



**T.C.**

**MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ**

**TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ**

**TELOMERAZ TERS TRANSKRİPTAZ (HTERT) GENİNDEKİ  
GENETİK POLİMORFİZMLERİN MEME KANSERİNDEKİ  
ROLLERİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Günay CAMUZ HİHALOĞULLARI**

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI**

**Yrd. Doç.Dr. Ahmet Taner SÜMBÜL**

**HATAY – 2014**

**T.C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ**

**TELOMERAZ TERS TRANSKRİPTAZ (HTERT) GENİNDEKİ  
GENETİK POLİMORFİZMLERİN MEME KANSERİNDEKİ  
ROLLERİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Günay CAMUZ HİHALOĞULLARI  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI**

**Yrd. Doç. Dr. Ahmet Taner SÜMBÜL**

**TEZ ONAY SAYFASI**  
T.C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**TELOMERAZ TERS TRANSKRİPTAZ (HTERT) GENİNDEKİ GENETİK  
POLİMORFİZMLERİN MEME KANSERİNDEKİ ROLLERİ**

**Dr. Günay CAMUZ HİLALOĞULLARI**

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

Prof.Dr. Ömer Faruk KOKOĞLU  
Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Prof.Dr. Hasan KAYA  
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

Yrd. Doç.Dr. Ahmet Taner SÜMBÜL  
Tez Danışmanı

**TEZ JÜRİSİ:**

1. Doç. Dr. Edip UÇAR
2. Doç. Dr. Fatih KÖSE
3. Yrd.Doç.Dr.Ahmet Taner SÜMBÜL

## İÇİNDEKİLER

TABLOLAR LİSTESİ.....	İV
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	V
I. KISALTMALAR VE SEMBOLLER LİSTESİ.....	Vi
II. TEŞEKKÜR.....	Vii
III. ÖZET .....	Viii
IV. ABSTRACT.....	İX
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	2
2.1. Epidemiyoloji.....	2
2.2. Etyolojik Faktörleri .....	4
2.2.1. Yaş .....	4
2.2.2. Cinsiyet .....	4
2.2.3. Ailesel Faktörler.....	5
2.2.4. Diyet ve Çevresel Faktörler .....	5
2.2.5. Hormonal ve Endokrin Faktörler .....	6
2.2.6. Meme Hastalığı Öyküsü.....	7
2.2.7. Radyasyon Maruziyeti .....	7
2.2.8. Meme Kanserinde Rol Alan Prognostik ve Prediktif Faktörler .....	7
2.3. Meme Kanserinin Histopatolojik Sınıflaması .....	9
2.3.1. Meme Kanserinde TNM Sınıflaması .....	10
2.3.2. Genetik Faktörler .....	12

2.3.2.1. Telomer biyolojisi .....	14
3. MATERYAL VE METOD .....	17
3.1. Hasta ve Kontrol Grubu .....	17
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Deney Ekipmanları .....	18
3.2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	18
3.2.1.1. Htert Genindeki Rs2736100 Polimorfizmin Analizinde Kullanılan Primer Çifti.....	18
3.2.1.2. DNA İzolasyon Kiti .....	19
3.2.1.3. Sfc I Restriksiyon Endonükleaz.....	20
3.3. Kullanılan Deney Ekipmanları.....	21
3.3.1. Santrifüjler .....	21
3.3.2. Derin Dondurucular .....	21
3.3.3. Polimeraz Zincir Reaksiyon Aleti (Termal Cyclers) .....	21
3.3.4. Jel Görüntüleme Sistemi .....	22
3.3.5. Jel Analiz Sistemi.....	22
3.4. DNA İzolasyonu.....	22
3.4.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu .....	22
3.5. HTERT Genindeki Rs2736100 Polimorfizminin PCR-RFLP Yöntemi İle Belirlenmesi.....	23
3.5.1. HTERT Genindeki Rs2736100 Polimorfizmini Saptamak Amacıyla Bu Polimorfizmin Olabileceği DNA Bölgesinin PCR İle Çoğaltılması .....	23
3.5.2. HTERT Rs2736100 Polimorfizminin Bulunduğu Bölgenin PCR İşlemi Sonucunda Görüntülenmesi.....	26
3.5.1. HTERT Rs2736100 Polimorfizmini Belirlemek İçin RFLP Analizi .....	27
3.6. İstatiksel Yöntem .....	30
4. BULGULAR.....	31

5. TARTIŞMA .....	41
6. SONUÇLAR .....	49
7. KAYNAKLAR .....	50

## TABLolar LİSTESİ

tablo 1.Meme Kanserinde Rol Alan Prognostik Ve Prediktif Faktörler .....	8
Tablo 2. Meme Kanserinin Histolojik Alt Tipleri.....	9
Tablo 3. Dünya Sağlık Örgütü (Who) Meme Kanseri Sınıflandırması.....	10
Tablo 4.Meme Kanserinde Tnm Sınıflaması .....	10
Tablo 5. Htert Genindeki Rs2736100 Polimorfizminisaptamak İçin Kullanılan Primerlerinuzunlukları, Erime Sıcaklıkları, Gc Oranı Ve Baz Dizisi .....	19
Tablo 6. Htert Rs2736100 Polimorfizmibulunduğu Bölgenin Çoğaltılmasında Kullanılan Primerlerinhtert Geni Üzerindeki Konumları Ve Polimorfizminmeydana Geldiği Nükleotid.....	24
Tablo 7. Htert Rs2736100 Polimorfizminisaptamak Amacıyla Optimum Amplifikasyonungerçekleştirildiği Pcr Reaksiyon Karışımı.....	25
Tablo 8. Htert Rs2736100 Polimorfizmi İçin Pcr Sıcaklıkları Ve Döngü Sayıları.....	26
Tablo 9. Htert Rs2736100 Polimorfizmi Belirlemek İçin Rflp Reaksiyonu Karışımı.....	29
Tablo 10. Çalışmaya Katılanların Yaş Ortalamaları .....	31
Tablo 11. Vaka Ve Kontrol Gruplarının Yaş Ortalamaları.....	31
Tablo 12. Çalışmaya Katılanların Htert Genindeki Rs2736100 Polimorfizminde Olan Genotip Oranlarının Karşılaştırılması .....	37
Tablo 13. Vaka Ve Kontrol Grublarının Htert Genindeki Rs2736100 Polimorfizminde Olan Genotip Farklılığının Karşılaştırılması .....	38
Tablo 14. Meme Kanseri Grubunda Rs2736100'deki Genotip Dizilimlerinin Prognostik Parametrelerle İlişkisi .....	39

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Htert Rs2736100 Polimorfizminin Bulunduğu Dna Bölgesinin Pcr Reaksiyonu İle Çoğaltılması Sonucu Oluşan Dna Parçasının %2,5'lik Agaroz Jeldeki Görüntüsü. M: Dna Marker, Diğer Kuyucuklar: Htert Rs2736100 Polimorfizminin Bulunduğu 152bp'lik Dna Fragmenti .....	27
Şekil 2. Htert Rs2736100 Polimorfizminin Rflp Yöntemi İle Genotiplendirilmesi Sonucu Oluşan Dna Parçalarının % 2.5'luk Agaroz Jeldeki Görüntüsü.....	30
Şekil 3. Vaka Ve Kontrol Gruplarının Yaş Ortalamaları.....	32
Şekil 4. Vaka Grubunda Yer Alan Meme Kanseri Tanılı Hastaların Patolojik Tanıları Ve Oranları .....	32
Şekil 5. Meme Kanseri Hastaların T Evreleri.....	33
Şekil 6. Meme Kanseri Hastaların Tnm Göre Lenf Nodu Tutulumu.....	34
Şekil 7. Meme Kanseri Hastaların Tnm Göre Metastaz Durumları.....	34
Şekil 8. Meme Kanseri Tanılı Hastaların Metastaz Bölgeleri.....	35
Şekil 9. Meme Kanseri Hastalardaki Östrojen Reseptör Durumu .....	36
Şekil 10. Meme Kanseri Hastalardaki Progesteron Reseptör Durumu .....	36
Şekil 11. Meme Kanseri Hastaların Grade Durumları .....	37
Şekil 12. Çalışmaya Katılanların Htert Genindeki Rs2736100 Polimorfizminde Olan Genotip Oranlarının Karşılaştırılması .....	38
Şekil 13. Vaka Ve Kontrol Gruplarının Htert Genindeki Rs2736100 Polimorfizminde Olan Genotip Farklılığının Karşılaştırılması .....	39



## I. KISALTMALAR VE SEMBOLLER LİSTESİ

**WHO(World Health Organization):** Dünya Sağlık Örgütü

**DCIS** : Duktal Karsinoma in Situ

**DNA** : Deoksiribonükleik Asit

**EGFR** : Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü

**ER** : Östrojen Reseptörü

**HER-2** : Human Epidermal Büyüme Faktör Reseptör 2

**LCIS** : Lobüler Karsinoma in Situ.

**KT** : Kemoterapi

**PR** : Progesteron Reseptörü

**TNM** : Tümör Nod Metastaz

**PCR** : Polimeraz Zincir Reaksiyonu

**CBC** : Tam kan sayımı

**TRAP** : Telomeric Repeat Amplification Protocol Telomerik Tekrarların  
Çoğaltılması

## II. TEŞEKKÜR

İç Hastalıkları uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, bana yol gösteren, bilimsel ve manevi desteğini esirgemeyen, asistanı olmaktan her zaman gurur duyacağım Ana Bilim Dalı başkanım Sayın Prof. Dr. Hasan KAYA'ya

Bilimsel ve mesleki deneyimlerinden faydalandığım değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Cumali GÖKÇE, Prof. Dr. Mehmet Rami HELVACI, Prof. Dr. Ümit Bilge DOĞAN, Doç. Dr. Edip UÇAR, Doç. Dr. Mehmet DEMİR, Doç. Dr. Faruk Hilmi TURGUT, Doç. Dr. Murat ÇELİK, Doç. Dr. İhsan ÜSTÜN, Yrd. Doç. Dr. Adnan TAŞ, Yrd. Doç. Dr. Önder Tonyalı'ya

Tez çalışmam süresince her konuda desteğini, teorik ve pratikte değerli bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen tez danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Ahmet Taner SÜMBÜL'e

Rotasyonlarımda bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Sayın Prof. Dr. Yusuf ÖNLEN ve tüm Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı hocalarına, Sayın Doç. Dr. Nihat ŞEN ve tüm Kardiyoloji Kliniği Anabilim Dalı hocalarına, Sayın Prof. Dr. Sabahat GENÇ ve tüm Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı hocalarına

Birlikte çalışmaktan keyif aldığım Mustafa Kemal Üniversitesi Dahiliye Kliniği'ndeki asistan arkadaşlarım, hemşire ve personel arkadaşlara, tez yazım süresince yardımını hiç esirgemeyen Arş.Gör.Dr. Ersin PEKER, Uzm. Dr. Mehmet Emin ÇELİKKAYA, Dr Cüneyt KARAKAYA ve Ayfer EROL'a

Sınırsız sevgi ve desteğini her an yanımda hissettiğim, eşim Cem HİLA LOĞULLARI'na ve bugünlere gelmemi sağlayan tüm aile bireylerime minnet ve şükranlarımı sunuyorum.

**Dr. Günay CAMUZ HİLA LOĞULLARI**

**HATAY- 2014**

### III. ÖZET

**Amaç:** Meme kanseri gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde oldukça sık görülen bir kanserdir. Meme kanseri tüm insanlarda, akciğer kanserinden sonra ikinci en çok görülen kanser olup, kadınların en sık kanseri ve kanserden ölüm nedenidir. Meme kanserinin oluşumunda rol oynayan genetik faktörlerden bir tanesi de genetik polimorfizmlerdir. Bu çalışmada meme kanserli hastalar ve normal popülasyonda hTERT geni rs2736100 bölgesindeki polimorfizim sıklığını ve bu durumun meme kanserli hastalarda klinopatolojik bulgularla ilişkisini araştırdık.

**Yöntem:** Çalışmaya Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde , takip ve tedavi edilen 86 meme kanserli hasta ve bunların yaş uyumlu sağlıklı kontrolleri dahil edildi. Hastalardan ve yaş uyumlu sağlıklı kontrollerinden 2 cc kan alındı ve pcr ile analizi ile rs2736100 gen polimorfizmi bakıldı.

**Bulgular:** Hastaların yaş ortalaması 52,7 idi. Çalışmaya katılan 86 meme kanser hastalarının %76,3'ünde metastaz yokken, %23,7'sinde metastaz mevcuttu. Meme kanseri grubunda rs2736100'deki nükleotid dizilimleri; AC %60,5, AA%26,7, CC %12,8, kontrol grubunda AA %47,7, AC%32,6, CC %19,8, olarak bulundu. İki grup arasında genotip dizilimleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ( $p=0,001$ ). Meme kanserli hastaların hTERT genindeki rs2736100 polimorfizmi ile kanser tipi, kanserin evresi, lenf nodu tutulumu, metastaz varlığı, metastaz bölgeleri, kanser grade, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, östrojen ve progesteron reseptör durumu ve cerb2 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ( $p>0,05$ ).

**Sonuç:** Meme kanserli hastalarda hTERT geni rs2736100 bölgesi normal popülasyondan farklılık göstermekte ve bu durum meme kanseri gelişiminde rol oynayan faktörlerden birisi olabileceğini düşündürmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Meme kanseri, rs2736100, hTERT

## IV. ABSTRACT

**Background and Aim:** Breast cancer is seen most frequently in developed or developing countries. Breast cancer is most common cancer in humans following lung cancer and the most common cancer in women resulting mortality from cancer. Genetical polymorphisms are one of the genetical factors which plays apart in the development of the breast cancer. In this study we have investigated the polymorphism frequency of the hTERT gene rs2736100 region among normal and breast cancer diagnosed patients and its relation between both clinic and pathological findings in breast cancer diagnosed patients.

**Methods:** 86 breast cancer diagnosed patients who are treated and observed in Mustafa Kemal University school of medicine and their age equivalent control groups are involved in this study. Two cc blood samples are obtained both from patients and age equivalent healthy control group and by using pcr rs2736100 polymorphism was investigated.

**Results:** The mean value of the patients was 52.7. Among the 86 patients who are involved in this study 76.3% of them have no metastasis and 23.7% of them had. In the breast cancer group nucleotide sequence in rs2736100 region was found as ; AC %60.5, AA%26.7, CC %12.8 and in the control group AA %47.7, AC %32.6, CC %19.8 respectively. Between two groups there was a statistically significant difference in genotype sequences ( $p=0,001$ ). No statistically significant data was found in breast cancer patients with rs2736100 polymorphism in hTERT gene between type of the cancer, stage of the cancer, lymph node involvement, presence of metastasis, metastasis regions, grade of the cancer, lymphovascular invasion, perineural invasion, oestrogen and progesterone receptor status and *ceb-2* ( $p>0.05$ ).

**Conclusion:** hTERT gene rs2736100 region in breast cancer patients is different from the healthy ones and this situation can be considered as this polymorphism could be one of the factors in the development of the breast cancer.

**Key Word:** Breast cancer, rs2736100, hTERT

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde oldukça sık görülen bir kanserdir. Meme kanseri tüm insanlarda, akciğer kanserinden sonra ikinci en sık görülen kanserdir (1). Kadınların en sık kanseri ve kanserden ölüm nedenidir. Her yıl 1.200.000 kadın meme kanserine yakalanmakta ve 400.000'e yakını bu hastalıktan kaybedilmektedir (1). Globacan 2012'ye göre meme kanserinin dünyada ortalama insidansı 100.000'de 38-40 iken, Avrupa'da bu oran 100.000'de 66-67, ülkemizde ise ortalama 100.000'de 40 civarındadır (2). Meme kanseri oluşumundan sorumlu birçok risk faktörü tanımlanmıştır: Bunlar coğrafi çeşitlilik, genetik ve ailesel öykü, hormonal etkiler ve diğer etkenlerdir. Son zamanlarda, karsinogenezis sürecinde rol oynayan moleküler yollardaki genetik faktörlerin belirlenmesi hastalığın patogenezinin anlaşılmasında önem kazanmıştır. Bu yüzden bu genetik risk faktörlerinin belirlenmesi ve bu genetik risk faktörlerini taşıyan bireylerin risk taşıyan grup şeklinde gruplandırılması gerekmektedir (3). Bu şekildeki risk faktörlerinin belirlenmesi ve gerekli önlemlerin alınması ile hastalığın kontrolünde istenilen başarımın kazanılmasını sağlanabilecektir. Meme kanserinin oluşumunda rol oynayan genetik faktörlerden bir tanesi de genetik polimorfizmlerdir (4). Bu çalışmanın amacı; hTERT genindeki polimorfizmlerinin sıklığı ile meme kanseri gelişimi arasında bir ilişkinin olup olmadığını araştırmaktır (5).

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Epidemiyoloji

Kadınlarda en sık görülen kanser meme kanseridir. İnsidansı yaş ile birlikte artmaktadır. Gelişiminde; çevresel, hormonal, sosyobiyojik, genetik ve fizyolojik faktörler suçlanmaktadır (6). Meme kanseri gelişiminde çeşitli nedenlerin yol açtığı bilinmesine rağmen, olguların %70-80'inde hiçbir risk faktörü saptanamamaktadır. Dünya sağlık örgütü (WHO) 2005 yılı istatistiksel verilere göre Türk kadınlarında kansere bağlı ölüm sıralamasında 100.000'de 13 ile meme kanseri ilk sırada yer almaktadır (7). Her yıl Türkiye'de 30.000 yeni meme kanseri olgusu saptanmakta ve 2030 yılına doğru %60 oranında artacağı öngörülmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) her yıl yaklaşık 210.000 yeni invaziv meme kanseri ve 50.000 ductal karsinoma in situ (DCIS) tanısı konmakta ve 41.000 kişi meme kanseri nedeniyle yaşamını kaybetmektedir (6). Kadınlarda yeni kanser olgularının %32'sini oluşturmaktadır. Yaşamları boyunca her yedi kadından birinde meme kanseri görülmektedir. Kadınlarda kansere bağlı ölümlerin %15 kadarı meme kanseridir. Kansere bağlı ölümlerin birinci nedeni: Akciğer kanseridir. İkinci nedeni: Meme kanseridir (8).

