId=6093)'ndan alındı.

rs16940342 için Referans Dizi Gen Haritalaması

Referans Dizi Gen	Gen (ID)	Pozisyon	Allel
NG_007406.1	PALB2 (79728)	13093	A

rs249954 için Referans Dizi Gen Haritalaması

Referans Dizi Gen	Gen (ID)	Pozisyon	Allel
NG_007406.1	PALB2 (79728)	17212	C

rs249935 için Referans Dizi Gen Haritalaması

Referans Dizi Gen	Gen (ID)	Pozisyon	Allel
NG_007406.1	PALB2 (79728)	32455	A

3.4.3.2. PCR Protokolü

PALB2'nin üç varyasyon analizi için kullanılan materyallerin konsantrasyon ve miktarları Çizelge 3.5'de, PCR koşulları ise Çizelge 3.6'da gösterildi.

Çizelge 3.5. PALB2 intron 4 polimorfizm analizi için kullanılan materyallerin konsantrasyon ve miktarları

İçerik	Konsantrasyon	Bir Örnek İçin Harcanan Miktar
Forward primer	0,5 µM	0,5 µl
Reverse primer	0,5 µM	0,5 µL

Çapa prob	0,2 µM	0,5 µL
Belirleme probu	0,2 µM	0,5 µL
Master miks	-	5 µL
Örnek DNA	50 ng	2,5 µl
Steril su	-	0,5 µl
Toplam tepkime hacmi		10 µl

Çizelge 3.6. PALB2 intron 4 polimorfizm analizi için PCR koşulları

PCR aşamaları		Hedef ısı (°C)	Bekleme süresi (sn)	Isı geçiş oranı (°C/sn)
Denatürasyon		95	600	4,4
Amplifikasyon (45 Döngü)	Denatürasyon	95	10	4,4
	Yapışma	54	20	2,2
	Uzama	72	16	4,4
Melting Curve	Dinlenme 1	95	30	4,4
	Dinlenme 2	40	1	1,5
	Okuma	80	0	-
Soğuma		40	30	2,2

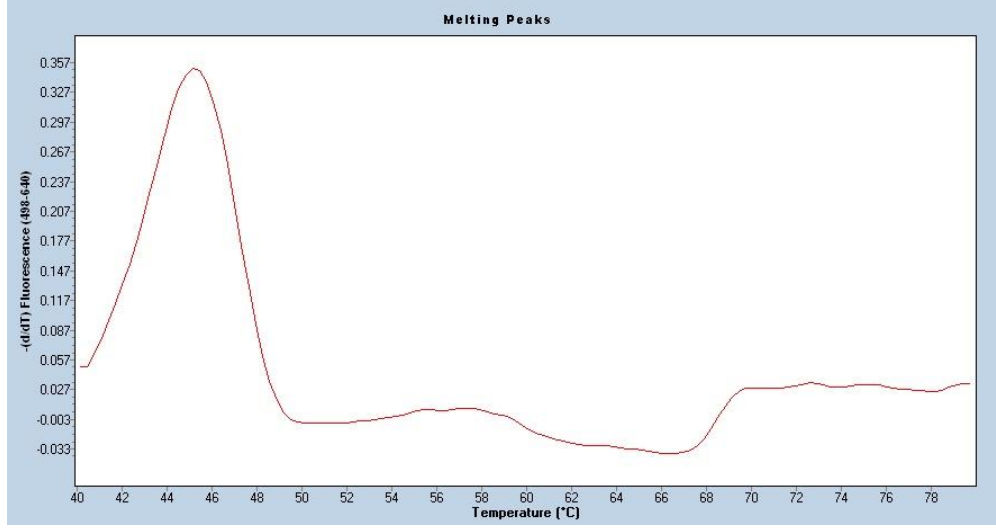
PALB2 intron 6 ve PALB2 intron 11 polimorfizmleri için de aynı PCR koşulları ve miktarları kullanıldı.

3.4.3.3. Melting Curve Analizi ile Genotip Belirlenmesi

Bir DNA molekülünün erime ısı (melting temperature: T_m) içerdiği G+C (guanin+sitozin) miktarına, uzunluğuna ve iki zincir arasında gösterdiği homolojiye bağlı olarak değişmektedir.

Melting curve analizi ile genotip belirlenmesi iki hibridizasyon probu kullanılarak yapılmaktadır. Hibridizasyon problemlerinden ilki mutasyon olan diziyeye bağlanan ve 5' ucundan LightCycler-Red (LC-Red) fluorophore (LC-Red 640 yada LC-Red 705) ile işaretlenmiş olan mutasyon probudur. Diğer hibridizasyon probu ise 3' ucundan fluorescein ile işaretlenmiş olan çapa probudur. İki hibridizasyon probu hedef dizilere yapıştıktan sonra verici prob olan çapa probundaki fluorescein maddesi LightCycler cihazının ışık kaynağı tarafından eskite edilir ve eksitasyon enerjisinin bir kısmı mutasyon probunda bulunan LC-Red'e transfer edilir (Fluorescence Resonance Transfer Energy: FRET). LC-Red tarafından saçılan floresan LightCycler cihazı tarafından ölçülür. Melting basamağında sıcaklık yavaş yavaş (0,1 sn/ °C) artırılır. Mutasyon probunun bağlandığı bölgede mutasyon varsa nükleotidlerin eşleşmesi tam olarak gerçekleşmediği için T_m daha düşük sıcaklıkta ayrılacaktır. Eğer mutasyon yoksa prob daha yüksek sıcaklıkta ayrılacaktır. Mutasyon probunun bağlandığı diziden kopmasıyla iki prob arasındaki FRET gerçekleşmez, cihaz tarafından ölçülen floresan düzeyi azalır ve ekrana bir pik olarak yansır.

Çalışmada genotipik görüntülemesi yapılan PALB2 intron 11'in Melting Curve analiz görüntüleri ve değerlendirmeleri Şekil 3.1'de verildi.



Şekil 3.1. PALB2 İtron 11'e ait Melting Curve analizi

3.4.4. İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi SPSS 11.5 (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc. Chicago, IL, United States) paket programı kullanılarak yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler ortalama \pm standart sapma şeklinde ifade edildi. Kategorik veriler ise gözlem sayısı (n) ve yüzde (%) şeklinde gösterildi. Genotip dağılımı ve allel sıklıkları gruplar arasında ki-kare (χ^2) testi kullanılarak karşılaştırıldı. Referans kategorilerine göre hasta ve kontrol grupları arasında hem genotip hem de allel bazında % 95 güven aralıkları ve anlamlılık düzeyleri hesaplandı. $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya patolojik olarak meme kanseri tanısı almış 150 kadın ve kontrol grubu olarak akrabalarında, kendisinde kanser ve geçirilmiş önemli sağlık sorunu olmayan 150 kadın olmak üzere toplam 300 birey dahil edildi. Kontrol grubunun yaş ortalaması $47,75 \pm 8,14$, hasta grubunun yaş ortalaması $49,66 \pm 10,55$, çalışmaya katılan bütün bireylerin yaş ortalaması ise $48,71 \pm 9,46$ olarak saptandı. Yaş değişkeni bakımından hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlendi ($p=0,081$) (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Hasta ve kontrol gruplarının yaş ortalamaları

	N	Minimum	Maksimum	Ortalama	Standart Sapma	p
Kontrol	150	25,00	66,00	47,75	8,14	0,081
Hasta	150	30,00	76,00	49,66	10,55	
Toplam	300	25,00	76,00	48,71	9,46	

Çalışmada yer alan hasta grubundaki olguların klinik özellikleri Çizelge 4.2.'de görülmektedir.