Dünya genelinde her yıl yaklaşık 1.2.000.000 yeni vaka bildirilmekte, her yıl ortalama 400.000 kadın hastalıktan kaybedilmektedir (9). Son 25 yılda meme kanser insidansı global olarak artmakla birlikte batı ülkelerinde bu artış daha yüksek oranda görülmektedir. Bu artmış insidans reproduktif paternin gelişimi, görüntüleme yöntemlerinin gelişimi, diyet değişikliği ve aktivitedeki azalmayla ilişkilendirilebilir. Yüksek global insidansa karşılık meme kanser mortalitesindeki azalma özellikle sanayilemiş ülkelerde dikkat çekicidir. Meme kanseri insidansı yavaşça artmaya

devam etse de, mortalite hızı son yirmi yılda düşme eğilimi göstermektedir (10). Bu düşüş, büyük ihtimalle mamografik taramaların artması, daha iyi cerrahi ve radyoterapi, daha iyi sistemik adjuvan kemoterapi gibi birçok faktörün etkisi sonucunda ortaya çıkmaktadır (11). Meme kanserine bağlı ölümlerde son 20 yıl içinde %25-30 oranlarında azalma kaydedilmiştir. Mortalitedeki azalma en fazla yıllık %3.3 oranla 50 yaşın altındaki vakalarda görülürken, 50 yaş üstü vakalarda bu oran daha azdır (%2,0/yıl). Meme kanserinde sağkalım oranları ise ülkelerin gelişmişlik seviyeleriyle, ırksal özelliklere göre farklılık göstermektedir. Beş yıllık genel sağkalım Kanada'da %86 iken ABD'de % 88, Güney Afrika'da ise beyazlarda %86, siyahlarda %64'tür (12,13).

Meme kanseri patolojik özelliklerine göre sınıflandırıldığında; %85 duktal karsinoma, %5-10 lobüler karsinoma, %5-7 medüller karsinoma, %3 müsinöz veya kolloid karsinoma, %2 tübüler karsinoma olacak şekilde ayrılmaktadır. İlk başvuru anında hastaların %3-6'sı zaten metastatik hastalığa sahiptir ve geri kalan hastaların %50-70'i hastalığın seyri boyunca sistemik relaps göstereceklerdir. Relapsların %75'i ilk 5 yıl içinde olsa da, 30 yıla kadar relapslar görülebilir (10). ABD'de kadınların yaşam boyu meme kanserine yakalanma riski %12,7'dir. Yıllık insidans oranları Afrika kökenli Amerikalılarda 119.4/100.000 ve Latin Amerika ve İspanya kökenli Amerikalılarda 89/100.000 olup beyaz kadınların 141/100.000'lik insidansından daha düşük izlenmektedirler. Buna karşılık Afrika kökenli Amerikalı kadınlarda meme kanserleri beyaz kadınlara oranla daha büyük (>5cm) olma eğilimindedirler (14). Meme kanseri en sık kemik, karaciğer ve akciğerlere metastaz yapmaktadır. Lokalize meme kanserleri için 5 yıllık sağkalım %98 iken, metastatik hastalığı olan kadınlar için bu oran %27'dir (15).

Metastatik meme kanseri olan kadınlarda kür şansı çok azdır. Beş yıldan fazla süreyi kapsayan progresyonsuz uzamış sağkalım dönemleri ancak hastaların %2'sinden azında görülmektedir (16).

## **2.2. Etyolojik Faktörleri**

Meme kanseri tümör oluşumunun hücresele düzeyde bir seri moleküler tahribat ile meydana geldiğini desteklemektedir. Bunun sonucunda epitelyum hücreleri ölümsüzlük özelliği kazanarak kontrolsüz bir biçimde çoğalıp kitle oluşturmaktadırlar. Meme kanserinin nedenleri hâlâ belirsiz kalmakla birlikte çok sayıda risk faktörü tanımlanmıştır.

### **2.2.1. Yaş**

Yaş en önemli risk faktörlerindedir. Meme kanseri insidansı ilerleyen yaşla birlikte önemli derecede artmaktadır. ABD’de %50’den fazla meme kanserli hasta 60 yaş üstüdür ve meme kanserine bağlı ölümlerin yarısından fazlası 65 yaşın üzerinde gerçekleşmektedir. 40 yaşın altında meme kanseri görülme sıklığı 1/235 oranında iken, 40-59 yaş arası 1/25 oranında, 60-79 yaş arasında 1/15 oranındadır (17, 18).

### **2.2.2. Cinsiyet**

Meme kanseri hormonal nedenler ve meme dokusunun gelişimi nedeniyle kadınlarda daha fazla görülür. Erkeklerde meme kanseri görülmesi insidansı kadınların 1/100’üdür (19). Doğumda memenin epitelyal komponenti meme başının altında az sayıda rudimenter kanaldan oluşur ve prepubertal yıllarda bu kanallar yavaş yavaş büyüme gösterir. Erkeklerde meme gelişimi bu fazda dururken, kadınlarda cinsiyet hormonlarının etkisiyle meme gelişimi pubertede hızlanmaktadır (20). Doğum kontrol hapları ve hormon replasman tedavisi kullanımı da kadınlarda meme kanserinin daha sık görülmesine katkıda bulunabilir.



### 2.2.3. Ailesel Faktörler

Sosyoekonomik şartları iyi olan toplumların kadınlarında meme kanseri görülme sıklığı artmaktadır. Etnik olarak farklı toplulukları barındıran aynı popülasyonda da meme kanseri görülme insidansı farklılıklar gösterir. Meme kanserli hastaların %20'sinde aile hikayesi vardır. Ailede özellikle birinci derece akrabalarda meme kanseri varlığı, kişide meme kanseri gelişme riskini önemli ölçüde arttırmaktadır. Meme kanserli kadınların %5-10'unda ise otozomal dominant kalıtım paterni saptanmıştır (21). Birinci derece akrabalarının ikisinde meme kanseri olan kadınlarda risk 1,5-5 kat artmaktadır. Benzer şekilde birinci derece akrabalarının bir tanesinde erken (>50) yaşta meme kanseri olan kadınlarda da risk artmıştır. Uzak akrabalarda (teyze,büyükanne) meme kanseri görülmesi, riski fazla arttırmamaktadır. Yine erken yaşta over kanseri olan birinci derece akrabası olan kadınlarda meme kanser riskinde 2 kat artış gözlenmektedir. İki kuşak boyunca birinci derece akrabalarında meme kanseri öyküsü olmaksızın meme kanseri gelişen hastalar sporadik meme kanseri hastalarıdır. Birinci veya ikinci derece akrabalarında birden fazla kişide meme kanseri olan, ancak herediter meme kanseri tanımına uyacak şekilde diğer kanserlerle birlikte görülmeyen meme kanserleri ailesel meme kanseri olarak tanımlanır.

### 2.2.4. Diyet ve Çevresel Faktörler

Erişkin yaşlarda diyet, doymuş yağ alımı, vitamin A, C, E alımı meme kanser riskini etkilemediği anlaşılmıştır. Bitkisel östrojen benzeri bileşiklerden <fito östrojenlerden> zengin soya proteinlerini fazla kullanan toplumlarda meme, endometrium, prostat kanseri gibi hormon bağımlı kanserler daha az görülmektedir (22). Meme kanseri vakalarının %25'inin obez ve sedanter hayat tarzına bağlı olduğu düşünülmektedir. Vücut kitle indeksindeki artışın meme kanserindeki mortaliteyi arttırdığı bilinmektedir. Yapılan çalışmalar, meme kanser riskinin fiziksel egzersiz

az olduğu ancak yüksek kalorili, hayvansal yağlar ve proteinlerden zengin olan beslenme şekli ile arttığı gösterilmiştir. Alkol kullanımı birçok epidemiyolojik çalışmada da artmış meme kanseri ile ilişkili olduğu görülmüş ve günlük alınan alkol miktarına bağımlı olarak meme kanserinde %32-%45 oranında artış saptanmıştır (23, 24). Çocukluk çağında karşılaşılan radyasyon meme kanser riskini arttırmaktadır. Non-steroid antiinflatuar kullanımı hem benign hem de malign kolon tümör gelişimini azaltmakla beraber meme kanser gelişimini de azalttığı görülmüştür (25).

### **2.2.5. Hormonal ve Endokrin Faktörler**

Meme kanseri gelişiminde en önemli risk faktörlerinden biri kadının uzun süre östrojen gibi üreme hormonlarına maruz kalmasıdır (26). 12 yaşından önce menarş, ilk canlı doğumun 30 yaşından sonra yapılmış olması, doğurmamış olmak, menapozun 55 yaşından sonraya kalması risk artışını beraberinde getirir, az doğum yapma veya laktasyon döneminin kısa olması gibi doğurganlıkla ilişkili özelliklerle meme kanseri arasında ilişki vardır (27). Erken menarş geç menopoz bir kadının yaşamı boyunca gördüğü menstrual siklusun dolaylı ölçümü olup, siklus sayısı arttıkça meme dokusunda proliferasyon artar. Bu da DNA hasarına eğilimi arttırmaktadır. Bu nedenle direkt meme kanserine yol açabilecek mutasyon riski de artmaktadır (28). Özellikle ailede meme kanseri öyküsü olan kadınlarda oral kontraseptif kullanımı meme kanseri riskini arttırmaktadır (27). Oral kontraseptif kullanımının kesilmesi ile risk azalır ve kesilmesinden takriben 10 yıl sonra da genel popülasyonla aynı seviyelere geriler. Postmenopozal dönemde hormon tedavisi kullananlarda meme kanseri riski kullanmayanlara göre artmaktadır. Bu riski arttıran ana sebep hormon replasman tedavisi ile meydana gelen östrojen seviyelerindeki artıştır. En yüksek risk artışı hormon replasman tedavisine maruziyet süresine paralel olarak östrojen reseptörü pozitif lobüler karsinomda görülür. Tek başına östrojen tedavisi alanlarla kıyaslandığında östrojen ve progesteron kombinasyonu alanlarda risk daha fazla olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı değildir. Hormon

replasman tedavisi için menopozal semptomları düzeltmek amacıyla 5 yıldan az süre ile östrojen, progesteron kombinasyonlarının kullanılması önerilmektedir (29).

### **2.2.6. Meme Hastalığı Öyküsü**

Meme kanseri olan kadınlarda diğer memede kanser gelişme riski 3-4 kat artmaktadır. Bu artış aile öyküsü varlığından kaynaklanan riske göre daha yüksektir (29). Yapılan önceki biyopside atipi veya kanser saptanması da riski artırır.

### **2.2.7. Radyasyon Maruziyeti**

Özellikle 30 yaşından önce, nükleer patlama, medikal tanı veya tedavi amaçlı iyonize radyasyon maruziyeti ile meme kanseri riskinde artış görülmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde meme kanseri olgularının yaklaşık %1'inin tarama amaçlı yapılan mammografiye bağlı geliştiği düşünülmektedir (30). Özellikle 10-14 yaş grubunda Hodgkin lenfoma nedeniyle göğüs bölgesine radyasyon almış çocuklarda ileri yaşta kanser gelişme riski artmaktadır (31).

### **2.2.8. Meme Kanserinde Rol Alan Prognostik ve Prediktif Faktörler**

Prognostik faktörler meme kanseri tanısında ya da cerrahisi sırasında tespit edilen parametreler olup tedaviden bağımsız olarak hastanın ve hastalığın geleceği ile ilgili bilgiler verir. Bu parametreler tümörün ileride nasıl bir seyir izleyeceği konusunda fikir verir. Örneğin; toplam sağkalım, hastalısız sağkalım, ve lokal

kontrol gibi. Prediktif faktörler ise tümörün tedavisinde yanıtı ya da yanıtızlığı belirleyen faktörlerdir. Sistemik tedavi planlanan hastada kemoterapi ya da hormonal tedavi seçimi yapılırken yaş ve hormon reseptör durumu gibi iki önemli prediktif parametre göz önünde tutulur (32). Aksiller lenf nodu tutulumu ve sayısı, histolojik alt tip, tümör büyüklüğü, nükleer ve histolojik grade, östrojen reseptör ve progesteron reseptör durumunu içermektedir. Yaş, menopoz durumu, ırk, onkogenler, tümör süpresör genler, büyüme faktörleri gibi belirteçler de muhtemel diğer prognostik faktörlerdir. Meme kanser tipini belirleyen histoloji tümörün %90 hatta %100'lük kısmını oluşturmaktadır. Meme kanserlerinde histolojik olarak prognozlar farklılık gösterir. Histolojik grad önemli bir prognostik parametredir. Grad 3 en kötü prognozu taşır (tablo 1).

**Tablo 1.** Meme Kanserinde Rol Alan Prognostik ve Prediktif Faktörler

<b>Metastaz Potansiyeli Prediktif Parametreleri</b>
TNM evresi ,Aksiller lenf nodu durumu ,Histolojik alt tipler
Anjiyogenez belirleyicileri ,Hücre proliferasyon belirleyicileri
Onkogen ve büyüme faktörü gen ekspresyonları ,Proteaz ekspresyonu
<b>Organ Spesifik Metastaz Prediktif Parametreleri</b>
PTHrP ekspresyonu
Vimentin ekspresyonu
Kemik iliği mikro metastazı
L-myc polimorfizmi
<b>Tümör Büyüme Hızı Prediktif Parametreleri</b>
Tümör diferansiyasyonu (Grad)
Östrojen ve Progesteron reseptörleri
HER2/neu, EGFR, mutant p53, Cyclin-D
Proliferasyon belirleyicileri (mitotik indeks, timidin, labeling indeks, S-fazfraksiyonu, Ki-67, PCNA)
<b>Sistemik Tedavi Etkinliği İçin Prediktif Parametreler</b>
ER ve PR pozitifliği Cerb-B2 pozitifliği
p53 mutasyonu ,BCL-2 ekspresyonu

### 2.3. Meme Kanserinin Histopatolojik Sınıflaması

Meme karsinomları; morfolojik, klinik, hormon reseptör düzeyi, tedaviye yanıtlarına göre farklı özellikleri olan, heterojenöz gruplara sahip tümörlerdir. Bu farklılığın sebebi: Altta yatan hedef hücre (kanser hücresi) populasyonundaki farklılık, farklı onkogen aktivasyonu ve/veya tümör süpresör gen fonksiyon kayıplarındaki değişik kombinasyonlardır (21). Meme kanserlerinin %95'i glandüler epitelyum kaynaklıdır ve terminal duktal toplayıcı kanalların distalinde fonksiyonel birim olarak kabul edilen duktal lobüllerü oluşturmalarıdır (tablo 2). Diğer nadir malign tümörler ise skuamöz hücreli karsinom, phylloides tümör, sarkom ve lenfomalardır. Meme karsinomu, mikroskopik görünüm ve biyolojik davranışlarına göre başlıca iki ana gruba ayrılabilir: İn situ karsinomlarda, tümör hücreleri duktus veya lobüle sınırlıdır. Işık mikroskopunda stromaya invazyon yoktur. İnvaziv (infiltratif) karsinomlarda ise tümör hücreleri bazal membranı aşmış stromal invazyon yaparlar. Bu nedenle invaziv karsinomlar, lenfovasküler invazyonla bölgesel lenfnodları ve uzak organ metastazı yapabilirler (33). İnfiltratif duktal karsinom (IDC) görülen vakaların % 80'ini oluşturur. İnfiltratif lobüler karsinom ise % 10 oranında görülür. En sık kullanılan tanısız sınıflandırma sistemi Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sınıflandırmasıdır (tablo 3).

**Tablo 2.** Meme Kanserinin Histolojik Alt Tipleri

<b>İyi prognoza sahip meme kanserleri</b>	<b>Kötü prognoza sahip meme kanserleri</b>
Tübüler karsinom	İnvaziv duktal karsinom
Kribriform karsinom	İnflamatuvar meme karsinomu
Müsinöz karsinom	Taşlı yüzük hücreli karsinom
Papiller karsinom	Karsinosarkom
Adenoid kistik karsinom	Metaplastik karsinom
Düşük dereceli adeno-skuamöz karsinom	

**Tablo 3.** Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Meme Kanseri Sınıflandırması

<b>İnvazif Olmayan Kanser</b>	Duktal Karsinoma in situ
	Lobüler Karsinoma in situ
<b>İnvazif Kanser</b>	İnvazif duktal karsinom
	İnvazif lobüler karsinom
	Müsinöz karsinom
	Medüller karsinom
	Papiller karsinom
	Tübüler karsinom
	Adenoid kistik karsinom
	Sekretuar (juvenil) karsinom
	Apokrin karsinom
	Metoplastik karsinom
	İnflamatuvar karsinom
<b>Diğerleri</b>	Meme başının Paget's hastalığı

### 2.3.1. Meme Kanserinde TNM Sınıflaması

T-Primer tümör

TX: Primer tümör değerlendirilemiyor

T0: Primer tümör yok

Tis: insitu karsinom

Tis (DKIS)

Tis (LKIS)

Tis (Paget) Meme başının Paget hastalığı tümör eşlik etmiyorsa (Paget tümöre eşlik ediyorsa tümör boyutuna göre değerlendirilir.)