Çizelge 4.2. Hasta gruba ilişkin klinik özellikler

	Olgu sayısı (n)	Yüzde (%)
Menopoz durumu		
Premenopoz	51	34,0
Postmenopoz	77	51,3
Bilinmeyen	22	14,7
Aile Öyküsü		
Pozitif	24	16,0

Negatif	126	84,0
ÖSTROJEN RESEPTÖRÜ		
Pozitif	123	82,0
Negatif	27	18,0
PROGESTERON RESEPTÖRÜ		
Pozitif	65	43,3
Negatif	85	56,7

Menopoz durumlarına göre hastalar sınıflandırıldığında 51 hasta (% 34,0) premenopozal, 77 hasta (% 51,3) postmenopozal dönemdedi. 24 kişide (% 16,0) aile öyküsü pozitif, 126 kişide ise negatifti. Östojen reseptörü 123 olguda (% 82,0) pozitif, 27 olguda (% 18,0) negatif bulundu. Progesteron reseptörü 65 olguda (% 43,3) pozitif, 85 olguda (% 56,7) negatif olarak belirlendi.

Çalışmaya katılan bireylerin PALB2 intron 4 polimorfizmine ait genotip bulguları değerlendirildiğinde kontrol grubundan 49 bireyin (% 32,7) AA genotipine, 101 bireyin (% 67,3) AG genotipine, hasta grubundan ise 67 bireyin (% 44,7) AA genotipine, 83 bireyin (% 55,3) AG genotipine sahip oldukları belirlenirken GG genotipine olgularda hiç rastlanmadı. PALB2 intron 4 polimorfizmi için genotip dağılımı bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark vardı (p=0,033) (Çizelge 4.3) (Şekil 4.1).

Çizelge 4.3. PALB2 intron 4 polimorfizmi genotip dağılımı

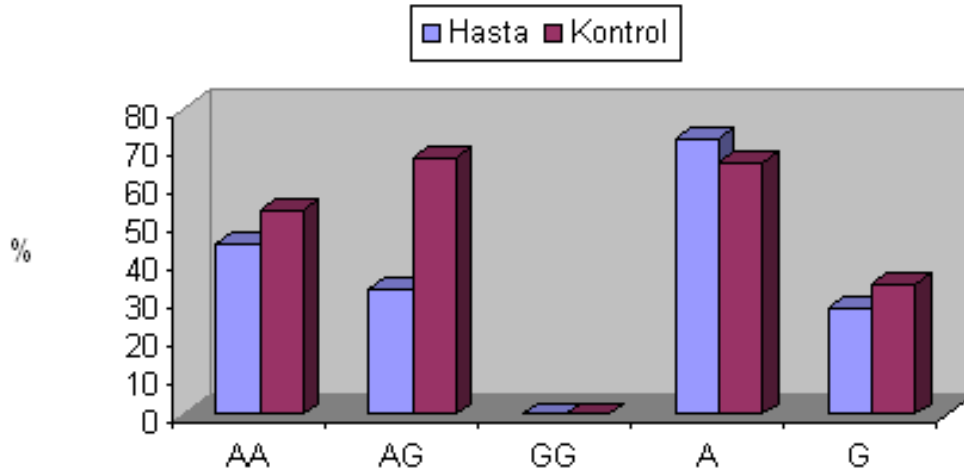
Genotipler	Kontrol n (%)	Hasta n (%)	OR (% 95 GA)	p değeri
AA	49 (% 32,7)	67 (% 44,7)	1,00 (referans)	0,033
AG	101 (% 67,3)	83 (% 53,3)	1,66 (1,04-2,66)	

PALB2 intron 4 polimorfizmi allel sıklıklarının dağılımı incelendiğinde kontrol grubunda A alleli görülme sıklığı % 66, G alleli görülme sıklığı % 34 iken hasta

grubunda A alleli görülme sıklığı % 72, G alleli görülme sıklığı % 28 olarak belirlendi (Çizelge 4.4) (Şekil 4.1). Allel sıklıkları bakımından anlamlı bir farklılık saptanmadı.

Çizelge 4.4. PALB2 intron 4 polimorfizmi allel sıklıklarının dağılımı

Allel	Kontrol n (%)	Hasta n (%)	OR (% 95 GA)	p değeri
A	199 (% 66,0)	217 (% 72,0)	1,00 (referans)	0,114
G	101 (% 34,0)	83 (% 28,0)	1,33(0,94-1,88)	



Şekil 4.1. PALB2 intron 4 polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının dağılımı

PALB2 intron 6 polimorfizmi incelendiğinde hasta grubunda 150 bireyde (% 100) CC genotipi görülürken, CT ve TT genotiplerine rastlanılmadı. C alleli görülme sıklığı % 100, T alleli görülme sıklığı % 0 olarak bulundu. Kontrol grubunda da aynı sonuçlar elde edildi (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5.PALB2 intron 6 polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının dağılımı

	Kontrol n (%)	Hasta n (%)
CC	150 (% 100)	150 (% 100)
CT	0 (% 0)	0 (% 0)
C Allel	300 (% 100)	300 (% 100)
T Allel	0 (% 0)	0 (% 0)

PALB2 intron 11 polimorfizmi incelendiğinde hasta grubunda 150 bireyde (% 100) AA genotipi görülürken, AG ve GG genotiplerine rastlanılmadı. A alleli görülme sıklığı % 100, G alleli görülme sıklığı % 0 olarak gözlemlendi. Kontrol grubunda da aynı sonuçlar elde edildi (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6.PALB2 intron 11 polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının dağılımı

	Kontrol n (%)	Hasta n (%)
AA	150 (% 100)	150 (% 100)
AG	0 (% 0)	0 (% 0)
A Allel	300 (% 100)	300 (% 100)
G Allel	0 (% 0)	0 (% 0)

Premenopozal ve postmenopozal durum karşılaştırıldığında, premenopozal meme kanseri saptanan olguların 23'ü AA genotipine sahipken, 28'inin AG genotipine sahip olduğu, postmenopozal meme kanseri saptanan olguların 34'ünün AA genotipine, 43'ünün ise AG genotipine sahip olduğu belirlendi. Premenopozal ve postmenopozal grupta A allelinin sıklığı sırasıyla % 72,5, % 72,1; G allelinin sıklığı % 27,5, % 27,9 olarak belirlendi. Premenopozal kadınlar ile postmenopozal kadınların PALB2 intron 4 polimorfizmi genotip ve allel sıklığı dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Menopozal duruma göre PALB2 intron 4 polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının dağılımı

	Premenopoz n (%)	Postmenopoz n (%)	Bilinmeyen n (%)	p değeri
AA	23 (% 45,1)	34 (% 44,2)	10 (% 45,5)	0,991
AG	28 (% 54,9)	43 (% 55,8)	12 (% 54,5)	
A Allel	74 (% 72,5)	111(% 72,1)	32 (% 72,7)	0,995
G Allel	28 (% 27,5)	43 (% 27,9)	12 (% 27,3)	

Pozitif aile öyküsüne sahip 13 olgunun AA, 11 olgunun AG genotipine sahip olduğu saptandı. Pozitif aile öyküsü bulunmayan 54 olgu AA genotipine sahipken, 72 olgunun AG genotipine sahip olduğu belirlendi. Pozitif aile öyküsü bulunan olgularda A allelinin sıklığı % 77,1 iken, G allelinin sıklığı % 22,9 bulundu. Negatif aile öyküsü bulunan olgularda A ve G allellerinin sıklığı sırasıyla % 71,4, % 28,6 olarak belirlendi. Pozitif aile öyküsü bulunan olgular ile negatif aile öyküsü bulunan olguların PALB2 intron 4 polimorfizmi genotip ve allel sıklığı dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Aile öyküsüne göre PALB2 intron 4 polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının dağılımı

Aile Öyküsü	Pozitif n (%)	Negatif n (%)	p
AA	13 (% 54,2)	54 (% 42,9)	0,307
AG	11 (% 45,8)	72 (% 57,1)	
A Allel	37 (% 77,1)	180 (% 71,4)	0,531
G Allel	11 (% 22,9)	72 (% 28,6)	

Pozitif östrojen reseptörüne sahip 51 olgunun AA, 72 olgunun AG genotipine sahip olduğu saptandı. Negatif östrojen reseptörüne sahip 16 olgu AA genotipine sahipken, 11 olgunun AG genotipine sahip olduğu belirlendi. Pozitif östrojen reseptörüne sahip olgularda A allelinin sıklığı % 70,7 iken, G allelinin sıklığı % 29,3

bulundu. Negatif östrojen reseptörüne sahip olan olgularda A ve G allellerinin sıklığı sırasıyla % 79,6, % 20,4 olarak belirlendi. Pozitif östrojen reseptörüne sahip olgular ile negatif olguların PALB2 intron 4 polimorfizmi genotip ve allel sıklığı dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Östrojen reseptörüne göre PALB2 intron 4 polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının dağılımı

Östrojen Reseptörü	Pozitif n (%)	Negatif n (%)	p
AA	51 (% 41,5)	16 (% 59,3)	0,092
AG	72 (% 58,5)	11 (% 40,7)	
A Allel	174 (% 70,7)	43 (% 79,6)	0,248
G Allel	72 (% 29,3)	11 (% 20,4)	

Pozitif progesteron reseptörüne sahip 23 olgunun AA, 42 olgunun AG genotipine sahip olduğu saptandı. Negatif progesteron reseptörüne sahip 44 olgu AA genotipine sahipken, 41 olgunun AG genotipine sahip olduğu belirlendi. Pozitif progesteron reseptörüne sahip olgularda A allelinin sıklığı % 67,7 iken, G allelinin sıklığı % 32,3 bulundu. Negatif progesteron reseptörüne sahip olan olgularda A ve G allellerinin sıklığı sırasıyla % 75,9, % 24,1 olarak belirlendi. Genotip dağılımları bakımından progesteron reseptörü pozitif ve negatif grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı; allel sıklığı dağılımı arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. Progesteron reseptörüne göre PALB2 intron 4 polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının dağılımı

Progesteron Reseptörü	Pozitif n (%)	Negatif n (%)	p
AA	23 (% 35,4)	44 (% 51,8)	0,046
AG	42 (% 64,6)	41 (% 48,2)	
A Allel	88 (% 67,7)	129 (% 75,9)	0,149
G Allel	42 (% 32,3)	41 (% 24,1)	

5. TARTIŞMA

Meme kanseri kadınlarda tüm dünyada en sık görülen kanser tipidir ve kansere bağlı ölümlerde ilk sırayı almaktadır. Yeni açıklanan verilere göre 2008’de tüm dünyada tahmin edilen yeni vaka sayısı 1.383.500, meme kanserine bağlı ölüm sayısı ise 458.400 olarak tahmin edilmektedir (121). Ölüm oranının yüksek olması ve görülme sıklığının artması nedeniyle meme kanserinin erken tanı ve tedavisine olanak sağlayacak moleküler genetik çalışmalar hız kazanmıştır.

Meme kanseri etiolojisinde cinsiyet, aile öyküsü, yaş, radyasyon, obezite, hormonal ve çevresel faktörler gibi çeşitli etkenler suçlanmaktadır. Meme kanserinin çok çeşitli çevresel faktörlerin yanı sıra gen polimorfizmleri (SNP) gibi genetik değişikliklerden de kaynaklanabileceği konusunda fikir birliğine varılmıştır.

Kalıtsal meme kanserinden sorumlu 10 farklı gen, genomik bütünlüğü korumak için kullanılan yolakta fonksiyon göstermektedir. Bu genlerden biri de 2006 yılında keşfedilen PALB2 genidir. PALB2, BRCA2’nin eşi olup DNA hasarında BRCA2’nin çekirdekte lokalizasyonunu sağlar. Genetik çalışmalar PALB2’nin homolog rekombinasyon tamirinde ve tümör süpresyonunda etkili olduğunu göstermiştir. 2007 yılından bu yana yapılan araştırmalar da PALB2 mutasyonlarının ailesel meme kanserlerinde etkili olduğunu ve meme kanseri riskini iki kat arttırdığını belirtmiştir (110).

Bu çalışmada, PALB2 geninde tanımlanan üç polimorfizm ile meme kanseri arasındaki ilişkinin araştırılarak genetik yatkınlığın belirlenmesi amaçlanmıştır. Meme kanseri vakalarında PALB2 gen polimorfizminin etkilerine dair az bilgi bulunmaktadır. Bu çalışma, PALB2 gen polimorfizminin Türk kadın bireylerde genotiplendirilmesi ve allel sıklıklarının belirlenmesi açısından Türkiye’de yapılan ilk çalışma özelliğini taşımaktadır. Literatürde çalışma konumuzla bire bir ilgili araştırmalar bulunmadığından benzer çalışmalarla karşılaştırmalar yapılmıştır.

Çalışmaya patolojik olarak meme kanseri tanısı almış 150 kadın ve kontrol grubu olarak akrabalarında, kendisinde kanser ve geçirilmiş önemli sağlık sorunu olmayan 150 kadın olmak üzere toplam 300 birey dahil edilmiştir. Tüm bireylerin

DNA'ları izole edildikten sonra RT-PCR yöntemi kullanılarak meme kanseri ile ilişkili olduğu düşünülen PALB2 geninin polimorfik yapısı ortaya konmaya çalışılmıştır ve hedef DNA'daki nükleotid dizisi bilinen nokta mutasyon amplifiye edilerek tespit edilmiştir.

Meme kanserinde yaş önemli risk faktörü olarak değerlendirilmektedir. Meme kanserinin görülme sıklığı ilerleyen yaşla birlikte artmaktadır. Çalışmamızda kontrol grubunun yaş ortalaması $47,75 \pm 8,14$, hasta grubunun yaş ortalaması $49,66 \pm 10,55$, çalışmaya katılan bütün bireylerin yaş ortalaması ise $48,71 \pm 9,46$ olarak saptanmıştır. Yaş değişkeni bakımından hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p=0,081$).

Çalışmaya katılan bireylerin PALB2 intron 4 polimorfizmine ait genotip bulguları değerlendirildiğinde kontrol grubunda AA genotipi % 32,7, AG genotipi % 67,3, hasta grubunda ise AA genotipi % 44,7, AG genotipi % 55,3 olarak bulunmuştur; GG genotipine olgularda hiç rastlanmamıştır. Allel sıklıklarının dağılımı incelendiğinde kontrol grubunda A alleli görülme sıklığı % 66, G alleli görülme sıklığı % 34 iken hasta grubunda A alleli görülme sıklığı % 72, G alleli görülme sıklığı % 28 olarak belirlenmiştir. PALB2 intron 4 polimorfizmi için genotip dağılımı bakımından gruplar arasındaki fark anlamlı, allel sıklıkları bakımından anlamsız bulunmuştur. PALB2 intron 4 polimorfizmi için AG genotipine sahip bireylerde hastalık görülme riski 1,664 kat daha fazladır.

PALB2 intron 6 polimorfizmi incelendiğinde hasta ve kontrol grubunda CC genotipi % 100 görülürken CT ve TT genotiplerine rastlanılmamıştır. C alleli frekansı % 100, T alleli frekansı % 0 olarak bulunmuştur.

PALB2 intron 11 polimorfizminde her iki grupta AA genotipinin dağılımı % 100 bulunmuş, AG ve GG genotiplerine rastlanılmamıştır. A alleli görülme sıklığı % 100, G alleli görülme sıklığı % 0 olarak gözlenmiştir. Bu sonuçlar intron 6 ve intron 11 polimorfizmleri ile meme kanseri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir bağlantı olmadığını göstermektedir.

PALB2 geni ile ilgili çalışmalar daha çok kırpılma tipi (truncating) mutasyon şeklinde olup tek nükleotid polimorfizmi ile ilgili sadece Çin toplumunda iki polimorfizm çalışması bulunmaktadır. Chen ve arkadaşlarının (67) yaptığı çalışmada

rs249954 ve rs16940342 polimorfizlerinin, Cao ve arkadaşları (6) ise rs249935 polimorfizminin meme kanseri ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır.