T1: Tümör boyutu 2 cm veya daha küçük

T1mic: Mikroinvazyon 0.1 cm veya daha küçük

T1a: 0,1-0,5 cm

T1b: 0,5-1 cm

T1c: 1-2 cm

T2: 2-5 cm

T3: 5 cm'den büyük

T4: Tümör hangi boyutta olursa olsun göğüs duvarı ya da meme derisine yayılım (pektoral kas tutulumu hariç)

T4a: Göğüs duvarına yayılım

T4b: Meme derisinde ülser, ödem, meme derisinde satellit lenf düğümleri

T4c: T4a+T4b

T4d: İnflamatuvar karsinom

N-Bölgesel Lenf Düğümü (Patolojik)

NX: Bölgesel lenf düğümü değerlendirilemiyor

N0: Lenf düğümü metastazı yok

N1: İpsilateral aksiller 1-3 adet lenf düğümünde tümör metastazı

N2: İpsilateral aksiller 4-9 adet lenf düğümünde tümör metastazı ya da internal mammaryan lenf düğümü metastazı

N2a: Aksiler lenf düğümünde fikse tümör metastazı

N2b: İpsilateral internal mammaryan lenf düğümünde tümör metastazı

N3: İpsilateral infraklavikuler lenf düğümü metastazı ve beraberinde 10'dan fazla aksiller ya da internal mammaryan lenf düğümü tutulumu

N3a: Sadece infraklavikuler lenf düğümüne metastaz

N3b: İnternal mammaryan lenf düğümü ve aksiller lenf düğümü metastazı

N3c: Supraklavikuler lenf düğümü metastazı

M-Metastaz

MX: Uzak metastaz değerlendirilemiyor

M0: Uzak metastaz yok

M1: Uzak metastaz var

### 2.3.2. Genetik Faktörler

Meme kanserine yol açtığı saptanan en önemli genetik mutasyonlar başta BRCA1 ve BRCA 2 olmak üzere PTEN, P53, MLH1, MLH2 ve STK11 gen mutasyonlarını içerir. Tüm meme kanserlerinin %3-8'inde, ailevi meme kanseri olgularının %21-40 kadarında BRCA1 ve BRCA2 gen mutasyonları saptanmıştır (34). Her iki BRCA1 ve BRCA2 geni DNA integrasyon ve transkripsiyon regülasyonunu sağlayan tümör süpresör proteinlerin kodlarını taşır. Özellikle BRCA1 (17q21) daha fazla olmak üzere BRCA2 (13q14) gen mutasyonlarının varlığı otozomal dominant geçişli meme kanserlerinin çoğundan sorumludur. BRCA mutasyon oranları etnik ve ırksal gruplara göre farklılık gösterir. BRCA1 mutasyonu Askenazi Yahudilerinde daha sık görülürken bunu sırasıyla İspanyol ve Latin kökenli kadınlar, Afrika kökenli olmayan Amerikalı kadınlar ve Afrika ve Asya kökenli



kadınlar izlemektedir. BRCA1 ve BRCA2 mutasyonuna sahip kadınlarda yaşam boyu meme kanseri geliştirme ihtimali %50-80 olarak tahmin edilmektedir. Birden çok meme kanseri olan ailelerin %7'sinde BRCA1 mutasyonu saptanırken birden çok meme ve overkanseri olan ailelerde mutasyon oranı %40'lara kadar çıkmaktadır.

BRCA1 mutant insanlarda yaşamları boyunca meme kanserinin yanı sıra başta over kanseri olmak üzere kolon ve prostat kanseri riskide artar. BRCA 2 mutasyonları erken evre meme kanserlerinin %2,7'sinde saptanırken, meme ve over kanseri için riskli olan ailelerin%10-20'sinde saptanmıştır (35). BRCA2 mutant bir kadında gelişen meme kanseri, yüksek gradlı, ER+/PR+, HER2/neu- olma eğilimindedir. BRCA 2 mutasyonu erkek meme kanseri, prostat, pankreas, mesane, fallopan tüp kanserleri, non-hodgkin lenfoma ve bazal hücreli karsinom için de bir risk faktörüdür. TP53 mutasyonu ile oluşan Li-Fraumeni Sendromu'nda sarkom, beyin tümörü, lösemi, larinks ve akciğer kanserlerinin yanı sıra meme kanseri gelişme riski de yükselmiştir. Böyle hastalarda yaşam boyu meme kanser gelişme riski %90'dır. Ailesel meme kanseri vakalarının %1'ini oluşturur ve hastaların %25'inde kanse rbilateraldir. PTEN mutasyonu nadir görülen Cowden hastalığına neden olur (36). İntestinal hamartom, kutanöz lezyonlar ve tiroid kanser yatkınlığı olan bu kadınlarda yaşamları boyunca meme kanser gelişme ihtimali %30'dur. Bunlardan daha nadir görülen Peutz-Jeghers ve herediter Nonpolipozis kolorektal karsinom (Lynch sendromu) gibi tablolar da artmış meme kanseri ile ilişkilidir (37).

Son zamanlarda, hücre sel moleküler yolların hastalığın anlaşılmasında çok önemli noktalar olarak tanımlanmaktadır. Bu anlaşılmiş moleküler yollar hastalığın kontrolünde istenilen başarının kazanılmasını sağlayabilmektedir. İlk paragrafta da bahsedildiği gibi meme karsinogenezini çevresel ve genetik faktörler etkileyebilmektedir. İşte bu genetik faktörlerin meme kanseri patogenezinde önemli role sahip olduğu da çeşitli araştırmacılar tarafından gösterilmiştir ve bu genetik faktörlerinin belirlenmesinin meme kanserinden korunmada ve bireyselleştirilmiş tedavi yöntemlerinde kullanılabileceği görüşü hızla önem kazanmaktadır. Meme kanseri oluşumunda rol oynayan genetik faktörlerden bir tanesi de genetik polimorfizmlerdir (38). Birçok kanserde olduğu gibi, karmaşık ve çok basamaklı olan meme karsinogenezis sürecinde genetik polimorfizmlerin rol oynadıkları ve bireyin meme kanserine genetik yatkınlığından sorumlu oldukları birçok araştırmacı

tarafından gösterilmiştir. Bu yüzden gen fonksiyonunu veya ekspresyonunu etkileyerek meme kanserine yatkınlığı etkileyebilecek tek nükleotid polimorfizmlerinin belirlenmesi önemlidir.

Telomer, ökaryotik doğrusal kromozomların uçlarında bulunan herhangi bir gen kodlamayan, özelleşmiş heterokromatin yapılarıdır (39). Telomerler doğrusal kromozomların uçlarında bulunan, TTAGGG dizi tekrarlarından oluşan özelleşmiş yapılardır (40). Telomerler ve ilgili proteinler kendi üzerine katlanarak, telomerlerin hem korunması hem de replikasyonu için bir destek yapı oluşturan, böylelikle kromozom bütünlüğünü koruyan ve kromozomların uç uca füzyonunu önleyen, T ilmeği adlı telomer ilmek yapısını meydana getirir. Somatik hücrelerde bölünme sayısı sınırlıdır; telomer uçları fazla kısaldığında telomerlerden çıkan DNA hasarı sinyalleri, bölünmeyi durdurmak ve hücre yaşlanması ya da replikatif yaşlanma adı verilen bir süreçle apoptozu uyarmak üzere sinyaller gönderebilir (41). Bunun nedeni kısmen, DNA replikasyon mekanizmasının telomerik DNA'yı bütünüyle duplike edememesi sonucu telomerlerin her hücre bölünmesinde giderek kısalmasıdır (42). Bu olayların en iyi örnekleri, telomerlerin lökosit proliferasyonu ile ilişkisinin gösterildiği immün sistemde izlenmiştir (14).

### **2.3.2.1. Telomer biyolojisi**

Telomerler, T ilmekleridenen yapılar ve G kuadrupleksler oluşturan sarkan 3' tek iplik ucuyla sonlanan kısa DNA dizilerinin çoklu tekrarları ile ayırt edilir (43). İnsanlarda 10–15 kb, fare ve sıçan türlerinde 20–50 kb uzunluğunda olan dizilerin tekrar sayısı değişkendir (44). Telomer yapısını, telomerik tekrar dizileriyle birlikte onlara bağlanan shelterin proteinler oluşturur: TRF1, TRF2 ve Pot1 telomerazın telomere bağlanması ve telomer uzunluğunun düzenlenmesinde vazgeçilmez rol oynar (44, 45). Diğer üç shelterin protein TIN2, TPP1, RAP1 ise TRF1, TRF2 ve Pot1 ile doğrudan olmayan protein-protein etkileşimleri yoluyla telomere bağlanır. Telomerlerin yapısında shelterin proteinler dışında Ten1, Pinx1 gibi telomere özgü olmayan proteinler de bulunur ve bunlar önemli işlevler üstlenir (45). Fiziksel olarak

telomerler ökaryotlardaki doğrusal kromozomların başlık (“cap”) ucunda bulunur ve nükleik asit uçlarının kromozomal füzyonlara ve/veya kromozomal instabiliteye yol açabilecek DNA hasarı yanıtları tarafından tanınmasını önler (46). Hücre bölünmesi sırasında DNA replikasyonu için primer olarak işlev görür. İnsan telomeraz kompleksi, telomerleri parçalanmadan, kayıplardan, yeniden düzenlenme ve uç uca füzyondan koruyan hTERT, insan telomeraz RNA’sı (hTR) ve ilgili proteinlerden oluşan bir nükleoprotein olan telomerin sarkan 3’tek iplik ucuna bağlanır (44). Bu komplekste telomeraz düzenlenmesiyle ilgili en önemli bileşenler: Kataliz için aktif bölge görevi üstlenen hTERT ve DNA sentezinde ters transkripsiyonu sınırlandıran şablon (“template”) sınır elamanı olan hTR’dir.

Doku kültüründe primer insan hücrelerinin proliferatif kapasitesi popülasyonun 50-70 kez ikiye katlanması ile sınırlıdır ve insanlarda telomer uzunluğu 5-10 kb olup yaşla birlikte telomerin giderek kısaldığı ileri sürülmüştür (47). Hücre telomerleri kritik uzunluğa ulaştığında, hücrelerin çoğalan fraksiyonu, hücre proliferasyonunun kaybıyla seyreden hücre yaşlanması evresine girer (48). Kanser hücreleri ise büyük ölçüde telomeraz aktivasyonu ya da “alternatif telomer uzaması” olarak adlandırılan, homolog rekombinasyon aracılı telomer uzama mekanizmasının alternatif kullanımıyla telomer uzunluğunu korur. Bu diğer uzatma mekanizması, telomerazın bulunmadığı ya da aktivitesini tamamlayamadığı hücrede telomeraz aktivitesinin eksikliğini telafi eder (49). Benzer şekilde telomerlerin korunması, “genetik beklenti” (bir genetik bozukluk normal hücrelerde telomeraz aktivitesi sadece germ hücre soyu ya da atifleşmiş lenfositler dahil hematopoetik hücreler gibi proliferatif potansiyeli olan hücrelerde saptanır, buna karşılık insanda çoğu somatik hücrede telomeraz aktivitesi bulunmaz ve yalnızca somatik kök hücreler ile progenitör hücrelerde düşük düzeyde ekspresyon vardır (50). Tersine, birçok kanser hücresi tipinde telomeraz up-regülasyonu yoluyla telomer uzunluğu korunur, replikatif yaşlanma ya da apoptoz önlenir (51,52). Kanser hücrelerinde telomeraz ekspresyonunun ve eşzamanlı olarak enzim aktivitesinin yüksek olması, onu kanser tanısında ve prognozun belirlenmesinde yararlı bir moleküler belirteç haline getirir (52,53). Telomer işlev bozukluğu kemik iliği yetersizliği sendromlarında, lösemi ve kanser gelişiminde de rol oynamaktadır (54,55). Periferik kan hücreleri ve renal korteks dâhil çeşitli insan doku ve organlarında yaşlanma

sırasında telomerler kısalır (56). Bu çalışmalar telomerler ile yaşlanma, kanser ve otoimmün hastalıklar arasındaki sıkı ilişkiyi doğrulamaktadır.

Telomerlerin eşsiz nitelikleri kromozomların bütünlüğünün ve dayanıklılığının korunmasını sağlar. Telomeraz ökaryotik kromozomların uçlarına ardışık, kısa DNA tekrar dizilerini (telomerik DNA) yerleştiren enzimdir. Bir ribonükleoprotein olan telomeraz, protein katalitik altbirimi (insanda hTERT), RNA altbirimi (insanda hTR) ve bir veya daha fazla yardımcı proteinden oluşur. Telomeraz enzimi telomerik DNA'ların uzunluğunun ve kromozomal bütünlüğün korunmasında ayrıca hücrelölümsüzlük için de gereklidir. Telomeraz enziminin katalitik alt birimini oluşturan hTERT geni 5. kromozomun kısa kolu üzerinde lokalizedir (5p15.33). HTERT genindeki polimorfizmlerin karsinogenezis sürecine etkilerinin oldukları daha önceki yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar doğrultusunda fonksiyonel öneme sahip 5 polimorfizm belirlenmiştir. Bu 5 polimorfizmden biri olan hTERT rs2736098 (G>A) polimorfizmi genin 2. ekzonu içerisinde bulunan eşanlımlı bir değişime neden olmaktadır. Diğer bir polimorfizm olan hTERT rs2736100 (A>C) polimorfizmi 2. intron içerisinde bulunmaktadır. HTERT rs2736100 polimorfizmi varsayımsal düzenleme bölgesi içerisinde yer almaktadır. Üçüncü polimorfizm olan hTERT rs2736109 (G>A) polimorfizminin genin promoter bölgesi içerisinde bulunduğu ve fonksiyonel bir öneme sahip olduğu daha önceki yapılmış çalışmalarda gösterilmiştir. Fonksiyonel öneme sahip olduğu belirlenen dördüncü polimorfizm ise hTERT rs2735940 (C>T) polimorfizmidir. HTERT rs2735940 polimorfizmde genin promoter bölgesi içerisinde bulunmaktadır. Genin transkripsiyonel aktivitesi etkilediği belirlenen hTERT rs2735940 (C>T) polimorfizmi transkripsiyonun başlangıç yerinden 1327 baz çiftlik uzaklıkta bulunmaktadır. Beşinci polimorfizm olan hTERT rs2853669 (T>C) polimorfizmde genin promoter bölgesinde bulunmaktadır. Bu polimorfizmin bulunduğu bölgenin Ets2 transkripsiyon faktörünün bağlandığı bölge içerisinde olduğu belirlenmiştir (57).

### 3. MATERYAL ve METOD

Çalışma için Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi 07/02/2014/22 tarih ve sayılı İç Hastalıkları Akademik Kurul onayı ile karar no :17, 13/02/2014 tarihli etik kurul onayı alındı.

#### 3.1. Hasta ve Kontrol Grubu

Bu çalışma Şubat 2014-Temmuz 2014 arasında Mustafa Kemal Üniversitesi Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı'na başvuran 18 yaş üstü meme kanser tanısı almış 86 hasta ve yaş cinsiyet uyumlu 86 sağlıklı kontrol toplam 172 bireyde gerçekleştirildi. 18 yaş üstü rutin tetkik amaçlı Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne başvuran sağlıklı kişiler, kontrol grubuna alındı. Daha önce başka kanser tanısı eşlik eden 2. primer kanseri veya kemoterapi/radyoterapi görmüş hastalar dışlandı. Hastalara ait demografik bilgiler, her hastanın fizik muayenesi yapıp kaydedildi. Kontrol bireyler belirlenirken, hasta grubunun yaş ortalamasına yakın olmasına özen gösterilmiştir. Araştırmaya katılan çalışma ve kontrol grubu bireylerinin kanları gönüllülük esasına dayanarak etik kurallar çerçevesinde toplanmıştır. Hem hasta hem de kontrol grubundaki gönüllülere, çalışmaya katılmadan önce çalışmanın amacı ve içeriği hakkında açık bir dille bilgilendirilmiş onam formu imzalatılmıştır. Meme kanserli ve sağlıklı kontrol bireylerden toplanan periferik kandan elde edilen DNA'lar materyal olarak kullanıldı. Meme kanseri tanısı alan hastalar ile bu hastaların kontrol bireylerinin periferik kanı bilgilendirilmiş onam formu imzalatıldıktan sonra 0,5 molar (M) etilendiamintetraasetik asit (EDTA) (5,4 mg) içeren vakumlu tüplere 2 ml olacak şekilde kan dolduruldu. Hasta ve kontrol grubu bireylerinden alınan periferik kanlar DNA izolasyonu yapılana kadar  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de

saklandı. Periferik kandan izole edilen genomik DNA'lar -20 °C'de çalışma gününe kadar muhafaza edildi. İzole edilen DNA'lar Telomeraz Ters Transkriptaz (hTERT) genindeki genetik polimorfizmleri çalışılması amacıyla Adıyaman Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji ve Genetik Laboratuvarına gönderildi.

## **3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Deney Ekipmanları**

### **3.2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler**

#### **3.2.1.1. Htert Genindeki Rs2736100 Polimorfizmin Analizinde Kullanılan Primer Çifti**

HTERT genindeki rs2736100 polimorfizmi saptamak için seçilen primer çifti ile hTERT rs2736100 polimorfizminin oluşmasına neden olan nükleotidin de içinde bulunduğu 152 baz çiftlik (bç) bir DNA fragmenti amplifiye edilmiştir. Kullanılan primerlerin uzunlukları, erime sıcaklıkları (T<sub>m</sub>), guanin-sitozin (GC) baz oranı ve baz dizisi tablo 5'te gösterilmiştir. Primerler, liyofilize halde, 0,2 µmol sentez skalasında sentezlenmiş ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile saflaştırılmış ticari olarak (EllaBiotechGmbH Am Klopferspitz 1982152 Martinsried/Germany) satın alınan hTERT rs2736100 ileri primeri 100 pmol/µl hacimde olacak şekilde üretici firmanın önerisi olan 533 µl aynı şekilde hTERT rs2736100 geri primeri de 100 pmol/µl hacimde olacak şekilde 528 µl PCR için uygun saflıktaki steril distile su ilave edilerek çözüldü ve -20 °C'de saklanmıştır.

**Tablo 4.** HTERT Genindeki Rs2736100 Polimorfizmini Saptamak İçin Kullanılan Primerlerin Uzunlukları, Erime Sıcaklıkları, GC Oranı ve Baz Dizisi

Primer	Uzunluk (bç)	Tm (°C)	(%) GC	Baz dizisi
hTERT rs2736100 İleri	20	56.9	45.0	5'- CCCCACAAGCTAAGCATTAT -3'
hTERT rs2736100 Geri	19	58.3	52.6	5'- GAAGAACCACGCAAAGGAC - 3'

### 3.2.1.2. DNA İzolasyon Kiti

Roche firmasının ürettiği yüksek saflıkta PCR için kalıp DNA hazırlama kiti (High Pure PCR Template Preparation Kit) (Cat. No. 11 796 828 001) periferik kandan ve parafine gömülü kolorektal kanserli dokulardan genomik DNA izolasyonu için kullanılmıştır. Yüksek saflıkta PCR için kalıp DNA hazırlama kitinin içerisinde aşağıdaki bileşikler ve tüpler bulunmaktadır.