İleri menopoz yaşı kadınlarda meme kanseri riskini arttıran faktörlerden biridir. Postmenopozal kadınlarda görülen meme kanseri riski premenopozal kadınlara göre yaklaşık iki kat daha fazladır. Çalışmamızda premenopozal olguların 23'ü AA genotipine sahipken, 28'inin AG genotipine sahip olduğu, postmenopozal meme kanseri saptanan olguların 34'ünün AA genotipine, 43'ünün ise AG genotipine sahip olduğu belirlenmiştir. Premenopozal ve postmenopozal grupta A allelinin sıklığı sırasıyla % 72,5, % 72,1; G allelinin sıklığı % 27,5, % 27,9 olarak belirlenmiştir. Premenopozal kadınlar ile postmenopozal kadınların PALB2 intron 4 polimorfizmi genotip ve allel sıklığı dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Ailesel meme kanserlerinde, ailesinde meme kanseri tanısı almış birinci derece akrabası bulunan kadınlarda, meme kanseri riski iki kattan daha fazla artmaktadır. Çalışmamızda pozitif aile öyküsüne sahip 13 olgunun AA, 11 olgunun AG genotipine sahip olduğu saptanmıştır. Pozitif aile öyküsü bulunmayan 54 olgu AA genotipine sahipken, 72 olgunun AG genotipine sahip olduğu belirlenmiştir. Pozitif aile öyküsü bulunan olgularda A allelinin sıklığı % 77,1 iken, G allelinin sıklığı % 22,9 bulunmuştur. Negatif aile öyküsü bulunan olgularda A ve G allellerinin sıklığı sırasıyla % 71,4, % 28,6 olarak belirlenmiştir. Pozitif aile öyküsü bulunan olgular ile negatif aile öyküsü bulunan olguların PALB2 intron 4 polimorfizmi genotip ve allel sıklığı dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Çalışmamızda yer alan kadınların büyük çoğunluğunun ailesel meme kanseri öyküsü bulunmaması nedeniyle meme kanseri gelişmesi açısından düşük risk grubunda yer aldıkları söylenebilir.

Östrojen ve progesteron reseptörleri de, meme kanserlerinde oldukça yaygın kullanılan ve tedavi seçimini primer olarak etkileyen prognostik faktörlerdir. Östrojen ve progesteron reseptörü pozitifliği genel olarak hormon replasman tedavisine iyi yanıt ve uzun sağkalımı göstermekle birlikte, diğer birçok faktörle etkileşim içindedir. Progesteron reseptörü ise hastalık nüksü durumunda endokrin tedaviye daha iyi yanıt göstergesi olduğundan, sağkalımla ilişkisi bulunmaktadır (122). Bu çalışmada pozitif östrojen reseptörüne sahip 51 olgunun AA, 72 olgunun AG genotipine sahip olduğu saptanmıştır. Negatif östrojen reseptörüne sahip 16 olgu AA genotipine sahipken, 11 olgunun AG genotipine sahip olduğu belirlenmiştir. Pozitif östrojen reseptörüne sahip

olgularda A allelinin sıklığı % 70,7 iken, G allelinin sıklığı % 29,3 bulunmuştur. Negatif östrojen reseptörüne sahip olan olgularda A ve G allellerinin sıklığı sırasıyla % 79,6, % 20,4 olarak belirlenmiştir. Pozitif östrojen reseptörüne sahip olgular ile negatif olguların PALB2 intron 4 polimorfizmi genotip ve allel sıklığı dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Pozitif progesteron reseptörüne sahip 23 olgunun AA, 42 olgunun AG genotipine sahip olduğu saptanmış; negatif progesteron reseptörüne sahip 44 olgu AA genotipine sahipken, 41 olgunun AG genotipine sahip olduğu belirlenmiştir. Pozitif progesteron reseptörüne sahip olgularda A allelinin sıklığı % 67,7 iken, G allelinin sıklığı % 32,3 bulunmuş; negatif progesteron reseptörüne sahip olan olgularda A ve G allellerinin sıklığı sırasıyla % 75,9, % 24,1 olarak belirlenmiştir. Genotip dağılımları bakımından progesteron reseptörü pozitif ve negatif grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmış; allel sıklığı dağılımı arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.

Rahman ve arkadaşları, BRCA1 ve BRCA2 negatif 923 tane ailesel meme kanserli hastaların DNA sından elde ettikleri PALB2 geninin 13 kodlanmış ekzonunu incelemişlerdir (116). Bu çalışmada ailesel meme kanseri teşhisi konulan 923 kadından 10'unda 5 farklı mono allelik mutasyonu bulunmuş olup bu mutasyonların çoğunun PALB2 geninin 3' ucunda yer aldığı saptanmış ve ailesinde herhangi bir kanser geçmişi olmayanlar özellikle dayanıklı bulunmuştur. Bu 5 mutasyonun da meme kanser riskini 2,3 kat arttırdığı belirlenmiştir.

Erkko ve arkadaşları da Kuzey Finlandiya'da yaşayan 113 meme ve ovaryum kanseri olan ailelerin PALB2 genlerinden elde ettikleri DNA'larında 3 ailede mutasyona rastlamışlardır (113). Burada tanımlanan 1592delT varyantı şimdiye kadar gözlemlenen en zararlı mutasyondur ve bu mutasyonla bağlantılı pek çok meme kanseri kayıtları, bir genotip-fenotip ilişkisinin varolabileceğini öne sürmektedir. 1592delT mutasyonu Finlandiyalılarda atasal mutasyon olarak düşünülmüş ve Finlandiya dışında bu mutasyona rastlanmamıştır. Finlilerde bulunan 1592delT mutasyonunun meme kanseri riskini 6 kat arttırdığı bulunmuştur. PALB2 1592delT mutasyonu PALB2'nin en büyük eksonu olan ekson 4'e yerleşmiştir (113). Meme kanserindeki bazı PALB2 gen değişikliklerinin diğer etnik gruplar için atasal mutasyonlar olabileceği önerilmektedir.

Yapılan çalışmalar PALB2 deki 10 farklı kırılma tipi (truncating) mutasyonun meme kanseri riskini arttırdığını rapor etmiştir. Tischkowitz ve arkadaşları sekanslama yöntemi ile PALB2 genindeki mutasyonların varlığını saptamak için 68 bireyden oluşan meme kanserli hastayı çalışmalarına dahil etmiştir. Ailesinde meme kanseri öyküsü bulunan bir ailede 229delT kırılma tipi (truncating) mutasyonu saptamışlardır (118). PALB2 geninin 5' ucunda bulunan zararlı bir mutasyondur.

c.509_510delGA ailesel meme kanseri riskini arttıran yeni PALB2 mutasyonlarından biridir. Polonyanın merkezinde yapılan bir çalışmada akraba olmayan 7 kadında aynı mutasyonun bulunması bunun Polonya için atasal bit mutasyon olabileceğini göstermektedir. c.509_510delGA mutasyonu Polonya popülasyonunda bulunduğundan beri, Polonya'nın merkezinde bir PALB2 atasal mutasyonunun olmasının mümkün olduğu düşünülmektedir. Bu zamana kadar bütün mutasyonlar Finli PALB2 atasal mutasyonlarının tek olduğunu kabul ediyordu. Yapılan bir çalışma, bir erkek meme kanseri hastasındaki 509_510delGA mutasyonun Hollanda' ya ait bir soydan geldiğini açıklamıştır (113).

Kırılma tipi (truncating) mutasyonlardan 2323C>T (Q775X) Fransız Kanadalılarda son zamanlarda atasal mutasyon olarak tanımlanmıştır ve erken başlangıçlı (<50 yaş) meme kanserli Fransız Kanadalı kadınlarda % 0,5 olarak bulunmuştur (114).