Yüksek saflıkta PCR için kalıp DNA hazırlama kitinin içeriği:

1. Doku Parçalama Çözeltisi (Tissue Lysis Buffer).....20 ml  
(4M üre, 200mM NaCl, 200mM EDTA, pH: 7.4, 25 oC)
2. Bağlanma çözeltisi (Binding Buffer).....20 ml  
(6M guanidine-HCl, 10mM üre, 10 mM Tris-HCl, % 20 Triton X-100 (v/v), pH:4.4, 25 oC)
3. Proteinaz K (recombinant PCR grade, Liyofilize)  
(4.5 ml distile su ilave edildikten sonra kullanıldı)
4. İnhibitör Uzaklaştırıcı Çözelti (Inhibitor Removal Buffer).....33 ml

(5M guanidine-HCl, 20mM Tris-HCl, pH:6.6, 25 oC) (20 ml etanol ilave edildikten sonra kullanıldı)

5.Yıkama çözeltisi (Wash Buffer).....20 ml

(20mM NaCl, 2mM Tris-HCl, pH:7.5) (80 ml etanol ilave edildikten sonra kullanıldı)

6.Çözdürme Çözeltisi (Elution Buffer).....40 ml

(10mM Tris, pH:8.5, 25 oC)

7.Filtreli tüpler (High PureFilter Tubes).....100 Adet

(Polypropylen)

8.Toplama Tüpleri (Collection Tubes).....400 Adet

### 3.2.1.3. Sfc I Restriksiyon Endonükleaz

hTERT genindeki rs2736100 polimorfizmi bu çalışmada PCR-RFLP yöntemi ile belirlenmiştir. Rs2736100 polimorfizmi New England Biolabs firmasının ürettiği Sfc I restriksiyonendonükleaz enzimi ile belirlenmiştir. *Streptococcusfaecium* (*A. Meloni*) bakterisine ait Sfc I genini taşıyan *Escherichiacoli* suşundan Sfc I restriksiyon endonükleaz enzimi üretilmiştir. Bu enzim restriksiyon etkisini yapışkan uç oluşturarak gösterir. Sfc I restriksiyon endonükleaz enzimine ait DNA özelliği aşağıda verilmiştir.





### **3.3. Kullanılan Deney Ekipmanları**

#### **3.3.1. Santrifüjler**

DNA izolasyonu çalışmalarında dakikada 18.000 devir yapabilen, -20 °C ile +40 °C sıcaklıkları arasında ayarlanabilen, 278 x 333 x 620 mm boyutlarında olan 1,5 ve 2,0 ml eppendorf tüplerine uyumlu ve 12 adet tüp kapasiteli MIKRO 22R model HETTICH marka soğutmalı santrifüj kullanılmıştır.

PCR ve PCR-RFLP işlemlerinde reaksiyon reaktiflerini deney tüpünün dibine toplamak amacıyla dakikada 13.000 devir yapabilen 0,2 ve 0,5 ml eppendorf tüplerine uyumlu ve 16 adet tüp kapasiteli FORCE 13 model TECHNE CAMBRIDGE marka masaüstü mikro santrifüj kullanılmıştır.

#### **3.3.2. Derin Dondurucular**

Çalışmamızda kullanılan saf malzemelerin saklanması için -20 °C sıcaklığa inebilen ETUP 514 SL model ARISTON marka derin dondurucu kullanılmıştır.

#### **3.3.3. Polimeraz Zincir Reaksiyon Aleti (Termal Cycler)**

PCR işleminde GeneAmp<sup>R</sup> PCR System 9700 model AppliedBiosystems (AppliedBiosystems, Singapore) marka termal cycler kullanılmıştır. Termal cycler cihazı 0,2 ml eppendorf deney tüpüne uyumlu ve 96 adet mikrotüp kapasitelidir.

### **3.3.4. Jel Görüntüleme Sistemi**

Elektroforez sonuçları BioDoc II<sup>TM</sup>Biometra marka görüntüleme sistemi ile görüntülenmiştir. Görüntüleme sisteminde beyaz ve UV ışık yayabilen iki farklı lamba ve bilgisayara bağlı kamera bulunmaktadır.

### **3.3.5. Jel Analiz Sistemi**

Jel görüntüleme sistemindeki kamera ile alınan görüntüler Bio Doc Analyze 1,0 BDA U-90 Biometra (Göttingen, Germany) programı ile analiz edilmiştir. Analiz edilen görüntüler bu program altında bilgisayara kayıt edilmiştir.

## **3.4. DNA İzolasyonu**

### **3.4.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu**

HTERT genindeki rs2736100 polimorfizminin belirlenmesindeki ilk aşama, periferik kandan cam lifli filtreye nükleik asit bağlama metoduna göre gerçekleştirilen DNA izolasyonudur. Çalışmalar, ticari olarak satılan DNA izolasyonu kitinin (yüksek saflıkta PCR için kalıp DNA hazırlama kiti) protokolüne göre gerçekleştirildi. Protokol aşağıdaki basamaklardan oluşmaktadır. EDTA'lı tüplere alınan periferik kandan 200 µl alınıp 2ml kapasiteli eppendorf tüpüne aktarıldıktan sonra bunun üzerine 200 µl bağlanma çözeltisi ve 40 µl Proteinaz K ilave edildi; pipetle resüspanse edilerek homojenizasyon sağlandı. Tüpler, önceden 70 °C'ye ayarlanan kuru ısı bloğunda 10 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon

sonunda, karışımın üzerine 100 µl izopropanol eklendi ve pipet ile iyice karıştırıldı. Eppendorf tüpü içinde bulunan örneğin tamamı toplama tüpü içine yerleştirilmiş filtreli tüpün içine pipet ile aktarıldı. 8000 devir/dakikada 1 dakika santrifüj yapıldı. Santrifüj sonrasında filtreli tüp yeni bir toplama tüpüne aktarıldı. Filtreli tüpün üzerine 500 µl inhibitör uzaklaştırıcı çözeltisi eklendi. 8000 devir/dakikada 1 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında filtreli tüp yeni bir toplama tüpüne aktarıldı.

Filtreli tüpün üzerine 500 µl yıkama çözeltisi eklendi ve 8000 devir/dakikada 1 dakika santrifüj yapıldı. Santrifüj sonrasında filtreli tüp yeni bir toplama tüpüne aktarıldı. Filtreli tüpün üzerine ikinci kez 500 µl yıkama çözeltisi eklendi. Böylece yıkama işlemi iki defa tekrar edilmiş oldu. 8000 devir/dakikada 1 dakika santrifüj yapıldı. Santrifüj bittikten sonra, toplama tüplerinin alt kısmında biriken sıvı uzaklaştırıldı ve 13000 devir/dakikada 10 saniye santrifüj edildi. Filtreli tüpler, temiz birer eppendorf tüpünün içine yerleştirildi ve 70 °C'ye ayarlanmış kuru ısı bloğunda ısıtılmış olan çözdürme çözeltisinden 200 µl ilave edilerek 8000 devir/dakikada 1 dakika santrifüj yapıldı. Santrifüj sonrasında filtreli tüp atıldı. Eppendorf tüpünde geri kalan çözelti pürifiye edilmiş genomik DNA'dır. Bu aşamadan sonra çözünmüş DNA'lar -80 °C'de polimeraz zincir reaksiyonu gerçekleştirilinceye kadar saklandı.

### **3.5. HTERT Genindeki Rs2736100 Polimorfizminin PCR-RFLP Yöntemi İle Belirlenmesi**

#### **3.5.1. HTERT Genindeki Rs2736100 Polimorfizmini Saptamak Amacıyla Bu Polimorfizmin Olabileceği DNA Bölgesinin PCR İle çoğaltılması**

HTERT rs2736100 polimorfizmi insanda 5 kromozomun kısa kolu üzerinde lokalize olan (5p15.33) hTERT geninin 2 intronunda bulunmaktadır. Rs2736100 polimorfizmi sitozin nükleotidinin guanin nükleotidine (C→A) dönüşmesi sonucu meydana gelir. HTERT rs2736100 polimorfizmi Cybulski ve ark. (2004b)'nın

kullanmış oldukları PCR-RFLP yöntemi ile belirlenmiştir. İçerisinde hTERT rs2736100 polimorfizminin meydana geldiği 152baz çiftlik (bç) genomik insan DNA'sının polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifikasyonu için hTERT rs2736100 İleri: 5'- CCC CAC AAG CTA AGC ATT AT -3' ve hTERT rs2736100 Geri: 5'- GAAGAACCACGCAAAGGAC-3' primerleri kullanılmıştır.

Tablo 6'da kullanılan primerlerin hTERT geni üzerindeki konumları (altı çizili ve kırmızı renkli nükleotidler) ve rs2736100 polimorfizminin bulunduğu bölge (büyük harf ve mavi renkli nükleotid) gösterilmiştir.

**Tablo 5.** HTERT Rs2736100 Polimorfizmi Bulunduğu Bölgenin Çoğaltılmasında Kullanılan Primerlerin HTERT Geni Üzerindeki Konumları ve Polimorfizmin Meydana Geldiği Nükleotid

TAAGACCCTT	AGTGTATTTT	AGCTCTGGCC	ACCCCCCAGC	CTGTGTGCTG	TTTTCCCTGC
TGACTTAGTT	CTATCTCAGG	CATCTTGACA	CCCCACAAG	CTAAGCATTA	TTAATATTGT
		TTTCCGTGTT	GAGTGTTTCT		
			K(C→A)		
TAGCTTTGCC	CCCGCCCTGC	TTTTCCCTCCT	TTGTTCCCCG	TCTGTCTTCT	GTCTCAGGCC
CGCCGTCTGG	GGTCCCCTTC	CTTGTCCTTT	GCGTGGTTCT	TCGTCTTGT	TATTGCTGGT
AAACCCCAGC	TTTACCTGTG	CTGGCCTCCA	TGGCATCTAG	CGACGTCCGG	GGACCTCTGC

DNA izolasyonu ile izole edilen DNA örneklerinden hTERT rs2736100 polimorfizmini belirlemek amacıyla, polimorfizmin bulunduğu 152bç.'lik bir gen bölgesi PCR ile çoğaltıldı. Her bir örnek için, daha önce otoklavda sterilize edilen 0,2 ml'lik PCR tüpünde 25 µl'lik bir PCR reaksiyonu hazırlandı. PCR protokolü aşağıdaki basamaklardan oluşmaktadır. Tüm PCR eriyiklerinin bir araya konulduğu ana karışım 1,5 veya 2 ml'lik steril eppendorf tüpleri içerisinde hazırlandı. Tüplere pipetaj sırasındaki kayıplar göz önünde bulundurularak çoğaltılacak örnek sayısından 3-5 örnek kadar fazla olacak şekilde PCR karışımı hazırlandı. Tablo 7'de ana karışımın hazırlanışı ve PCR eriyiklerinden 25 µl'lik bir PCR reaksiyonu için ne

kadar alınması gerektiği ve eriyiklerin reaksiyondaki son konsantrasyonları gösterilmiştir.

Ana karışım vorteks ile karıştırıldıktan sonra çepelere yapışan damlacıklardan da yararlanmak için çok kısa bir santrifüj (spin) (8000 devir/dakikada 10 saniye) ile tüm sıvı bir araya toplandı. 0,2 µl'lik steril PCR tüpleri etiklendikten sonra PCR ana karışımından bunların her birine 17,5 µl konuldu. Her etiketli PCR tüpüne aynı etikete sahip DNA tüplerinden 7,5'er µl DNA eklenerek her tüpün içinde 25 µl'lik PCR karışımı oluşturuldu. Negatif (su) ve pozitif (hTERT rs2736100 polimorfizmi homozigot ve heterozigot olarak bulunduran DNA) kontrollerde aynı şekilde etiketlendi. Bütün tüpler GeneAmp<sup>R</sup> PCR System 9700 (AppliedBiosystems) PCR cihazına yerleştirildi. Tablo 8'de PCR protokolü programlanarak PCR cihazı çalıştırıldı. Ardından PCR cihazından çıkarılan örnekler agaroz jel elektroforez ile analiz edilinceye kadar 4 °C'de saklandı.

**Tablo 6.** HTERT Rs2736100 Polimorfizmini Saptamak Amacıyla Optimum Amplifikasyonun Gerçekleştirildiği PCR Reaksiyon Karışımı

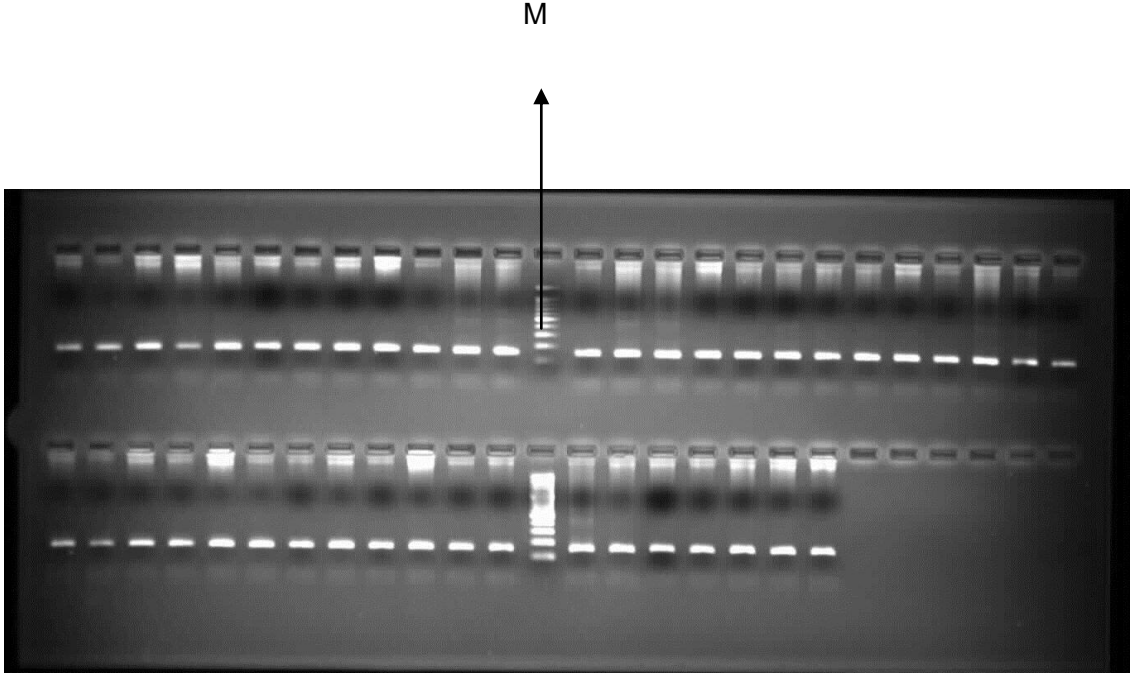
Malzeme	Stok Konsantrasyon	Son Konsantrasyon (25µl'de)	Alınan Miktar (µl)
PCR tamponu	10X	1X	2,5 µl
MgCl <sub>2</sub>	25 mM	1,5 mM	1,5 µl
dNTP karışımı	10 mM	200 µM	0,5 µl
hTERT rs2736100 İleri Primer	50 pmol/µl	12.5 pmol/µl	0,25 µl
hTERT rs2736100 Geri Primer	50 pmol/µl	12.5 pmol/µl	0,25 µl
TaqDNA polimeraz	5 U/µl	3 U	0,6 µl
DNA	15-30 ng/µl	112.5-225 ng	7,5 µl
ddH <sub>2</sub> O	--	--	11,9 µl

**Tablo 7.** HTERT Rs2736100 Polimorfizmi İçin PCR Sıcaklıkları ve Döngü Sayıları

Reaksiyon Aşaması	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü sayısı
İlk denatürasyon	94	3 dakika	1
Denatürasyon	94	30 saniye	30
Bağlanma (Annealing)	60	60 saniye	
Uzama (Extension)	72	30 saniye	
Son Uzama	72	5 dakika	1
Soğutma	4	--	--

### 3.5.2. HTERT Rs2736100 Polimorfizminin Bulunduğu Bölgenin PCR İşlemi Sonucunda Görüntülenmesi

HTERT rs2736100 polimorfizminin bulunduğu bölgenin PCR reaksiyonu ile çoğaltılması sonucunda bu bölgenin çoğaltılıp çoğaltılmadığı %2,5'luk agaroz jel elektroforez ile kontrol edildi. Birinci kuyucuğa DNA marker diğer kuyulara PCR ürünleri yüklendi. Jel 90 voltta 30 dakika elektroforeze tabi tutuldu. Bio Doc II™ Biometra jel görüntüleme sistemi ile DNA bantları incelendi. HTERT rs2736100 polimorfizminin bulunduğu bölge için 152bp'lik 1 adet bant gözlemlendi (şekil 1).



**Şekil 1.** HTERT rs2736100 polimorfizminin bulunduğu DNA bölgesinin PCR reaksiyonu ile çoğaltılması sonucu oluşan DNA parçasının %2,5'lik agaroz jeldeki görüntüsü. M: DNA marker, diğer Kuyucuklar: HTERT rs2736100 polimorfizminin bulunduğu 152bç'lik DNA fragmenti

### 3.5.1. HTERT Rs2736100 Polimorfizmini Belirlemek İçin RFLP Analizi

Restriksiyon endonükleazlar (RE) çift iplikli DNA'yı kesen enzimlerdir. RE DNA diziliminde iki yönlü simetri oluşturan palindromik (her iki yönden de aynı biçimden okunan) bölgelerdeki baz dizilerini tanırlar ve bu dizilerden her iki DNA zincirini keserler. Bu enzimler bakterilerden izole edilir ve bakteriye giren viral DNA'yı parçalayarak bakteriyi virüs enfeksiyonundan korurlar. Restriksiyon enzimlerinin bilimsel adlandırılması izole edildiği bakterinin üç harfli kısaltmasını takip eden suş tanımlamasıyla beraber buldukları sıraya göre romen rakamıyla yapılır.

HTERT rs2736100 polimorfizmini RFLP yöntemi ile saptayabilmek için Sfc Irestriksiyon enzimi kullanıldı. Bu enzim 5'...C<sup>↓</sup>TRYAG...3' sırasına sahip 6 nükleotidlik DNA bölgesini tanıır ve 5' tarafındaki CT bazları arasında yapışkan uç oluşturacak şekilde kesim yapar. Sitozin'in (C) Adenin'e (C-->A) dönüşmesi sonucu Sfc Irestriksiyon enziminin tanıma ve kesim bölgesi tamamlanmış olur ve bu durumda enzim 152bç'lik DNA parçasını 101 ve 51bç'lik iki parçaya böler.