İngiliz popülasyonunda 1000 kişilik bireylerde yapılan PALB2 genin mutasyonel taramasında 2386G>T, 298insT, 3113G>A, 3116delA ve 3549C>G mutasyonları bulunmuş ve meme kanseri riski ailesel meme kanseri riskini 2 kat arttırdığı saptanmıştır.

Kanada toplumunda belirlenen bir mutasyon olan 229delT'nin çok yüksek bir penetransa sahip olduğu bulunmuştur (118).

İspanyol popülasyonunda sadece bir ailede PALB2 geninde 1056_1057delGA mutasyonu gözlenmiştir ve bu yüzden İspanyadaki PALB2 mutasyonlarının sıklığı çok güvenilir bir tahmin değildir (115). Fin ve Fransız Kanadalılar gibi belli toplumlar PALB2 kurucu mutasyonlarını korur oysa bu gendeki mutasyonlar diğer toplumlarda daha az yaygındır ya da hiç yoktur (119).

751C<T ve 1050_1051delAAinsTCT PALB2 kırılma tipi (truncating) mutasyonları da Çin popülasyonunda tanımlanmış ve erken başlangıçlı meme kanserli Çinli kadınların % 1'inde PALB2 mutasyonlarının etkili olduğu saptanmıştır. İlginç bir şekilde Çin popülasyonunda keşfedilen bütün mutasyonlar PALB2'nin ekson 4'ünde meydana gelmiştir (112).

Avustralya popülasyonunda da 3113G>A (W1038X) ve 196C>T (Q66X) olarak belirtilen iki kırılma tipi (truncating) mutasyon bulunmuş olup, 196C>T (Q66X) mutasyonu ilk defa saptanmıştır (104).

203 Alman meme kanseri hastanın analizi PALB2 geninin ekson 4'ünde yerleşik olan 2 kırılma tipi (truncating) mutasyonun 203 hastanın 4'ünde (% 2) belirlenmesini sağlamıştır. E545X and Q921X mutasyonları ilk defa tanımlanan mutasyonlardır (109).

PALB2 genindeki mutasyonlar ile ilgili yapılan çalışmalarda varyantların prevalansının farklı olması coğrafik veya etnik farklılıklardan kaynaklanmaktadır.

Yapılan literatür taramalarına göre, Türk toplumunda meme kanseri ve PALB2 gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışmaya ulaşılmamıştır. Bizim çalışmamız Türk popülasyonunda meme kanseri ile PALB2 arasındaki ilişkiyi açığa çıkarmak amaçlı Real-Time PCR yöntemiyle yapılan ilk tarama olmasından dolayı önem taşımaktadır. Çalışmamızdan elde edilen verilere göre PALB2 geninin intron bölgesindeki üç farklı polimorfizmden, intron 4 polimorfizminin meme kanseri yatkınlığı açısından iyi bir belirteç olacağı ve toplumumuza ait genotip yapısı hakkında daha ayrıntılı bir sonuç bildirmek için de hasta sayısının artırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Meme kanseri multifaktöriyel bir hastalık olduğu için gen-gen etkileşimleriyle birlikte kanserde etkili olan çevresel faktörleride göz önüne alan gen-çevre etkileşimlerini de içerecek şekilde daha geniş örneklem hacmine sahip farklı popülasyonlarda çalışmaların yapılması meme kanserinin patogenezinin aydınlatılmasına önemli katkılar sağlayacaktır. Meme kanserinin kalıtımdaki yerinin saptanması, popülasyonlara göre meme kanseri-PALB2 ilişkisinin değişiklik gösterip göstermediğinin belirlenmesi, meme kanserinin tedavisinin yönlendirilmesi böylece farmakogenetik biliminde katkıda bulunması ve meme kanseri olgularına genetik danışmanlığın verilebilmesi açısından önemli olacağı düşünülmektedir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Yapılan bu çalışmada, meme kanserini etkilemesi muhtemel genetik faktörlerden olan, PALB2 intron 4, intron 6 ve intron 11 polimorfizmlerinin meme kanseri ile olan ilişkileri araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre bu gendeki sadece intron 4 polimorfizminin, meme kanseri ile olan ilişkisinde anlamlı bir sonuç elde edilmiştir. Ancak, intron 6 ve intron 11 polimorfizmleri ile ilgili anlamlı bir sonuca ulaşılamamıştır.

Meme kanseri bir tek gendeki değişim nedeniyle oluşan bir hastalık olmadığı için meme kanseri ilişkili olabilecek başka genlerin de çalışıldığı araştırmalar bu konuya daha fazla katkı sağlayacaktır. Sosyo-ekonomik durum, eğitim, hayat tarzı gibi çevresel etmenlerin de etkilendiği gen-çevre etkileşim çalışmalarının yapılması da gerekmektedir.

Öncelikle bu çalışmadaki örneklem büyüklüğünün ve yaş aralığının genişletilmesi, meme kanseri ile ilişkili olduğu düşünülen diğer genlerin de incelenmesi, çalışılan hasta ve kontrol grubu sayısının artırılması daha anlamlı sonuçlar elde edilmesini sağlayabilir. Genetik meme kanseri sınıflandırmasına sahip tümörlerin PALB2 ekspresyon profilleri ile karşılaştırılması yapılabilir.

Çalışmada ailesel meme kanseri hastalarında tespit ettiğimiz PALB2 intron 4 polimorfizmi genotipleri bireylerin meme kanserine yatkınlığının belirlenmesinde bir ölçüt olarak kullanılabilir.

Bireylerin PALB2 intron 4 polimorfizmine göre çeşitli tedavi seçeneklerine yanıtları arasında araştırmalar yapılabilir, tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkısı bulunabilir.

Meme kanseri multifaktöriyel bir hastalık olup, bu durumu etkileyen faktörlerin belirlenmesi ileride oluşabilecek meme kanserinin erken teşhisine, ilaç ve diğer klinik girişimlere erken dönemde başlanabilmesine olanak sağlayabilir.

7. KAYNAKLAR

1. **Boring CC, Squires TS, Tong T.** Cancer statistics. *CA Cancer J Clin*, **1993**; 43(1): 7-26.
2. [http://www.saglik.gov.tr/TR/Belge Göster](http://www.saglik.gov.tr/TR/Belge/Goster) (Erişim tarihi:10.10.2011)
3. **Yerushalmi R, Hayes MM, Gelmon KA.** Breast carcinoma--rare types: review of the literature. *Ann Oncol*, **2009**; 20 (11): 1763-70.
4. **Xia B, Sheng Q, Nakanishi K, Ohashi A.** Control of BRCA2 cellular and clinical functions by a nuclear partner, PALB2. *Mol Cell*, **2007**; 22:719–29.
5. **Nasir A, Shackelford RE, Anwar F.** Genetic risk of breast cancer. *Minerva Endocrinol*, **2009**; 34(4):295-310
6. **Cao AY, Huang J, Hu Z, Li WF, Ma ZL, Tang LL ve ark.** The prevalence of PALB2 germline mutations in BRCA1/BRCA2 negative **Chinese** women with early onset breast cancer or affected relatives. *Breast Cancer Res Treat*, **2009**;114(3):457-62.
7. **Donegan WL.** History of Breast Cancer in Breast Cancer. Winchester DJ, Winchester DP, Hudis CA, Norton L (Eds). *DC Decker Inc. Ontario*, **2006**:1-14.
8. **Hoover R.** Breast Cancer: Geographic, Migrant and Time–Trend Patterns. In: Fortner JSP (Ed). *Accomplishments in cancer research*. New York: Lippincott–Raven, **1996**:403-25.
9. **Sivenberg E, Lubera J.** Cancer Statistics 1987. *J Clin*, **1987**; 37: 19-25.
10. **Beenken SW, Wanger FB, Bland K.** History of the therapy of breast cancer in The Breast, KI Bland and EM Copeland III. Saunders– Elsevier, St.Louis, **2004**:3-18 .
11. **Ravdin PM, Cronin KA, Howlander N, Berg CD, Chlebowski RT, Feuer EJ.** The decrease in breast-cancer incidence in 2003 in the United States. *N Engl J Med*, **2007**;356(16): 1670-74.
12. **Hortobagyi GN, Esserman L, Buchholz TA.** Neoplasm of the breast. In: Holland JF, Frei E (Eds.). *Cancer medicine. 7th ed.* London: *BC Decker Inc*; **2006**. p. 1584-1643.
13. Erişim;<http://www.cancer.org/downloads/STT/2008CAFFfinalsecured.pdf>(Erişim tarihi:10.09.2011)
14. **Greenlee RT, Murray T, Bolden S.** Cancer Statistics 2000. *CA Cancer J Clin*. **2000**;50: 34-60.
15. **Eras N.** Manganez Süperoksit Dismutaz (MnSOD) Geninin ALA-9VAL Polimorfizmiyle Meme Kanseri Riski Arasındaki İlişkinin Araştırılması. Mersin Üniv. Sağlık Bilimleri Ens. Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD. Yüksek Lisans Tezi, **2006**.
16. **Yıldız Y.** Meme Kanseri Hastalarında TNF ile İlişkili Apoptoz Uyarıcı Ligand ve Bcl-2 ile İlişkili X-Protein Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması. İstanbul Üniv. Sağlık Bilimleri Ens. Moleküler Tıp ABD. Yüksek Lisans Tezi, **2008**.
17. **Johnson AB, Lewis A, Raff J, Roberts MK ve Walter P.** Hücrenin Moleküler Biyolojisi. 4. Baskı, **2002**: 1313-62.

18. **Gürtunç E.** Meme Kanseri Hastalarda CYP19 Geni Kodon 39 Trp/Arg Polimorfizminin ve Genotip Dağılımının Araştırılması. Çukurova Üniv. Sağlık Bilimleri Ens. Tıbbi Biyoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi, **2007**.
19. **Singleton SE, Connolly JL.** Breast cancer staging: Working with the sixth edition of the ajcc cancer staging manual. *CA Cancer J Clin*, **2006**;56:37-47
20. **American Cancer Society.** *Breast Cancer Facts & Figures* (2005-2006), **2005**
21. İ.Ü.İstanbul Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitapları, Genel Cerrahi,Cilt1
22. **Struwing JP, Hartge P, Wacholder S.** The risk of cancer associated with specific mutations of BRCA1 and BRCA2 among Ashkenazi Jews. *N Engl J Med*, **1997**; 336: 1401-8.
23. **Thorlacius S, Struwing JP, Hartge P.** Population-based study of risk of breast cancer in carriers of BRCA2 mutation. *Lancet*, **1998**; 352: 1337-9.
24. **Futreal PA, Liu Q, Shattuck-Eidens D.** BRCA1 mutations in primary breast and ovarian carcinomas. *Science*, **1994**; 266: 120-2.
25. **Jardines L, Haffty GB, Doroshow H,** Breast Cancer Overview: Risk factors, screening, genetic testing, and prevention. In Pazdur R, Coia LR, Hoskins WJ, Wagman LD. (eds): *Cancer Management: A Multidisciplinary Approach*, 6th edition. NewYork: *NRR Inc*, **2002**, 149-72.
26. **Spiegel D.** Psychosocial aspects of breast cancer treatment. *Seminars in oncology* **1997**; 24(1):36-47
27. **Aygin D.** Meme kanseri ve cinsel fonksiyon.2.Uluslararası -9.Ulusal Hemşirelik Kongresi Kadın ve Erkek Cinsel Sağlığı Kursu, Antalya,**2003**;95-103.
28. **Eti Aslan F,Gürkan A, Şelimen D.** Stomalı hastaların cinsel sorunları ve bu sorunlara yönelik hemşirelik yaklaşımları I.Ulusal Stoma Bakım Hemşireliği Sempozyumu, İstanbul,**1995**;32-34
29. **Kilpatrick MG, Kristjanson LJ, Tatrjn DJ, Franer VH.** Information needs of husbands of women with breast cancer. *Oncol Nurs Forum*, **1998** ;25:1595-601
30. **Vogel VG.** Breast Cancer Prevention: A Review of Current Evidence. *CA Cancer L Clin*, **2000**; 50: 156-70
31. **Darendeliler E, Ağaoğlu FY.** Meme Kanserinin Epidemiyolojisi ve Etyolojisi. Topuz E, Aydiner A, Dinçer M. (Eds): *Meme Kanseri,1.baskı*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, **2003**, 13-33.
32. **Wrensch M, Chew T, Farren G, Barlow FB, Clarke C ve ark.** Risk factors for breast cancer in a population with high incidence rates. *Breast Cancer Res* **2003**;5(4): 88-102.
33. **Wooster R, Neuhausen SL, Mangion J.** Localization of a breast cancer susceptibility gene, BCRA2, to chromosome 13q. *Science*, **1994**; 265: 2088-90.
34. **Willard W, Borgen P, Bol R.** Cowden's disease. A case report with analysis at molecular level. *Cancer*, **1992**; 69: 2969-76.
35. **Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer.** Breast cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data on 53,297 women with breast cancer and 100,239 women without breast cancer from 54 epidemiologicalstudies. *Lancet*, **1996**; 47: 1713.

36. **Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group.** 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: 1047-59.
37. **Köroğlu E.** Psikonozoloji, Tanılayıcı klinik psikiyatri. 254-77.
38. **Topuz E, Aydın A, Dinçer M.** Meme Kanseri. Nobel Tıp Kitapevi, **2003**:130-44.
39. **Lubin F, Ruder AM, Wax Y.** Overweight and changes in weight throughout adult life in breast cancer etiology. *Am J Epidemiol*, **1985**; 579: 122-6.
40. **Rohan TE, Howe GR, Friedenrich CM.** Dietary fiber, vitamins A,C and E and risk of breast cancer. A cohort study. *Cancer Causes Control*, **1993**; 4: 29-35.
41. **Hunter DJ, Manson JE, Colditz GA.** A prospective study of consumption of vitamin C,E and A and breast cancer risk. *N Engl J Med*, **1993**; 329: 234-9.
42. **Graham S, Hellmann R, Marshall J.** Nutritional epidemiology of postmenopausal breast cancer in New York. *Am J Epidemiol*, **1991**; 134: 552-4
43. **Margolese RG, Fisher B, Hortobagyi GN, Bloomer WD.** Neoplasms of The Breast. In Holland FJ, Frei E (Eds): *Cancer Medicine*, 5th edition. Ontario: B.C.Decker Inc. **2000**, 1735-822.
44. **Croce CM.** Oncogenes and cancer. *N Engl J Med*, **2008**; 385:503-11.
45. Erişim; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/> (Erişim tarihi 15.09.2011)
46. **Nanda R, Schumm LP, Cummings S.** Genetic testing in an ethnically diverse cohort of high-risk women: a comparative analysis of BRCA1 and BRCA2 mutations in American families of European and African ancestry. *JAMA*, **2005**;294:1925-33.
47. **Lee WY, Jin YT , Chang TW.** Immunolocalization of BRCA1 protein in normal breast tissue and sporadic invasive ductal carcinomas: a correlation with other biological parameters. *Histopathology*, **1999**;34:106-12.
48. **Nanda R, Schumm LP, Cummings S.** Genetic testing in an ethnically diverse cohort of high-risk women: a comparative analysis of BRCA1 and BRCA2 mutations in American families of European and African ancestry. *JAMA*, **2005**;294:1925-33.
49. **Chappuis PO, Rosenblatt J, Foulkes WD.** The influence of familial and hereditary factors on the prognosis of breast cancer. *Ann Oncol*, **1999**;10:1163-70.
50. **Tavassoli FA, Devilee P.** World Health Organization Classification of Tumours, Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs. Lyon, IARC Pres,**2003**.
51. **Scully R, Ganesan S, Brown M.** Location of BRCA1 in human breast and ovarian cancer cells. *Science*, **1996**;272:123-6.
52. **Chen Y, Chen CF, Riley DJ.** Aberrant Subcellula Localization of BRCA1 in Breast Cancer. *Science*, **1995**;270:789-91.
53. **Jensen RA, Thompson ME, Jetton TL.** BRCA1 is secreted and ekshibits properties of a granin. *Nat. Genet*, **1996**;12:303-8.
54. **Tavtigian SV, Simard J, Rommens J.** The complete BRCA2 gene and mutations in chromosome 13q-linked kindreds. *Nat Gener*, **1996**;12:333-7.