RFLP protokolü aşağıdaki basamaklardan oluşmaktadır:

1. RFLP reaksiyonu için gerekli ana karışım, 1,5 veya 2 ml'lik steril eppendorf tüpü içinde hazırlandı. Deney tüplerine ana karışımın pipetle aktarılması sırasındaki kayıplar göz önünde bulundurularak kesim yapılacak örnek sayısından 3-5 örnek kadar fazla olacak şekilde karışım hazırlandı. Tablo 9'da ana karışımın hazırlanışı ve RFLP eriyiklerinden 20 l'lik bir RFLP reaksiyonu için ne kadar alınması gerektiği ve eriyiklerin reaksiyondaki son konsantrasyonları gösterilmiştir.
2. Tablo 9'da verilen kimyasallar belirtilen miktarlarda karıştırıldı. Öncelikle su, tampon ve BSA sonrasında enzim karışıma eklendi. Ardından vorteks ile karıştırılıp, kısa bir spin santrifüj (8000 devir/dakikada 10 saniye) ile tüm sıvının tüpün alt kısmında toplanması sağlandı.
3. 0,5 ml'lik steril tüpler PCR rnleri ile eşleşecek şekilde etiketlenip, ilerine 15 l RFLP reaksiyon karışımından konuldu. Her alışma için yapılan pozitif kontrollerde (hTERT rs2736100 polimorfizminihomozigot ve heterozigot olarak bulunduran PCR rnleri) aynı şekilde etiketlendi.
4. Tüplere aynı isimli PCR ürünlerinden 5 l eklendi.
5. Kısa bir spin santrifüj (8000 devir/dakikada 10 saniye) ile tüm damlacıklar bir araya toplandı ve her tüpün üzerine mineral oil eklendi. Buharlaşmayı önlemek için tüm tüplerin kapak kenarları parafilm ile sıkıca sarıldı. Sonra tüplerin tamamı daha önceden, enzim üreticisinin tavsiyesi doğrultusunda 37 C'ye ısıtılan kuru ısı bloğuna yerleştirildi.
6. 37 C'de bir gece inkübasyonun ardından (16 saat), tüpler kuru ısı bloğundan alınarak 4 C'de soğumaya bırakıldı. Bu arada yukarıda anlatılan yöntemler ile % 2,5'lik agaroz jel hazırlandı.
7. Tüm RFLP rnleri ve DNA marker'ı, tek tek jel yükleme tamponu ile karıştırılarak jele yüklendi. Yükleme esnasında pipet ile aktarma işlemi çok dikkatli bir şekilde gerçekleştirildi. Jel 90 voltta elektroforez edildi.
8. 45-55 dakika sonra elektroforez durduruldu. Jel tepsisinden çıkarılan jel, jel görüntüleme sistemi ile incelendi ve bilgisayara bağlı kamera yardımıyla görüntünün fotoğrafı çekildi ve bilgisayara kaydedildi.

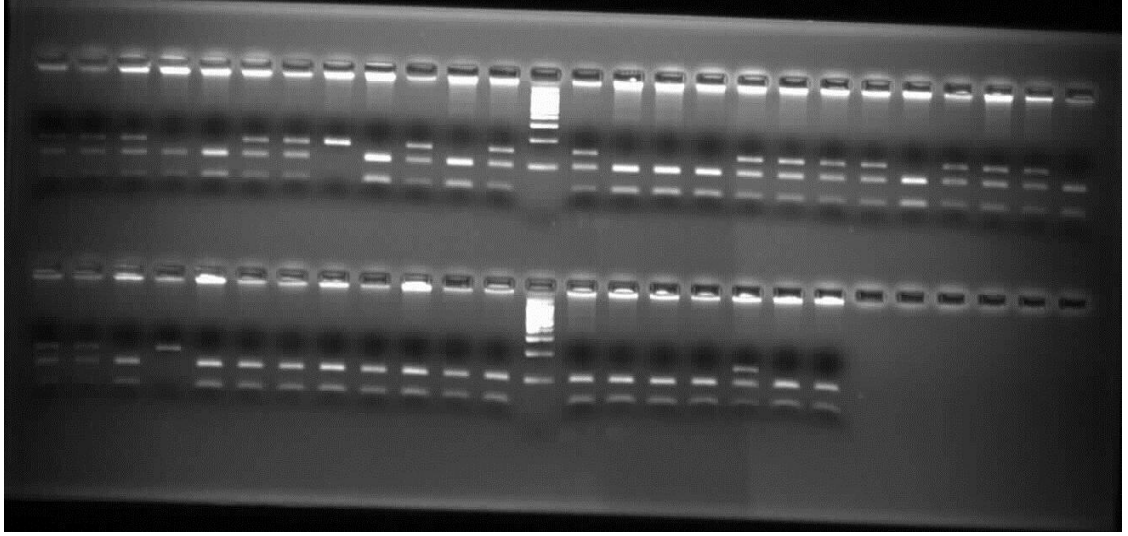


**Tablo 8.** HTERT Rs2736100 Polimorfizmi Belirlemek İçin RFLP Reaksiyonu Karışımı

Malzeme	Stok Konsantrasyon	Son Konsantrasyon (20µl'de)	Alınan Miktar (µl)
Cut Smart™ Buffer	10X	1X	2 µl
Bovın serum albumin	10mg/ml	100µg/ml	0,2 µl
PstI	20.000 U/ml	12 U	0,6 µl
PCR ürünü	--	--	5 µl
ddH <sub>2</sub> O	--	--	12,2 µl

Kesim reaksiyonu sonucu oluşan ürünler % 2,5'lik agaroz jelde yürütülüp görüntüledikten sonra, olguların genotiplenmeleri gerçekleştirildi. Kesim sonucunda elde edilen ve olguların genotipini belirleyen bandlar aşağıda belirtilmiştir. Görüntülü açıklamada Şekil 2'de görülmektedir.

- a- HTERT rs2736100 polimorfizmini için CC genotipteki olgularda 152bp'i büyüklüğündeki tek bir DNA fragmenti (RE tanıma bölgesi bulamadığından PCR ürünü kesilmemiştir) görülmüştür.
- b- HTERT rs2736100 polimorfizmini için heterozigot (CA) genotiplerde 152, 101 ve 51 bp'i büyüklüğünde üç DNA fragmenti (RE bir A allel bulunduğundan dolayı bir tanıma bölgesine sahiptir diğer allelde tanıma bölgesi olmadığından kesilmemiştir) görülmüştür.
- c- HTERT rs2736100 polimorfizmini için homozigot (AA) mutant genotiplerde 101 ve 51 bp'i büyüklüğünde iki DNA fragmenti (RE iki A alleli bulunduğundan dolayı tüm PCR ürünleri kesmiştir) görülmüştür.



**Şekil 2.** HTERT rs2736100 polimorfizminin RFLP yöntemi ile genotiplendirilmesi sonucu oluşan DNA parçalarının % 2.5'luk agaroz jeldeki görüntüsü

### **3.6. İstatiksel Yöntem**

İstatiksel değerlendirmeler için SPSS (Statistical Package for social sciences) for Windows 15,0 paket programı kullanıldı. Tamamlayıcı istatistikler yüzde olarak ifade edildi. Kategorik değişkenler sayı ve sıklık olarak ifade edilirken sürekli değişkenler, ortalama± SD olarak ifade edildi. Sürekli değişken olan yaş normal dağılım yönünden Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Nominal değişkenler arası ilişkiler ki-kare / fisher's exact testi ile, gruplar arası ortalama farkı testi students' t testi ile incelendi. Tüm istatiksel veriler için  $p < 0,05$  anlamlı olarak kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Bu çalışma 18 yaş üstü meme kanser tanısı almış 86 hasta ve yaş uyumlu 86 sağlıklı kontrol toplam 172 bireyi içermektedir. Hasta grubu ve kontrol grubunun yaş ortalamasına yakın olmasına özen gösterilmiştir. Hasta kontrol grubunun yaş ortalaması verileri Tablo 10'da gösterilmektedir.

**Tablo 9.** Çalışmaya Katılanların Yaş Ortalamaları

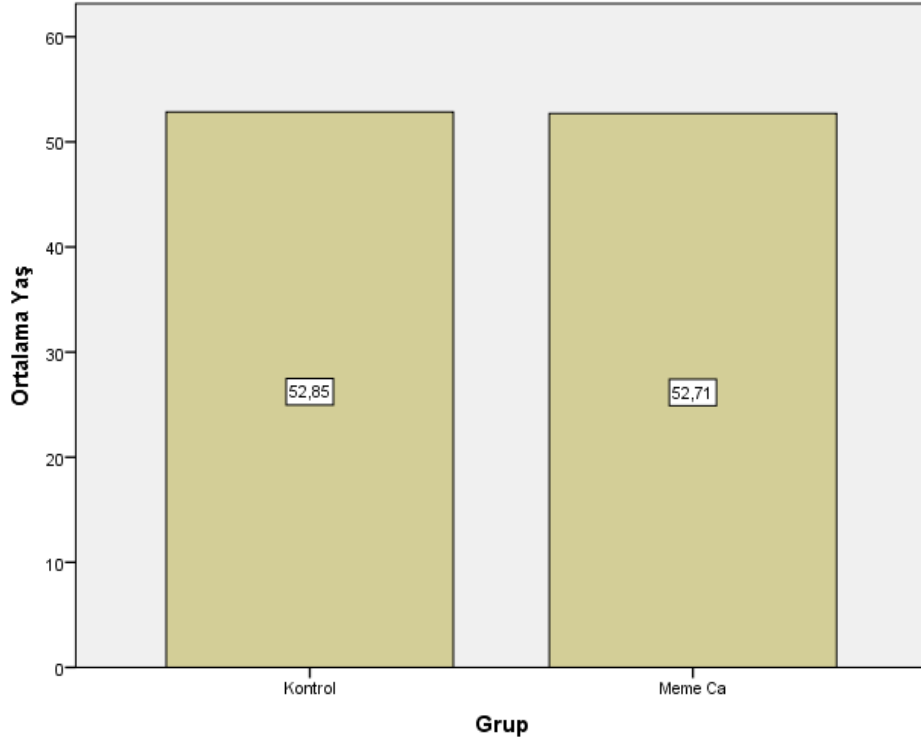
	Sayı	Minimum	Maximum	Ortalama	Standart Sapma
Yaş	172	25	77	52,78	11,19

Çalışmaya katılanların yaş dağılımlarına bakıldığında; en küçük yaş 25, en büyük yaş 75 olup, yaş ortalaması  $52,78 \pm 11,19$  idi.

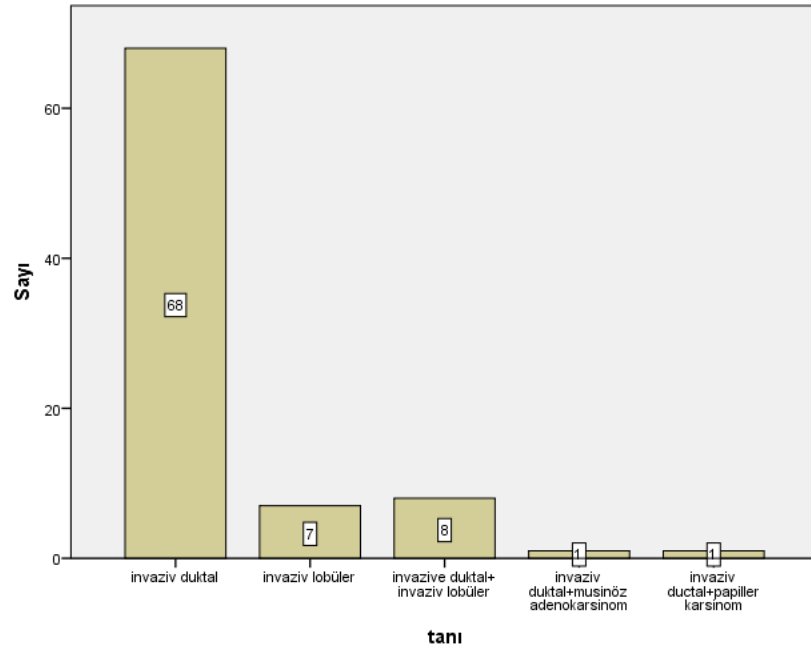
**Tablo 10.** Vaka ve Kontrol Gruplarının Yaş Ortalamaları

Grup		Sayı	Minimum	Maximum	Ortalama	Standart sapma
Kontrol	Yaş	86	26	77	52,85	11,14
Meme Kanseri	Yaş	86	25	77	52,71	11,31

Kontrol grubunun yaş ortalaması  $52,85 \pm 11,14$  iken vaka grubunun yaş ortalaması  $52,71 \pm 11,31$  olarak bulundu. İki grubun yaşları arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark yoktu ( $p=0,935$ ), (Tablo 11 ve şekil 3)



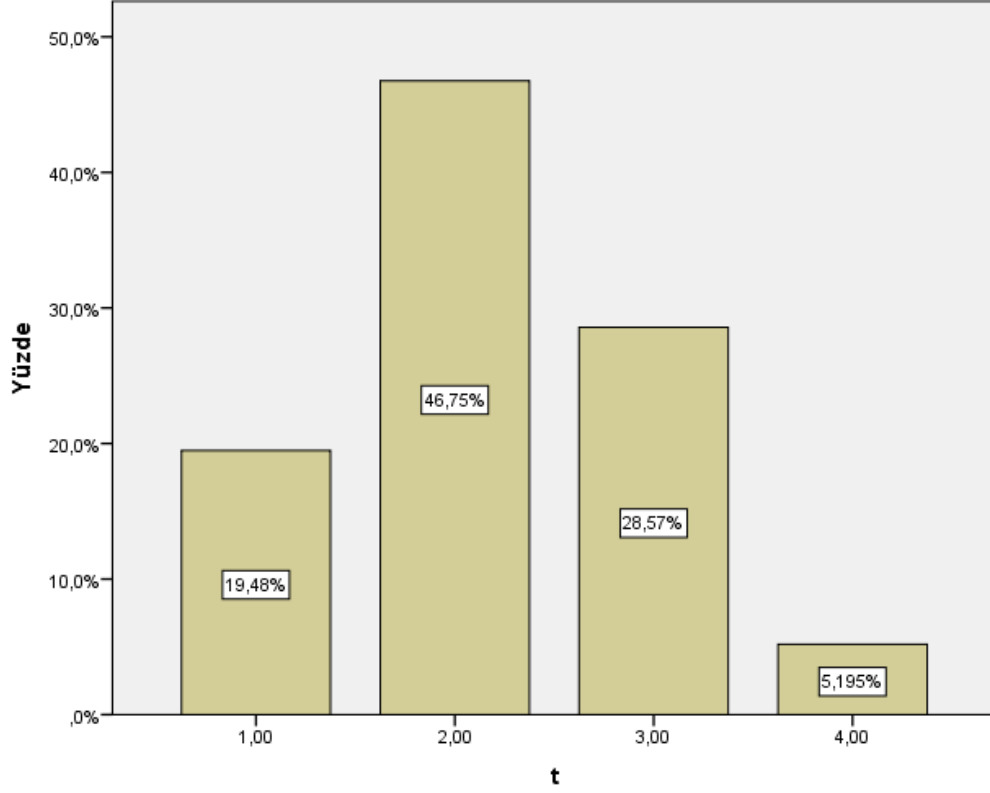
**Şekil 3.** Vaka ve kontrol gruplarının yaş ortalamaları



**Şekil 4.** Vaka grubunda yer alan meme kanser tanı hastalarının patolojik tanıları ve oranları

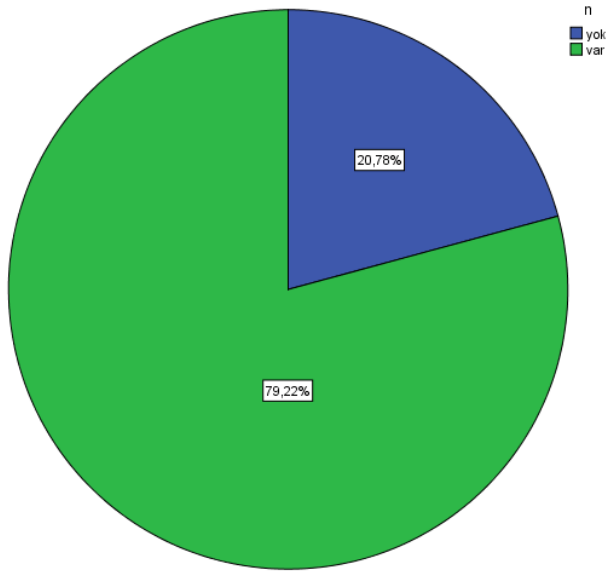
Çalışmaya katılan 86 meme kanser tanı hastalarının 68'i invaziv duktal karsinom, 7'si invaziv lobüler karsinom, 8'i invaziv duktal+invaziv lobüler karsinom, 1'i

invaziv duktal+müsinöz adenokarsinom, 1'i invaziv duktal+papiller karsinomdu (Şekil 4).



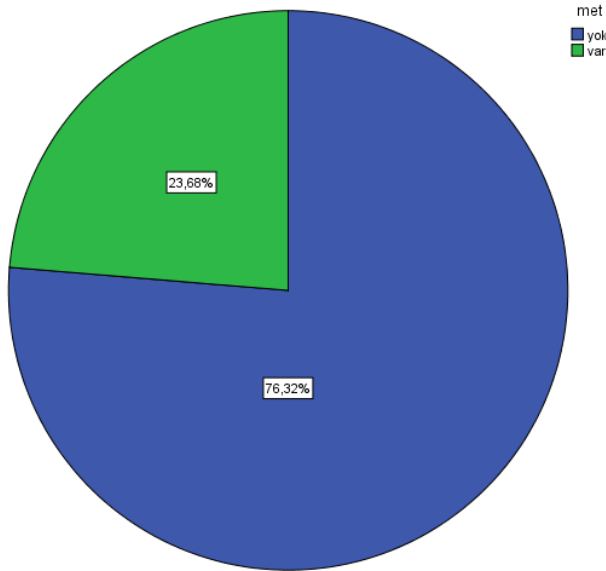
Şekil 5. Meme kanserli hastaların t evreleri

Çalışmaya katılan 86 meme kanser tanıli hastaların %19,4'ü T1, %46,7'si T2, %28,5'i T3, %5,1'i T4 idi (şekil 5).