55. **Chodosh LA.** Expression of BRCA1 and BRCA2 in normal and neoplastic cells. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, **1998**;3:389-402.
56. **Lane TF, Deng C, Elson A.** Ekspresion of BRCA1 is associated with terminal differentiation of ectodermally and mesodermally derived tissues in mice. *Genes Dev*, **1995**;9:2712-22.
57. **Patel KJ, Yu VP, Lee H.** Involvement of BRCA2 in DNA repair. *Mol Cell*, **1998**;1:347-57.
58. **Feng Z, Kachnic L, Zhang J.** DNA Damage Induces p53-dependent BRCA1 Nuclear Eksport. *J.Biol.Chem*, **2004**;279:28574-84.
59. **Korhonen LK, Skoglösa BY.** Tumor Suppressor Gene BRCA-1 is Expressed by Embryonic and Adult Neural Stem Cells and Involved in Cell Proliferation. *J Neuro Res*, **2003**;71:769-76.
60. **Wirk B.** The Role of Ovarian Ablation in the Management of Breast Cancer. *The Breast Journal*, **2005**;11:416-24.
61. **Coene E, Van OP, Willems K.** BRCA1 is localized in cytoplasmic tube-like invaginations in the nucleus. *Nat.Genet*, **1997**;16:122-4.
62. **Wilson CA, Payton MN, Pekar SK.** BRCA1 protein products: antikor specificity. *Nat. Genet*, **1996**;13:264-5.
63. **Thakur S, Zhang H B, Peng Y,** Localization of BRCA1 and a splice variant identifies the nuclear localization signal. *Mol.Cell Biol*, **1997**;17:444-52.
64. **Valles AP, Cebollada MM, Vazquez EN.** The usefulness of antibodies to the BRCA1 protein in detecting the mutated BRCA1 gene. Animmunohistochemical study. *J. Clin. Pathol*, **2001**;54:476-80.
65. **Starita LM, Parvin JD.** The multiple nuclear functions of BRCA1: transcription,ubiquitination and DNA repair. *Current Opinion in Cell Biol* **2003**, 15:345–50.
66. **Ruffner H, Verma IM.** BRCA1 is a cell cycle-regulated nuclear phosphoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA*, **1997**;94:7138–43.
67. **Chen CF, Li S, Chen Y, Chen PL, Sharp ZD, Lee WH.** The nuclear localization sequences of the BRCA1 protein interact with the importin-alpha subunit of the nuclear transport signal receptor. *J Biol Chem*, **1996**;271(51):32863-8.
68. **Gaiser OJ, Ball LJ, Schmieder P, Leitner D, Strauss H, Wahl M, Kuhne R, Oschkinat H, Heinemann U.** Solution structure, backbone dynamics, and association behavior of the C-terminal BRCT domain from the breast cancer-associated protein BRCA1. *Biochemistry*, **2004** ;43(51):15983-95.
69. **Yoshida K, Miki Y.** Role of BRCA1 and BRCA2 as regulators of DNA repair, transcription, and cell cycle in response to DNA damage. *Cancer Sci*, **2004**, 95(11):866-71.
70. **Fabbro M, Savage K, Hobson K, Deans AJ, Powell SN, McArthur GA, Khanna KK.** BRCA1-BARD1 complexes are required for p53Ser-15 phosphorylation and a G1/S arrest following ionizing radiation-induced DNA damage. *J Biol Chem*, **2004** ;279(30):31251-58.
71. **Habibovic S, Bukvic I, Hrgovic Z.** The role of BRCA1 and BRCA2 genes in hereditary breast cancer. *Med Arh*, **1999**;53(1):7-12.
72. **Wooster R, Neuhausen SL, Mangion J, Quirk Y, Ford D ve ark.** Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12-13.*Science*, **1994**;265(5181):2088-90.

73. **Pellegrini L, Venkitaraman A.** Emerging functions of BRCA2 in DNA recombination. *Trends Biochem Sci*, **2004**, 29(6):310-6.
74. **Couch FJ, DeShano ML, Blackwood MA, Calzone K ve ark.** BRCA1 mutations in women attending clinics that evaluate the risk of breast cancer. *N Engl J Med*, **1997**, 336(20):1409-15.
75. **Gayther SA.** Variation of risks of breast and ovarian cancer associated with different germline mutations of the BRCA2 gene. *Nat Genet*, **1997**;15:103-10.
76. **Rodriguez JA, Schuchner S, Au WW, Fabbro M, Henderson BR.** Nuclear-cytoplasmic shuttling of BARD1 contributes to its proapoptotic activity and is regulated by dimerization with BRCA1. *Oncogene*, **2004**;23(10):1809-20.
77. **Irminger FI, Leung WC.** BRCA1-dependent and independent functions of BARD1. *Int J Biochem Cell Biol*, **2002** ;34(6):582-7.
78. **Fabbro M, Rodriguez JA, Baer R, Henderson BR.**BARD1 induces BRCA1 intranuclear foci formation by increasing RING-dependent BRCA1 nuclear import and inhibiting BRCA1 nuclear export. *J Biol Chem*, **2002**; 277(24):21315-24.
79. **Norberg T, Jansson T, Sjogren S, Martensson C, Adreasson I.** Overview on human breast cancer with focus on prognostic and predictive factors with special attention on the tumour suppressor gene p53. *Acta Oncologica*,**1996**; 35(5):96-102
80. **Lane DP.** P53; guardian of the genome. *Nature*, **1992**; 358:15-16.
81. **Cattoretti G, Rilke F, Andreda S, Mato LDA, Delia D.** p53 expression in breast cancer. *Int J Cancer*,**1998**; 41:178-83.
82. **Sirvent JJ, Fortuno Mar A, Olona M, Orti A.** Prognostic value of p53 protein expression and clinicopathological factors in infiltrating ductal carcinoma of the breast. A study of 192 patients *Histol Histopathol*,**2001**;16(1):99-106.
83. **Malkin D, Li FP, Strong LC, Fraumeni JF.** p53 mutation in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas and other neoplasms. *Science*, **1990**; 250:1233-8
84. **Done SJ, Eskardarian S, Bull S,Redston M, Andrulis IL.** p53 missense mutations in microdissected high-grade ductal carcinoma in situ of the breast. *J Natl Cancer Inst*, 2001;93(9):700-4
85. **Caleffi M, Teague MW, Jensen RA, Vnencak-Jones CL, Dupont,** p53 gene mutations and steroidreceptor status in breast cancer. Clinicopathologic correlations and prognostic assessment. *Cancer*,**1994**;73(8):2147-56
86. **An HJ, Cho YH, Shim JY, Kim JY.** Alteration of PTEN expression in endometrial cancer is associated with down regulation of Cyclin-Dependent Kinase inhibitor, P27. *Histopathology* **2002**;41:437-45.
87. **Bussaglia E, Del RE, Matias GX, Prat J,** PTEN mutations in endometrial carsinomas: a moleculer and clinicopathologic analysis of 38 cases. *Hum Pathol* **2000**;31:312-7.
88. **Kanamori Y, Kigawa J, Itamochi H, Shimada M ve ark.** Correlation between loss of PTEN ekspression and Akt phosphorylation in endometrial carsinoma. *Clin. Cancer. Res*, **2001**;7:892-5.
89. **Francz M.** The premalignant disease of the endometrium: endometrial intraepithelial neoplasia. *Magy Oncol*, **2008**;52(1):35-40.