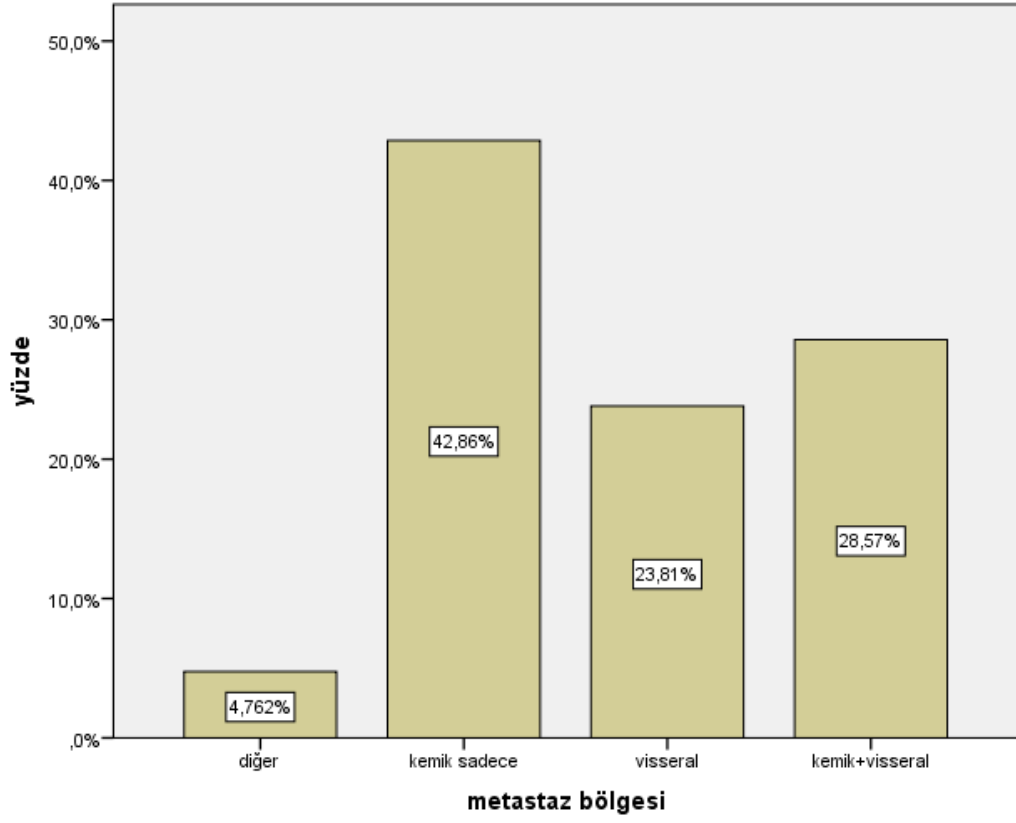
**Şekil 6.** Meme kanserli hastaların TNM göre lenf nodu tutulumu

Çalışmaya katılan 86 meme kanser tanılı hastaların %79,2'sinde lenf nodu tutulumu varken, %20,8'nde lenf nodu tutulumu yoktu (şekil 6).



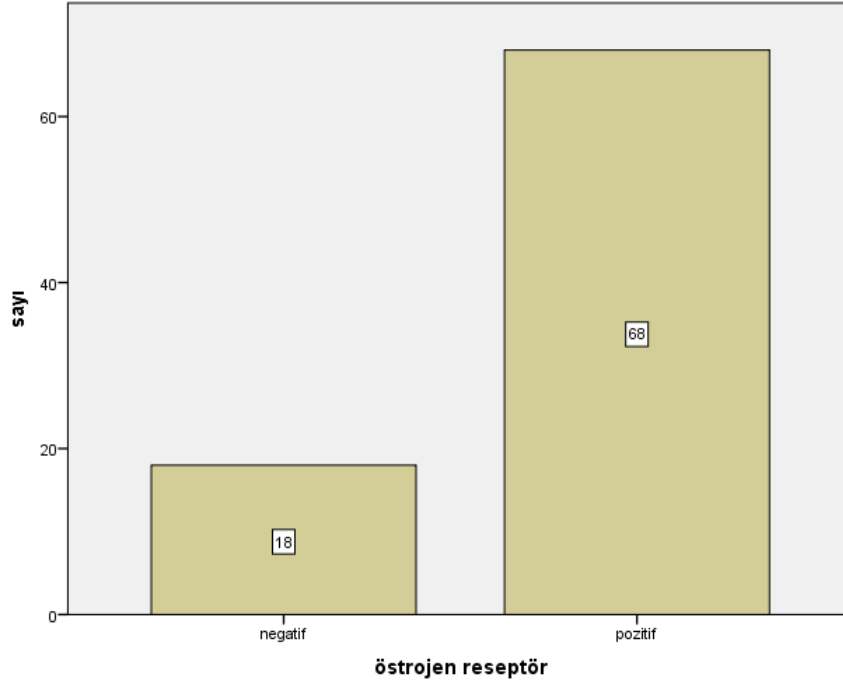
**Şekil 7.** Meme kanserli hastaların TNM göre metastaz durumları

Çalışmaya katılan 86 meme kanser tanılı hastaların %76,3'ünde metastaz yokken, %23,7'sinde metastaz mevcuttu (şekil 7).

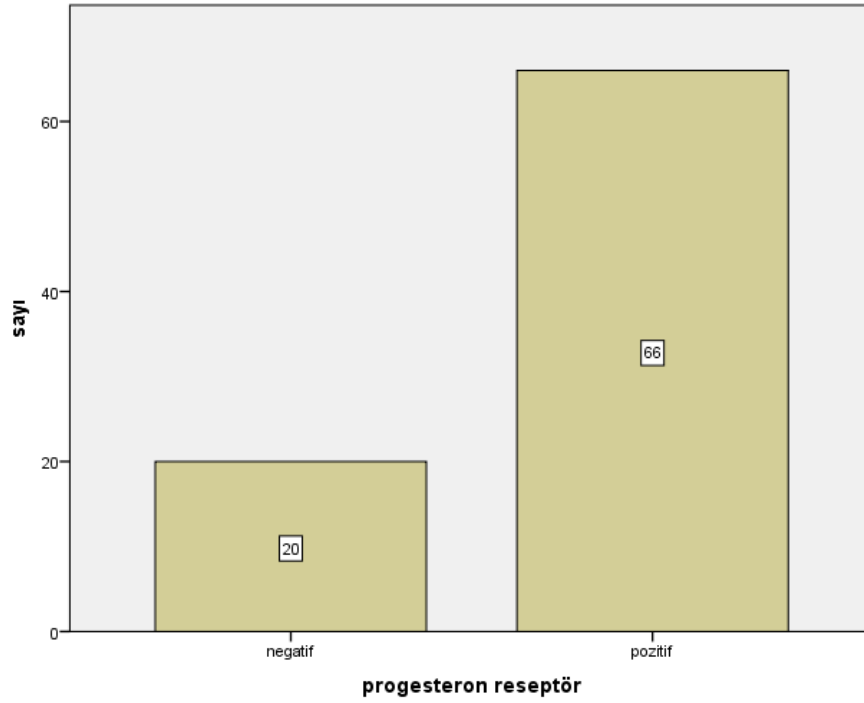


**Şekil 8.** Meme kanser tanılı hastaların metastaz bölgeleri

Metastazı olan hastaların %42,8'inde sadece kemik, %28,5 'inde kemik ve visseral, %23,8'inde visseral, %4,7'sinde diğer bölge metastazları mevcuttu. Hastaların %64,3'ünde lenfovasküler invazyon, %46,7'sinde perinöral invazyon vardı (şekil 8).



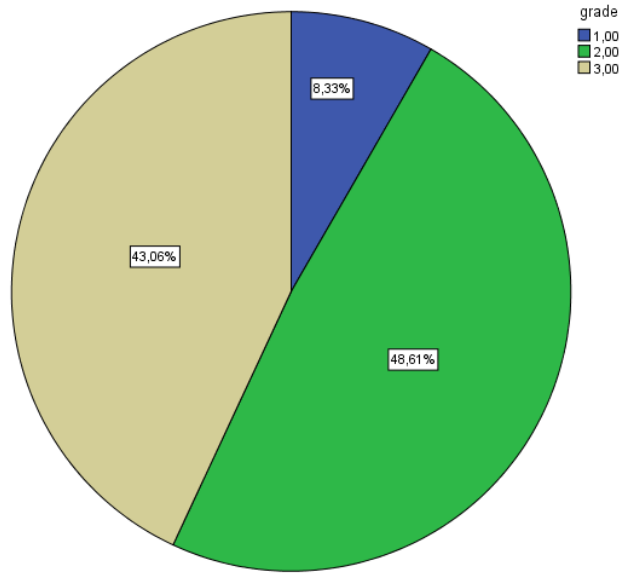
Şekil 9. Meme kanserli hastalardaki östrojen reseptör durumu



Şekil 10. Meme kanserli hastalardaki progesteron reseptör durumu



Meme kanserli hastaların 68'inde östrojen reseptörü pozitifken ,69'unda progesteron reseptörü pozitif olmakla birlikte bu hastaların 12'sinde cerb2 pozitif (şekil 9 ve 10).



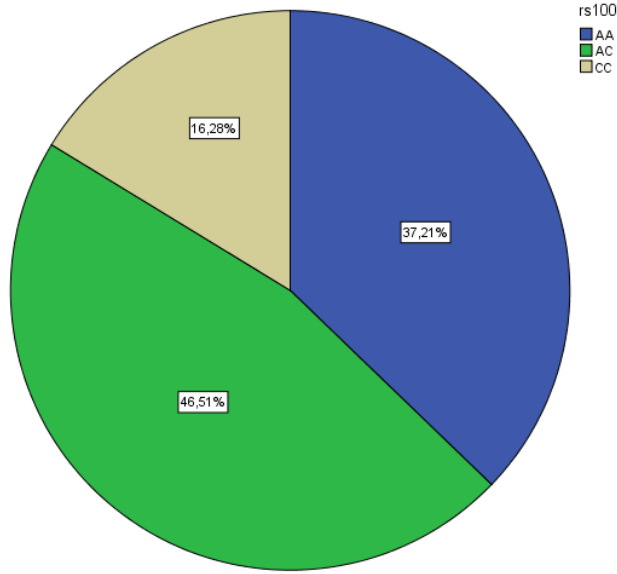
**Şekil 11.** Meme kanserli hastaların grade durumları

Çalışmaya katılan 86 meme kanser tanıli hastaların %8,3'ü grade 1, %48,6'sı grade2, %43'ü grade 3'tü. Hastaların evrelerine bakıldığında bu hastaların %16'sı evre 2, % 20'si evre 3, %64'ü evre 4 meme kanseriydi (şekil 11).

**Tablo 11.** Çalışmaya Katılanların HTERT Genindeki Rs2736100 Polimorfizminde Olan Genotip Oranlarının Karşılaştırılması

		Sayı	Yüzde
Rs2736100	AA	64	37,2
	AC	80	46,5
	CC	28	16,3
	Total	172	100,0

Çalışmaya katılanların rs2736100'deki genotip dizilimlerine bakıldığında %37,2'si AA , %46,5' i AC, %16,3'ü CC olarak saptandı (tablo 12 ve şekil 12).



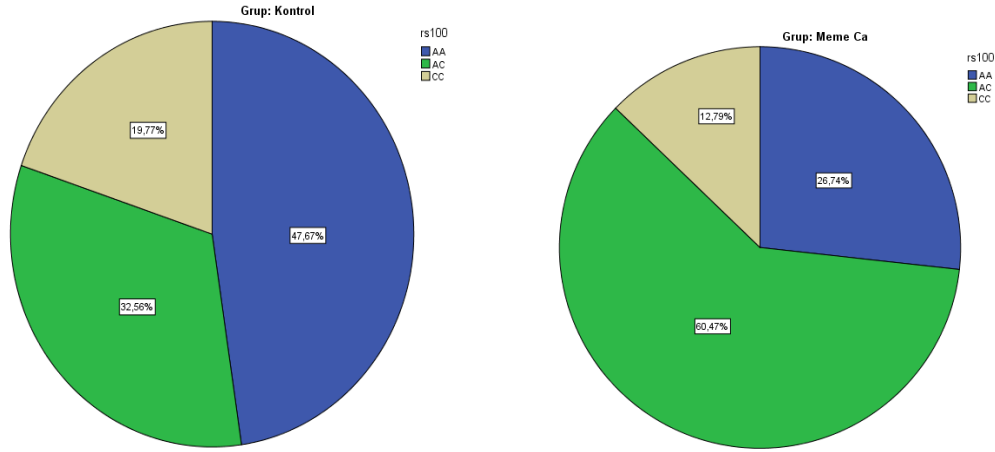
**Şekil 12.** Çalışmaya katılanların hTERT genindeki rs2736100 polimorfizminde olan genotip oranlarının karşılaştırılması.

**Tablo 12.** Vaka ve Kontrol Gruplarının HTERT Genindeki Rs2736100 Polimorfizminde Olan Genotip Farklılığının Karşılaştırılması

	Grup		Sayı	Yüzde	p*
	Kontrol	Meme Kanseri			
Rs2736100	AA		41	47,7	0,001
	AC		28	32,6	
	CC		17	19,8	
	Total		86	100,0	
	AA		23	26,7	
	AC		52	60,5	
	CC		11	12,8	
	Total		86	100,0	

\*Ki-kare testi

Meme kanseri grubunda rs2736100'deki genotip dizilimleri; AC %60,5, AA%26,7, CC %12,8, kontrol grubunda; AA %47,7, AC%32,6, CC %19,8 olarak bulundu. İki grup arasında genotip dizilimleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı (p=0,001). Rs2736100'deki genotip dizilimleri AC olanların meme kanseri gelişme olasılığı, rs2736100'deki genotip dizilimleri AC olmayanlara göre 2,87 kat daha fazladır (lineer regresyon analizi yapıldı),(tablo 13 ve şekil 13).



**Şekil 13.** Vaka ve kontrol gruplarının hTERT genindeki rs2736100 polimorfizminde olan genotip farklılığının karşılaştırılması

**Tablo 13.** Meme Kanseri Grubunda Rs2736100'deki Genotip Dizilimlerinin Prognostik Parametrelerle İlişkisi

	p*
Rs2736100*Kanserin tipi	0,318
Rs2736100*Kanserin evresi	0,443
Rs2736100*Lenf nodunun tutulumu	0,666
Rs2736100*Metastaz durumu	0,306
Rs2736100*Metastazın bölgesi	0,653
Rs2736100*Kanserin gradesi	0,323
Rs2736100*Lenfovasküler invazyon	0,186
Rs2736100*Perinöral invazyon	0,123
Rs2736100*Östrojen reseptör varlığı	0,443
Rs2736100*Progesteron reseptör varlığı	0,274
Rs2736100*Cerb2 varlığı	0,319

\*Ki-kare testi

Meme kanserli hastarın hTERT genindeki rs2736100 polimorfizmi ile kanser tipi, kanserin evresi, lenf nodu tutulumu, metastaz varlığı, metastaz bölgeleri, kanser grade, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, östrojen, progesteron reseptör durumu ve cerb2 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ( $p>0,05$ ), (tablo 14).

## 5. TARTIŞMA

Kadınlarda en sık görülen kanser meme kanseridir. İnsidansı yaş ile birlikte artmaktadır ve gelişiminde; çevresel, hormonal, sosyobiyojik, genetik ve fizyolojik faktörler suçlanmaktadır (6). Meme kanseri gelişiminde çeşitli nedenlerin yol açtığı bilinmesine rağmen, olguların %70-80'inde hiçbir risk faktörü saptanamamaktadır. Dünya sağlık örgütü (WHO) 2005 yılı istatikselsel verilere göre Türk kadınlarında kansere bağlı ölüm sıralamasında 100.000'de 13 ile meme kanseri ilk sırada yer almaktadır (7). Her yıl Türkiye'de 30.000 yeni meme kanseri olgusu saptanmakta ve 2030 yılına doğru %60 oranında artacağı öngörülmektedir.

Kromozomların uç kısımlarında bulunan, genomik stabiliteyi sağlayan yapıya telomer adı verilir. Telomerler tekrarlayan TTAGGG dizilerinden oluşur ve replikasyon esnasında gelişebilecek kromozomal anomalileri engeller. Hücrenin yaşlanmasıyla telomer kısalır ve hücre ölür. Embriyonik yaşamda aktif olarak fonksiyon gören, doğumdan sonra inaktive olan telomeraz enzimi replikasyon sonrası gelişen telomerik erozyonu engeller. Buna bağlı olarak hücreler sınırsız bölünme yeteneği kazanır. Karsinogenezde telomeraz reaktivasyonu önemli rol oynar (20).

Telomeraz enzimi telomerik DNA'ların uzunluğunun ve kromozomal bütünlüğün korunmasında ayrıca hücrelölümsüzlük için de gereklidir. Telomeraz enziminin katalitik alt birimini oluşturan hTERT geni 5. kromozomun kısa kolu üzerinde lokalizedir (5p15.33). HTERT genindeki polimorfizmlerin karsinogenez sürecine etkilerinin oldukları daha önceki yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar doğrultusunda fonksiyonel öneme sahip 5 polimorfizm belirlenmiştir. Bu 5 polimorfizmden biri olan hTERT rs2736098 (G>A) polimorfizmi genin 2. ekzonu içerisinde bulunan eşanlamlı bir değişime neden olmaktadır. Diğer bir polimorfizm olan hTERT rs2736100 (A>C) polimorfizmi 2. intron içerisinde bulunmaktadır. HTERT rs2736100 polimorfizmi

varsayımsal düzenleme bölgesi içerisinde (57, 58). Bizde çalışmamızda meme kanseri ve sağlık kontrol bireylerinde hTERT rs2736100 gen bölgesindeki polimorfizmi inceledik.

Son zamanların popüler konusu olan telomerler ökaryotik organizmalarda lineer kromozomların uçlarında bulunan özelleşmiş DNA tekrar dizilerinden oluşan heterokromatik bölgelerdir. Telomeraz aktivitesi, birçok insan somatik dokusunda görülmez. Genellikle yüksek replikatif kapasitesi olan dokularda ve birçok insan kanser türünde görülür (19).

Kanser vakalarında, hücrenin telomer uzunluğu ve telomeraz aktivitesi incelendiğinde bazı önemli bulgular elde edilmiştir. Örnek olarak; in vivo ortamda tümör oluşumu ve telomeraz aktivitesinin birbiri ile ilintili olduğuna dair ipuçları vardır. İyi huylu tümörlerde telomeraz aktivitesi yoktur ve telomerleri kısalдықça erken evrelere geri dönmektedirler. Daha saldırgan seyreden metastatik tümörlerde ise yüksek telomeraz aktivitesi gösterilmiştir. Telomeraz inhibitörü ilaçlar telomerlere karşı etkili ajanlar olarak önerilebilmektedir (59). Biz çalışmamızda meme kanser tanılı hastaların metastaz bölgeleriyle, kanserin evresi, grade ile hTERT gen polimorfizm arasında anlamlı bir ilişki saptamadık. Meme kanser ile sağlıklı bireylerle kıyaslandığında kanser grubunda anlamlı hTERT gen polimorfizmi saptadık.

Yapılan çalışmalarda telomer uzunluğu farklı kanser hücrelerinde normal dokular karşılaştırılmış ve normal dokulara oranla daha kısa olarak bulunmuştur. Bu bulguların artmış kanser riski ile ilişkili olabileceği bildirilmektedir (60, 61). Yaptığımız çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde literatürdeki bulgular ile korelasyon gösteren sonuçlar elde ettiğimiz görülmektedir.

Telomer-telomeraz hipotezine göre telomeraz enzimi, telomer uzunluğunun kritik olarak kılmasından sonra aktive olmaktadır. Bunun sonucunda da malign hücrelerde telomerler oluşan kısalmanın ardından meydana gelen telomeraz enziminin aktivasyonu ile stabilize olmaktadır. Telomer uzunluğu dinamikleri telomer uzunluğunun kılması (ör: hücre proliferasyonu) ile telomer uzatma mekanizmaları (ör: telomeraz) arasında dengelenmektedir (62). Son kanıtlar telomerazın katalitik subüniti olan hTERT'in ekspresyonu ile telomeraz aktivasyonunun kontrol edildiği yönündedir.

Kim ve ark. hTERT ekspresyonu ile oral karsinogenezis arasında belirgin ilişki kurmuşlardır (25). Çalışmalarda hTERT' in ekspresyonunun giderek artması, normal dokudan hafif displazi, orta displazi ve ciddi displazi ve invaziv karsinoma doğru ilerlediğini görmüşlerdir.

Kumaki ve ark. ile Fujimoto ve ark.'ının çalışmalarında da akciğer ve skuamöz hücreli kanserlerde hTERT ekspresyonunun artışı mevcuttur (63). Ancak Liu ve ark' ının yaptığı Telomer uzunluğu ile malignite arasındaki ilişki yakın tarihli çalışmada TERT polimorfizmi ile telomer kısalığı karşılaştırılması yapıldığında skuamöz hücreli kanserlerde ilişki saptanamamıştır (64). Yetersiz bilgi birikimi olan bu konuda daha geniş ölçekli çalışmalara ihtiyaç vardır.

Jendrzejewski ve arkadaşları insan tiroid kanserinde telomer kısalmasını bildirmişler ancak ailesel ve sporadik tiroid kanserleri arasında telomer kısalması açısından bir fark saptayamamışlardır (65). Wu ve ark. telomer disfonksiyonu ve kısalığını; baş boyun, mesane, akciğer ve renal hücreli kanser gibi değişik kanserlerle ilişkilendirmişlerdir (65). Bu çalışmada özellikle baş boyun kanserli hastalarda telomer kısalığı oranı daha yüksek bulunmuş ve bunun sigara ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Takubo ve ark. Çalışmasında, telomer uzunluğu özofagusun kanser içermeyen ve kanserli dokularında Q-FISH yöntemi ile değerlendirilmiş ve telomer uzunluğunun kansere doğru ilerleyen süreçte giderek kısaldığı bildirilmiştir (23).

Perona ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada rs2736100 telomeraz aktivitesini değiştiren mutasyonlara yatkın olduğunu ve bu polimorfizmin telomer fonksiyonunu etkileyerek all (Akut Lenfoblastik Lösemi) gelişiminde önemli bir role sahip olduğunu göstermişlerdir (66).

Simone mocellin ve arkadaşlarının yaptığı 32 çalışmanın metaanalizinde TERT geninin minör alleli ile rs2736100 kanser şüphesi arasında istatistik olarak belirgin bir birliktelik bulunduğunu göstermişlerdir. Dikkat çekici olarak bu allel testis kanserinde diğer tüm tümör tiplerindeki artmış hastalık riskinin aksine düşük bir hastalık riskiyle beraber olduğu saptanmıştır (67).

Gago-Dominguez ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada TERT geninin ikinci intronunda yer alan rs2736100 allelinin birçok kanser tipiyle ilişkili olduğu bilindiği gibi safra kesesi kanseri ile de yakın ilişkisi rs2736098 allelinide kapsayan Los Angeles ve Shanghai'de yapılan iki vaka ayrı vaka kontrol çalışmasında

gösterilmiştir. Rs2736098 allelinin Çin popülasyonunda safra kesesi kanseri ile ilişkisi belirgin olmakla beraber rs2736100 allelinin her iki popülasyondaki safra kesesi kanseri oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir (68).

Kathryn L. ve arkadaşlarının yaptığı 6 bağımsız TERT tek nokta polimorfizmlerinin olduğu 3 farklı çalışmada over kanser riskiyle gen polimorfizimlerinin şiddetinin yüksek oranda pozitif korolesyon gösterdiğini bulmuşlardır. Yaş ile beraber sigara içmeye bağlı olarak ve yüksek vücut kitle indeksine sahip kişilerdeki periferik kan lökositlerindeki kısalmış telomer uzunluğunun over kanser riskini arttırdığını veya over kanserine sebep olduğunu gösteren herhangi bir delil bulamamışlardır (69).

TERT CLPTM1L lokusunun safra kesesi kanseri, prostat, uterus, serviks, bazal hücreli karsinom ve melonomun dahil olduğu deri kanserleri ile birlikteliğiyle ilgili birçok delil bulunmaktadır. TERT genindeki az görülen mutasyonların akut miyeloid lösemi için ve aynı zamanda bir kanser predispozan sendromu olan diskerotozis konjenitanın oluşumunda rol oynadığına dair çalışmalar bulunmaktadır. TERT genindeki mutasyonların idiyopatik pulmoner fibrozisli hastalarda tanımlanmış olması sık görülen bir durumdur. Bu bilgiler ışığında TERT CLPTM1L 5p15,33 bölgesinin birçok kanser türünün gelişmesinde önemli bir rol oynadığı kuvvetle muhtemeldir ama bu bölgenin karşılaştırmalı sekans analizlerinin yapılması gerekmektedir. TERT genindeki tek nokta mutasyonlarının çalışma mekanizmaları hakkında bilgi sahibi olmak hangi genetik varyantların fonksiyonel olduğu hakkında bilgi verecek ve elimizdeki diğer hastalıkların bilgileriyle karşılaştırma imkânı verecektir (70).

Kinnersley ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada TERT geninde ikinci intronunda yer alan rs2736100'ün kolorektal kanser gelişimindeki rolü diğer risk faktörleriyle beraber değerlendirildiğinde istatistiksel olarak önemlidir. Avrupa'daki kolorektal kanserlerin %7'sinde riskli allel olan rs2736100 tespit edilmiştir. Rs2736100'ün TERT geninin başka bir tek nokta polimorfizmi olan rs2853668'e göre kolorektal kanser oluşum riski açısından üstünlüğünü göstermişlerdir (71).

Christofer A. Haïman ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Afrika kökenli ve Avrupa kökenli bayanları kapsayan araştırmalarında östrojen reseptör negatif meme kanserli hastaların kromozon 5p15 yer alan TERT CLPTM1L lokusunun kanser



gelişiminde rolünü ortaya koymuşlardır. Ayrıca bu gen lokusunun 50 yaşın altındaki genç kadınlarda görülen triple negatif (östrojen reseptör, progesteron reseptör negatif,epidermal büyüme faktörü 2 negatif) meme kanser oluşumunda rol aldığını göstermişlerdir (72). Biz çalışmamızda östrojen reseptör, progesteron reseptör ve cerb2 pozitifliği veya negatifliğinde rs2736100 gen polimorfizm arasında arasında anlamlı bulgu saptamadık.

Kim ve arkadaşları (1994) hücre ve dokulardaki telomeraz aktivitesinin tayininde kullanılmak üzere TRAP (Telomeric Repeat Amplification Protocol Telomerik Tekrarların Çoğaltılması) yöntemi geliştirmiş ve 24 farklı kanser türünde çalışarak, kanser ile telomeraz ekspresyonu arasında bir korelasyon olduğunu rapor etmişlerdir. Bugüne kadar incelenen farklı tip tümörlerin % 85'inden fazlasında telomeraz aktivitesinin tespit edilmesi, ölümsüz hücrelerde telomerazın tekrar aktive olduğunu göstermektedir (73).

TRAP metodunun geliştirilmesi ile dokulardaki telomeraz aktivitesinin belirlenmesi, çok sayıda kanser türünde telomeraz ekspresyonunun araştırılmasını sağlamıştır. Günümüzde çok sayıda tümörde telomeraz ekspresyon çalışmaları yapılmaktadır. Bu sonuçlar telomerazın en yaygın olarak bilinen kanser belirleyicisi olduğunu göstermektedir. Shay ve Wright'in 1996 yılında yaptıkları bir çalışmaya göre habis tümörlerin % 85'inin telomeraz aktivitesi gösterdiği bulunmuştur. Habis dokularda tespit edilen bu bulgu, telomerazın tanısal kanser için oldukça önemli bir gösterge olduğunu düşündürmektedir (74).

Tüm eşeyssel dokularda telomeraz aktivitesi bulunmaktadır. Bununla beraber periferik kan lökositlerinde ve bazı vücut hücre popülasyonlarında zayıf telomeraz aktivitesi bulunmaktadır. Bazı normal dokularda da (% 6) tümörlerde olduğu gibi telomeraz pozitif olarak belirlenmiştir. TRAP metodunun telomeraz aktivitesini tespit etmek için yeterince hassas olması tümörlü muhtemel dokuları belirlemeyi de sağlamaktadır. Son dönemlerde gerçekleştirilen bir çalışmada 266 premalign dokunun 38'inin (% 14) telomeraz aktivitesine sahip olduğu bulunmuştur (74). Lökositlerinde ve bazı vücut hücre popülasyonlarında zayıf telomeraz aktivitesi bulunmaktadır. Kanser teşhisi için standart histopatolojik tekniklerle biyopsi yapılarak tanı konmaktadır. Bu geleneksel yöntemlerin yanı sıra telomeraz aktivitesinin ölçümü oldukça özgün bir gösterge olarak kullanılabilir. Telomerazın en

önemli klinik yararı idrar, kan, tükürük gibi vücut sıvılarından tespit edilebilmesidir. Örneğin; kan kanseri için yapılan çeşitli tanımlar çok kesin sonuçlar verememektedir. Bu nedenle daha duyarlı belirteçler kan kanserini tespit etmek için önemli bulgular sunmaktadır. Kan kanseri olan bir hastanın idrarından ya da kan hücrelerinden telomeraz aktivitesi belirlenebilir (75).

Beyin tümörlerinin telomerazla ilişkisini araştıran Nakatani ve arkadaşları, normal beyin dokusunda telomeraz aktivitesi saptayamazken habis tümörlerde % 81, metastatik tümörlerde % 100 aktivite tespit etmişlerdir. Telomeraz (+) olan hastaların prognozunun, telomeraz (-) olanlara göre daha kötü, yaşam sürelerinin ise daha kısa olduğunu belirleyen araştırmacılar, telomeraz aktivitesinin beyin tümörlerinin teşhisinde ve prognoz tayininde kullanılabileceğini ileri sürmektedirler (76).

Bednarek ve arkadaşları meme kanserlerinin %95 (99/104)'ini, fibroadenomların ise % 20'sinde telomeraz aktivitesi bulmuşlardır. Enzim aktivitesi ile tümörün boyutu, evresi, lenf nodu metastazı, östrojen-progesteron reseptör miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptayamadıklarından, prognoz tayininde güvenilir olmadığını düşünmektedirler (61). Biz çalışmamızda da meme kanserli hastaların hTERT genindeki rs2736100 polimorfizmi ile kanser tipi, kanserin evresi, lenf nodu tutulumu, metastaz varlığı, metastaz bölgeleri, kanser grade, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, östrojen, progesteron reseptör durumu ve cerb2 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulamadık ( $p>0,05$ ).

Yoshida ve arkadaşları, mesane doku örneklerinin % 86'sında telomeraz aktivitesini (+) bulurken, tümör evresiyle telomeraz aktivitesi arasında korelasyon saptayamamıştır (77). Tümörlü ve komşu normal dokuları RT-PCR (ters transkriptaz-polimeraz zincir reaksiyonu) ile inceleyen Ito ve arkadaşları telomeraz aktivitesiyle hTERT mRNA ekspresyonu arasında belirgin bir ilinti bulunduğunu ve hTERT ekspresyonunun telomeraz aktivitesinin hız sınırlayıcısı olduğunu ileri sürmüşlerdir (78).

Kyo ve arkadaşları endometriumdaki telomeraz aktivitesi ile hücrelerin çoğalma kapasitesinin ilişkili olduğunu ve hTERT ekspresyonunun menstrüal döngü fazlarında karakteristik olarak değiştiğini saptamışlardır (79). Bu nedenle telomeraz aktivitesinin, post menopozal kadınlardaki endometrial kanserin erken dönemde teşhisinde belirleyici olması mümkündür. Ayrıca 2008 yılında Akbay ve

arkadaşlarının gerçekleştirdikleri bir çalışmada da meme kanseri ve telomer kısalması arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (59).

Farklı kanser tiplerinde yapılan çalışmalar, telomeraz aktivitesinin tanısal bir belirteç olarak kullanılabilceğini göstermektedir. Küçük miktardaki örneklerin ve vücut sıvılarının (idrar örnekleri, plevra/ bronko alveoler lavaj sıvıları, asit sıvısı, pelvik/ periton yıkama sıvıları) bu yöntemle incelenebilmesi, telomerazın belirteç olarak kullanım değerini arttırmaktadır.

Jin et al ve arkadaşlarının 2009 yılında yaptığı bir araştırmada sigara içmeyen akciğer adenokanserli bayanlarda rs2736100 gen polimorfizmi ile ciddi ilişki saptanmıştır (80). Cheng Li ve arkadaşları rs2736100 geni ve bu genin heterozigot genetik modelleri ve homozigot varyantlarında artmış kanser riski bulunmuştur (81). Sanson ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada rs2736100 (TERT) ve rs4977756 artmış glioma riskiyle ilişkili olduğunu göstermiştir (29). Biz 86 meme kanseri 86 sağlıklı bireyle yaptığımız çalışmamız da rs2736100 gen polimorfizmini araştırdık. Çalışma sonucunda meme kanser grubunu sağlıklı kontrol bireyleriyle kıyasladığımızda istatistiksel olarak anlamlı artmış AC genotip dizilimine rastladık.

Telomeraz inhibisyonu ile özellikle kısa telomerli tümör hücrelerinde yaşam süresinin kısalması, ölümsüzleşmede ve kanser gelişiminde telomeraz reaktivasyonunun rol aldığını desteklemektedir. Ancak bazı insan tümörleri ve ölümsüz hücre serilerinin, telomeraz aktivitesi göstermemelerine rağmen uzun telomerlere sahip olmaları, telomer uzamasını sağlayan alternatif mekanizmaların bulunduğunu düşündürmektedir. İnsan telomerazının alt birimlerinin klonlanması, telomeraz aktivitesini düzenleyen genlerin keşfedilmesi ve telomerazın dışında ölümsüzleşmeye yol açan diğer mekanizmaların aydınlatılmasıyla, gerontolojide ve kanser tedavisinde sürpriz gelişmelerin olması beklenmektedir (59, 82, 83).

Çalışmamız Hatay ili içinde meme kanser tanılı hastalarda yapılan ilk çalışmadır. HTERT genindeki fonksiyonel öneme sahip rs2736100 polimorfizminin meme kanserindeki rolü ve sıklığı bu bölgede de ilk defa belirlendi. Amacımız bu polimorfizmin genetik biyo belirteç olarak saptanması ve bu polimorfizmin klinik pratikte meme kanserinin moleküler düzeyde tanımlanmasında kullanılabilmesidir. Ayrıca bu polimorfizmin biyo belirteç olarak saptanması durumunda meme kanserinin erken tanı ve kişiselleştirilmiş tedavisinde de yararlanılabilecektir.

Çalışmamızda meme kanser tanılı grup ile sağlıklı grup arasında anlamlı rs2736100 polimorfizmi saptadık. Çalışmamız tek merkezden sınırlı sayıda hasta, tek bir bölge analizi yapılmasından ve telomeraz aktivitesi içermemesi nedeniyle fonksiyonallitesi yeterli değildir. Meme kanserinin erken tanı ve kişiselleştirilmiş tedavisinde kullanabilmek için ileri moleküler ve yeterli sayıda hastayı kapsayacak çalışmalara gerek olduğunu düşünüyoruz.

Tüm bu bilgiler ışığında, kromozomların ‘mutlu sonlarını’ oluşturan bu yapıların insanlık için de mutlu bir geleceğe imza atabilecek potansiyele sahip olduklarını söylemek yerinde olacaktır.

## 6. SONUÇLAR

1- HTERT genindeki fonksiyonel öneme sahip rs2736100 geninde bakılan polimorfiziminde istatistiksel olarak anlamlı veriler elde edildi. Moleküler düzeyde bireylerdeki bu değişiklikler saptanırsa erken dönem karsinomlarda daha yüz güldürücü sonuçlar elde edilebilecektir.

2- Çalışma sonucunda meme kanser grubunu sağlıklı kontrol bireyleriyle kıyasladığımızda rs2736100 geninde artmış AC genotip dizilimine rastladık. Bu genetik polimorfizm elde edilen veriler ışığında kanserinin erken tanı ve kişiselleştirilmiş tedavisinde kullanılabilir.

3- Meme kanserli hastarın hTERT genindeki rs2736100 polimorfizmi ile kanser tipi, kanserin evresi, lenf nodu tutulumu, metastaz varlığı, metastaz bölgeleri, kanser grade, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, östrojen, progesteron reseptör durumu ve cerb2 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı ( $p>0,05$ ). Meme kanserli hastalarda prognoz belirteci olarak kullanılamaz.