90. **Koul A, Willien R, Bendahl PO, Nilbert M, Borg A.** Distinct sets of gene alterations in endometrial carcinoma implicate alternate modes of tumorigenesis. *Cancer*, **2002**; 94:2369-79.
91. **Mutter GL, Lin MC, Fitzgerald JT, Kum JB ve ark.** Altered PTEN ekspresion as a diagnostic marker for the earliest endometrial precancers. *J. Natl Cancer Inst*, **2000**; 92:924-31.
92. **Orbo A, Nilsen M.N, Arnes M.S, Pettersen I, Larsen K.** Loss of ekspresion of MLH 1, MSH2, MSH6 and PTEN related to endometrial cancer in 68 patients with endometrial hyperplasia. *Int. J. Gynecol Pathol*, **2003**;22:141-8.
93. **Blumenthal GM, Dennis PA.** Germline PTEN mutations as a cause of early-onset endometrial cancer. *J Clin Oncol*, **2008**;26(13):2234.
94. **Chen J, Li S, Yang Z, Lu G, Hu H.** Correlation between NDRG1 and PTEN expression in endometrial carcinoma. *Cancer Sci*, **2008**; 99(4):706-10.
95. **Terakawa N, Kanamori Y, Yoshida S,** Loss of PTEN Ekspresion followed by AKT phosphorylation is a poor prognostic factor for patient with endometrial cancer. *End Rel Cancer* **2003**;10:203-8.
96. **Lacey JV, Mutter GL, Ronnett BM, Ioffe OB ve ark.** PTEN expression in endometrial biopsies as a marker of progression to endometrial carcinoma. *Cancer Res*, **2008**;6:6014-20.
97. **Tomioka A, Tanaka M, De Velasco MA, Anai S ve ark.** Delivery of PTEN via a novel gene microcapsule sensitizes prostate cancer cells to irradiation. *Mol Cancer Ther*, **2008**;7(7):1864-70.
98. **Bose S, Crane A, Hibshosh H, Mansukhani M, Sandweis L, Parsons R.** Reduced ekspresion of PTEN corralates with breast cancer progression. *Hum. Pathol*, **2002**;33:405-9.
99. **Cristofano AD, Pandolfi PP.** The multiple role of PTEN in tumor supression. *Cell*, **2000**;100:387-90.
100. **Soyoola EO, Roland A,** PTEN/ MMAC1 utation Correlate Inversely with an Altered P53 Tumor Suppressor Gene in Gynecologic Tumor. *Obstet Gynecol*, **2003**; 188: 533- 6.
101. **Tischkowitz M, Xia B.** PALB2/FANCN: Recombining cancer and Fanconi anemia. *Cancer Res*, **2010**; 70: 7353–9.
102. **Alter BP, Rosenberg PS, Brody LC.** Clinical features associated with biallelic mutations in FANCD1/BRCA2. *J Med Genet*, **2007** 44:1–9.
103. **Xia B, Dorsman JC, Ameziane NV, Rooimans Y ve ark .**Fanconi anemia is associated with a defect in the BRCA2 partner PALB2. *Nature Genet*, **2007**;39: 159-61.
104. **Wong MW, Nordfors C, Mossman D, Pecenpetelovska G ve ark.** BRIP1, PALB2, and RAD51C mutation analysis reveals their relative importance as genetic susceptibility factors for breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, **2011**;127(3):853-9.
105. **Oliver AW, Swift S, Lord CJ, Ashworth A, Pearl LH.** Structural basis of recruitment of BRCA2 by PALB2. *EMBO Rep*, **2010**;10:990-6
106. **Zhang F, Ma J, Wu J, Ye L ve ark.** PALB2 links BRCA1 and BRCA2 in the DNA-damage response. *Curr Biol*, **2009**; 19(6):524-9.
107. **Reid S, Schindler D, Hanenberg H, Barker K ve ark.** Biallelic mutations in PALB2 cause Fanconi anemia subtype FA-N and predispose to childhood cancer. *Nat Gen*, **2007**;39:162–4.

- 108.Alter BP, Rosenberg PS, Brody LC.** Clinical features associated with biallelic mutations in FANCD1/BRCA2. *J Med Genet*, **2007**;44:1–9.
- 109.Dansonka-Mieszkowska A, Kluska A, Moes J ve ark.** A novel germline PALB2 deletion in Polish breast and ovarian cancer patients.*BMC Med Genet*, **2010**;11:20-8.
- 110.Antoniou AC, Easton DF.** Models of genetic susceptibility to breast cancer. *Oncogene*, **2006**; 25:5898–905.
- 111.Balia C, Sensi E, Lombardi G, Roncella M, Bevilacqua G, Caligo MA.** PALB2: a novel inactivating mutation in a Italian breast cancer family. *Fam Cancer*, **2010**; 9:531–6.
- 112.Cao AY, Huang J, Hu Z, Li WF, Ma ZL ve ark.** The prevalence of PALB2 germline mutations in BRCA1/BRCA2 negative Chinese women with early onset breast cancer or affected relatives. *Breast Cancer Res Treat*, **2009**;114:457–62.
- 113.Erkko H, Xia B, Nikkila J, Schleutker J, Syrjakoski K ve ark,** A recurrent mutation in PALB2 in Finnish cancer families. *Nature*, **2007**;446:316–9.
- 114.Foulkes WD, Ghadirian P, Akbari MR, Hamel N ve ark .** Identification of a novel truncating PALB2 mutation and analysis of its contribution to early-onset breast cancer in French-Canadian women. *Breast Cancer Res*,**2007**;9:83-9
- 115.Garcia MJ, Fernandez V, Osorio A, Barroso A, Llort G ve ark.** Analysis of FANCB and FANCN/PALB2 fanconi anemia genes in BRCA1/2-negative Spanish breast cancer families. *Breast Cancer Res Treat*, **2009**; 113:545–51.
- 116.Rahman N, Seal S, Thompson D, Kelly P, Renwick A ve ark.** PALB2, which encodes a BRCA2-interacting protein, is a breast cancer susceptibility gene. *Nat Genet*, **2007**;39:165–67.
- 117.Sluiser M, Mew S, van Rensburg EJ.** PALB2 sequence variants in young South African breast cancer patients. *Fam Cancer*, **2009**;8:347–53.
- 118.Tischkowitz M, Xia B, Sabbaghian N, Reis-Filho JS, Hamel N ve ark.** Analysis of PALB2/FANCN-associated breast cancer families. *Proc Natl Acad Sci USA*, **2007**; 104:6788–93.
- 119. Gunnarsson H, Arason A, Gillanders EM, Agnarsson BA, Johannesdottir ve ark.** Evidence against PALB2 involvement in Icelandic breast cancer susceptibility. *J Negat Results Biomed*, **2008**;7:5-10.
- 120.De SCA, Teo Z, Park DJ, Odefrey FA, Hopper JL, Southey MC.** Are PALB2 mutations associated with increased risk of male breast cancer? *Breast Cancer Res Treat*, **2010**;121:253–55.
- 121.Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D.** Global cancer statistics. *Cancer J Clin*, **2011**;61.
- 122.Giri DD.** Oestrogen receptors in benign epithelial lesions and intraduct carcinomas of the breast: an immunohistological study. *Histopathology*, **1989**;15(6):575-84.

ÖZGEÇMİŞ

5 Şubat 1984 yılında Antakya'da doğdu. İlkokulu 1991-1995 yılları arasında Hatay Nizamettin Özkan İlkokulunda, ortaokul ve liseyi 1996-2002 yılları arasında Osman Ötken Anadolu Lisesi'nde okudu.

Lisans eğitimini 2003-2008 yılları arasında Mersin Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünde tamamladı. 2008 yılından beri yüksek lisans eğitimine Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı'nda devam etmektedir.