4- Rs2736100'deki genotip dizilimleri AC olanların meme kanseri gelişme olasılığı, rs2736100'deki genotip dizilimleri AC olmayanlara göre 2,87 kat daha fazladır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Xiaojing Sheng<sup>1, †</sup>, Na Tong<sup>3, †</sup>, Guoquan Tao<sup>4, †</sup>, Dewei Luo<sup>3</sup>, Meilin Wang<sup>3</sup>, Yongjun Fang<sup>5</sup>, Jie Li<sup>6</sup>, Ming Xu<sup>3</sup>, Zhengdong Zhang<sup>1, 3, \*</sup> and Dongmei Wu<sup>1, 3</sup> TERT polymorphisms modify the risk of acute lymphoblastic leukemia in Chinese children *Carcinogenesis* vol.34 no.1 pp.228–235, 2013.
2. Cancer IAfRo. GLOBOCAN 2012: estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012. World Health Organization [http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_cancer.aspx](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx) Accessed on. 2014;9.
3. Philipp Hofer AB, 2 Kathrin Bernhart,1 Gernot Leeb,3 Karl Mach,3 Michael Micksche,1and Andrea Gsur1\* Association of Genetic Variants of Human Telomerase, (2012) WCPaCCRMCEE.
4. Philipp Hofer AB, 2 Kathrin Bernhart,1 Gernot Leeb,3 Karl Mach,3 Michael Micksche,1and Andrea Gsur1\* Association of Genetic Variants of Human Telomerase With Colorectal Polyps and Colorectal Cancer Risk *MOLECULAR CARCINOGENESIS* 51:E176–E182 (2012).
5. Toshihiko Iizuka<sup>1</sup>, Motoji Sawabe<sup>3, 4</sup>, Kaiyo Takubo<sup>1</sup>, Miao Liu<sup>5, 6</sup>, Yukio Homma<sup>5</sup>, Motofumi Suzuki<sup>5</sup> and Tomio Arai<sup>7</sup> hTERT promoter polymorphism, -1327C>T, is associated with the risk of epithelial cancer Iizuka et al. SpringerPlus 2013, 2:249.
6. Andreoli C, Griggs, Benjamin. Cecil Essential of Medicine2012. 1501 p.
7. Athma P, Rappaport R, Swift M. Molecular genotyping shows that ataxia-telangiectasia heterozygotes are predisposed to breast cancer. *Cancer genetics and cytogenetics*. 1996;92(2):130-4.
8. Jemal A, Murray T, Ward E, Samuels A, Tiwari RC, Ghafoor A, et al. Cancer statistics, 2005. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2005;55(1):10-30.
9. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *International journal of cancer*. 2001;94(2):153-6.

10. Key TJ, Verkasalo PK, Banks E. Epidemiology of breast cancer. *The lancet oncology*. 2001;2(3):133-40.
11. Jakubowska A, Rozkrut D, Antoniou A, Hamann U, Lubinski J. The Leu33Pro polymorphism in the ITGB3 gene does not modify BRCA1/2-associated breast or ovarian cancer risks: results from a multicenter study among 15,542 BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Breast cancer research and treatment*. 2010;121(3):639-49.
12. Gakwaya A, Kigula-Mugambe J, Kavuma A, Luwaga A, Fualal J, Jombwe J, et al. Cancer of the breast: 5-year survival in a tertiary hospital in Uganda. *British journal of cancer*. 2008;99(1):63-7.
13. Hortobagyi GN, de la Garza Salazar J, Pritchard K, Amadori D, Haidinger R, Hudis CA, et al. The global breast cancer burden: variations in epidemiology and survival. *Clinical breast cancer*. 2005;6(5):391-401.
14. Wellinger R, Sen D. The DNA structures at the ends of eukaryotic chromosomes. *European Journal of Cancer*. 1997;33(5):735-49.
15. Ries L, Melbert D, Krapcho M, Stinchcomb D, Howlader N, Horner M, et al. SEER cancer statistics review, 1975-2005. Bethesda, MD: National Cancer Institute. 2008:1975-2005.
16. Rahman ZU, Frye DK, Smith TL, Asmar L, Theriault RL, Buzdar AU, et al. Results and long term follow-up for 1581 patients with metastatic breast carcinoma treated with standard dose doxorubicin-containing chemotherapy. *Cancer*. 1999;85(1):104-11.
17. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2007. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2007;57(1):43-66.
18. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, et al. Cancer statistics, 2008. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2008;58(2):71-96.
19. Bilsland AE, Fletcher-Monaghan A, Keith WN. Properties of a telomerase-specific Cre/Lox switch for transcriptionally targeted cancer gene therapy. *Neoplasia*. 2005;7(11):1020-9.
20. Cairney C, Keith W. Telomerase redefined: integrated regulation of hTR and hTERT for telomere maintenance and telomerase activity. *Biochimie*. 2008;90(1):13-23.

21. Bertucci F, Finetti P, Birnbaum D. Basal breast cancer: a complex and deadly molecular subtype. *Current molecular medicine*. 2012;12(1):96.
22. Orlando L, Colleoni M, Fedele P, Cusmai A, Rizzo P, D'Amico M, et al. Management of advanced breast cancer. *Annals of oncology*. 2007;18(suppl 6):vi74-vi6.
23. Takubo K, Fujita M, Izumiyama N, Nakamura Ki, Ishikawa N, Poon SS, et al. Q-FISH analysis of telomere and chromosome instability in the oesophagus with and without squamous cell carcinoma in situ. *The Journal of pathology*. 2010;221(2):201-9.
24. Howe HL, Wu X, Ries LA, Cokkinides V, Ahmed F, Jemal A, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975–2003, featuring cancer among US Hispanic/Latino populations. *Cancer*. 2006;107(8):1711-42.
25. Kim H-R, Christensen R, Park N-H, Sapp P, Kang MK, Park N-H. Elevated expression of hTERT is associated with dysplastic cell transformation during human oral carcinogenesis in situ. *Clinical cancer research*. 2001;7(10):3079-86.
26. Patil PN. Correlative Study Of INternal Pressure with renal and Pulmonary Parameters in Abdominal Compartment Syndrome. 2010.
27. Erlandsson G, Montgomery SM, Cnattingius S, Ekblom A. Abortions and breast cancer: Record-based case-control study. *International journal of cancer*. 2003;103(5):676-9.
28. Ahlgren M, Sørensen T, Wohlfahrt J, Haflidadóttir Á, Holst C, Melbye M. Birth weight and risk of breast cancer in a cohort of 106,504 women. *International journal of cancer*. 2003;107(6):997-1000.
29. Sanson M, Hosking FJ, Shete S, Zelenika D, Dobbins SE, Ma Y, et al. Chromosome 7p11. 2 (EGFR) variation influences glioma risk. *Human molecular genetics*. 2011;20(12):2192-2000.
30. Korholz D, Claviez A, Hasenclever D, Kluge R, Hirsch W, Kamprad F, et al. The concept of the GPOH-HD 2003 therapy study for pediatric Hodgkin's disease: evolution in the tradition of the DAL/GPOH studies. *Klinische Padiatrie*. 2004;216(3):150-6.
31. Strumylaitė L, Mechnošina K, Tamašauskas Š. Environmental factors and breast cancer. *Medicina (Kaunas)*. 2010;46(12):867-73.



32. Kaal EC, Vecht CJ. CNS Complications of Breast Cancer. *CNS drugs*. 2007;21(7):559-79.
33. Rakha EA, Martin S, Lee AH, Morgan D, Pharoah PD, Hodi Z, et al. The prognostic significance of lymphovascular invasion in invasive breast carcinoma. *Cancer*. 2012;118(15):3670-80.
34. Brown JM, Wouters BG. Apoptosis, p53, and tumor cell sensitivity to anticancer agents. *Cancer research*. 1999;59(7):1391-9.
35. Couch FJ, DeShano ML, Blackwood MA, Calzone K, Stopfer J, Campeau L, et al. BRCA1 mutations in women attending clinics that evaluate the risk of breast cancer. *New England Journal of Medicine*. 1997;336(20):1409-15.
36. Berry DA, Iversen ES, Gudbjartsson DF, Hiller EH, Garber JE, Peshkin BN, et al. BRCAPRO validation, sensitivity of genetic testing of BRCA1/BRCA2, and prevalence of other breast cancer susceptibility genes. *Journal of Clinical Oncology*. 2002;20(11):2701-12.
37. Walsh T, Lee MK, Casadei S, Thornton AM, Stray SM, Pennil C, et al. Detection of inherited mutations for breast and ovarian cancer using genomic capture and massively parallel sequencing. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010;107(28):12629-33.
38. Edwards BK, Ward E, Kohler BA, Ehemann C, Zauber AG, Anderson RN, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2006, featuring colorectal cancer trends and impact of interventions (risk factors, screening, and treatment) to reduce future rates. *Cancer*. 2010;116(3):544-73.
39. Cancer CGoHFIB. Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58,209 women with breast cancer and 101,986 women without the disease. *Lancet*. 2001;358(9291):1389.
40. Moyzis RK, Buckingham JM, Cram LS, Dani M, Deaven LL, Jones MD, et al. A highly conserved repetitive DNA sequence,(TTAGGG)<sub>n</sub>, present at the telomeres of human chromosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1988;85(18):6622-6.
41. di Fagagna FdA, Reaper PM, Clay-Farrace L, Fiegler H, Carr P, von Zglinicki T, et al. A DNA damage checkpoint response in telomere-initiated senescence. *Nature*. 2003;426(6963):194-8.
42. Amit M, Carpenter MK, Inokuma MS, Chiu C-P, Harris CP, Waknitz MA, et al. Clonally derived human embryonic stem cell lines maintain pluripotency and

proliferative potential for prolonged periods of culture. *Developmental biology*. 2000;227(2):271-8.

43. Williamson JR, Raghuraman M, Cech TR. Monovalent cation-induced structure of telomeric DNA: the G-quartet model. *Cell*. 1989;59(5):871-80.
44. Sfeir A, Kosiyatrakul ST, Hockemeyer D, MacRae SL, Karlseder J, Schildkraut CL, et al. Mammalian telomeres resemble fragile sites and require TRF1 for efficient replication. *Cell*. 2009;138(1):90-103.
45. Hande MP, Samper E, Lansdorp P, Blasco MA. Telomere length dynamics and chromosomal instability in cells derived from telomerase null mice. *The Journal of cell biology*. 1999;144(4):589-601.
46. Levy MZ, Allsopp RC, Futcher AB, Greider CW, Harley CB. Telomere end-replication problem and cell aging. *Journal of molecular biology*. 1992;225(4):951-60.
47. Allsopp RC, Vaziri H, Patterson C, Goldstein S, Younglai EV, Futcher AB, et al. Telomere length predicts replicative capacity of human fibroblasts. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1992;89(21):10114-8.
48. Harley CB, Futcher AB, Greider CW. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. 1990.
49. Walne AJ, Vulliamy T, Kirwan M, Plagnol V, Dokal I. Constitutional Mutations in *RTEL1* Cause Severe Dyskeratosis Congenita. *The American Journal of Human Genetics*. 2013;92(3):448-53.
50. [18] C.M. Counter, J. Gupta, C.B. Harley, B. Leber, S. Bacchetti, Telomerase activity in normal leukocytes and in hematologic malignancies, *Blood* 85 (1995) 2315–2320.
51. Engelhardt M, Mackenzie K, Drullinsky P, Silver RT, Moore MA. Telomerase activity and telomere length in acute and chronic leukemia, pre- and post-ex vivo culture. *Cancer research*. 2000;60(3):610-7.
52. Albanell J, Engelhardt M, Han W, Moore MA, Lonardo F, Rusch V, et al. High telomerase activity in primary lung cancers: association with increased cell proliferation rates and advanced pathologic stage. *Journal of the National Cancer Institute*. 1997;89(21):1609-15.

53. Calado RT, Young NS. Telomere maintenance and human bone marrow failure. *Blood*. 2008;111(9):4446-55.
54. Artandi SE, DePinho RA. Telomeres and telomerase in cancer. *Carcinogenesis*. 2010;31(1):9-18.
55. Qian Y, Yang L, Cao S. Telomeres and telomerase in T cells of tumor immunity. *Cellular immunology*. 2014;289(1):63-9.
56. Effros RB, Pawelec G. Replicative senescence of T cells: does the Hayflick Limit lead to immune exhaustion? *Immunology today*. 1997;18(9):450-4.
57. Vaziri H, Benchimol S. Reconstitution of telomerase activity in normal human cells leads to elongation of telomeres and extended replicative life span. *Current Biology*. 1998;8(5):279-82.
58. Sotiriou C, Pusztai L. Gene-expression signatures in breast cancer. *New England Journal of Medicine*. 2009;360(8):790-800.
59. YILDIZ MG, ARAS S, DUMAN DC. TELOMERLERİN YAŞLANMA VE KANSER İLİŞKİSİNDEKİ ROLÜ. *TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ*.187.
60. Wentzensen IM, Mirabello L, Pfeiffer RM, Savage SA. The association of telomere length and cancer: a meta-analysis. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. 2011;20(6):1238-50.
61. Bednarek AK, Sahin A, Brenner AJ, Johnston DA, Aldaz CM. Analysis of telomerase activity levels in breast cancer: positive detection at the in situ breast carcinoma stage. *Clinical cancer research*. 1997;3(1):11-6.
62. Colgin LM, Reddel RR. Telomere maintenance mechanisms and cellular immortalization. *Current opinion in genetics & development*. 1999;9(1):97-103.
63. Fujimoto R, Kamata N, Yokoyama K, Ueda N, Satomura K, Hayashi E, et al. Expression of telomerase components in oral keratinocytes and squamous cell carcinomas. *Oral oncology*. 2001;37(2):132-40.
64. Liu Z, Ma H, Wei S, Li G, Sturgis EM, Wei Q. Telomere length and TERT functional polymorphisms are not associated with risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. 2011;20(12):2642-5.

65. Jendrzejewski J, Tomsic J, Lozanski G, Labanowska J, He H, Liyanarachchi S, et al. Telomere length and telomerase reverse transcriptase gene copy number in patients with papillary thyroid carcinoma. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2011;96(11):E1876-E80.
66. Zhu H, Belcher M, van der HARST P. Healthy aging and disease: role for telomere biology? *Clinical Science*. 2011;120:427-40.
67. Mocellin S, Verdi D, Pooley KA, Landi MT, Egan KM, Baird DM, et al. Telomerase reverse transcriptase locus polymorphisms and cancer risk: a field synopsis and meta-analysis. *Journal of the National Cancer Institute*. 2012;104(11):840-54.
68. Gago-Dominguez M, Jiang X, Conti DV, Castelao JE, Stern MC, Cortessis VK, et al. Genetic variations on chromosomes 5p15 and 15q25 and bladder cancer risk: findings from the Los Angeles-Shanghai bladder case-control study. *Carcinogenesis*. 2010:bgq233.
69. Terry KL, Tworoger SS, Vitonis AF, Wong J, Titus-Ernstoff L, De Vivo I, et al. Telomere length and genetic variation in telomere maintenance genes in relation to ovarian cancer risk. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. 2012;21(3):504-12.
70. Hsiung CA, Lan Q, Hong Y-C, Chen C-J, Hosgood III HD, Chang I-S, et al. The 5p15. 33 locus is associated with risk of lung adenocarcinoma in never-smoking females in Asia. *PLoS genetics*. 2010;6(8):e1001051.
71. Kinnersley B, Migliorini G, Broderick P, Whiffin N, Dobbins S, Casey G, et al. The TERT variant rs2736100 is associated with colorectal cancer risk. *British journal of cancer*. 2012;107(6):1001-8.
72. Haiman CA, Chen GK, Vachon CM, Canzian F, Dunning A, Millikan RC, et al. A common variant at the TERT-CLPTM1L locus is associated with estrogen receptor-negative breast cancer. *Nature genetics*. 2011;43(12):1210-4.
73. Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, Harley CB, West MD, Ho PdL, et al. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science*. 1994;266(5193):2011-5.
74. Shay J, Bacchetti S. A survey of telomerase activity in human cancer. *European Journal of Cancer*. 1997;33(5):787-91.
75. Lledo S, Garcia-Granero E, Dasi F, Ripoli R, Garcia S, Cervantes A, et al. Real time quantification in plasma of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) mRNA in patients with colorectal cancer. *Colorectal Disease*. 2004;6(4):236-42.

76. Nakatani K, Yoshimi N, Mori H, Yoshimura Si, Sakai H, Shinoda J, et al. The significant role of telomerase activity in human brain tumors. *Cancer*. 1997;80(3):471-6.
77. Yoshida K, Sugino T, Tahara H, Woodman A, Bolodeoku J, Nargund V, et al. Telomerase activity in bladder carcinoma and its implication for noninvasive diagnosis by detection of exfoliated cancer cells in urine. *Cancer*. 1997;79(2):362-9.
78. Ito H, Kyo S, Kanaya T, Takakura M, Koshida K, Namiki M, et al. Detection of human telomerase reverse transcriptase messenger RNA in voided urine samples as a useful diagnostic tool for bladder cancer. *Clinical cancer research*. 1998;4(11):2807-10.
79. Kyo S, Takakura M, Kohama T, Inoue M. Telomerase activity in human endometrium. *Cancer research*. 1997;57(4):610-4.
80. Jin G, Xu L, Shu Y, Tian T, Liang J, Xu Y, et al. Common genetic variants on 5p15.33 contribute to risk of lung adenocarcinoma in a Chinese population. *Carcinogenesis*. 2009;30(6):987-90.
81. Li C, Yin Z, Wu W, Li X, Ren Y, Zhou B. Genetic variations in TERT-CLPTM1L genes and risk of lung cancer in Chinese women nonsmokers. *PloS one*. 2013;8(5):e64988.
82. Blasco MA. The epigenetic regulation of mammalian telomeres. *Nature Reviews Genetics*. 2007;8(4):299-309.
83. DİKMEN G, DOĞAN P. Telomeraz Ve Kanser. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*. 2003;23(4):334-41.

## 8. ÖZGEÇMİŞ

31.01.1984 tarihinde Hatay ilinde doğdum. İlkokulu Samandağ Atatürk İlköğretim İlkokulu'nda, ortaokulu Samandağ Atatürk Ortaokulu ve liseyi Samandağ Yüksel Acun Anadolu lisesinde Hatay ilinin Samandağ ilçesinde okudum. 2002 yılında Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesine girdim. 2008 yılında mezun oldum. Siirt'in Şrvan ilçesi merkez sağlık ocağında pratisyen doktor olarak göreve başladım. 2010 Nisan TUS sınavını kazanarak 1.08.2010'da Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimime başladım. 14.12.2012 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimime devam etmek amacıyla geçiş yaptım. Halen aynı anabilim dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.2014 yılında evlendim.