

**MEME KANSERİNDE FGFR2 VE B7-H4 GENİ  
POLİMORFİZMLERİNİN VE ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Asuman ÖZGÖZ**

**TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Hale ŞAMLI**

**Tez No: 2010-016**

**2010-Afyonkarahisar**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MEME KANSERİNDE FGFR2 VE B7-H4 GENİ  
POLİMORFİZMLERİNİN VE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Asuman ÖZGÖZ**

**TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**

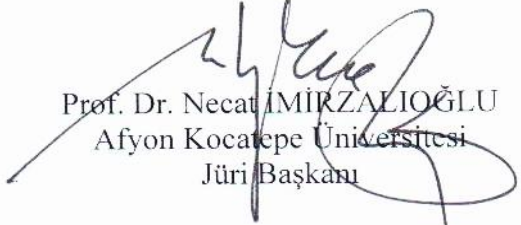
**Doç. Dr. Hale ŞAMLI**


**Bu tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon  
Birimi tarafından BAP 08.TIP.21  
proje numarası ile desteklenmiştir**

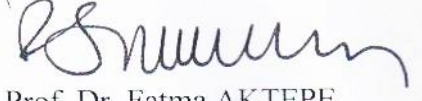
**Tez No: 2010-016**


**2010- AFYONKARAHİSAR**

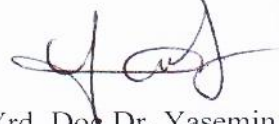
Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Tıbbi Genetik Anabilim Dalı  
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından  
**Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.  
Tez Savunması Tarihi: 28/ 12/2010

  
Prof. Dr. Necatî MİRZALIOĞLU  
Afyon Kocatepe Üniversitesi  
Jüri Başkanı

  
Prof. Dr. Yusuf TUNCA  
Gülhane Askeri Tıp Akademisi  
Üye

  
Prof. Dr. Fatma AKTEPE  
Afyon Kocatepe Üniversitesi  
Üye

  
Doç. Dr. Hale ŞAMLI  
Uludağ Üniversitesi  
Danışman

  
Yrd. Doç. Dr. Yasemin Soysal  
Afyon Kocatepe Üniversitesi  
Üye

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Doktora programı öğrencisi Asuman ÖZGÖZ' ün "**Meme Kanseri**nde FGFR2 ve B7-H4 Geni Polimorfizmlerinin ve Etkilerinin Araştırılması" başlıklı tezi 28.12.2010. günü saat 10.00 de Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

  
Doç. Dr. Esmâ KOZAN  
Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

Engin gönlü ve güler yüzünü esirgemedi, doktora eğitimimde ve tezimin gerçekleşmesinde çok değerli bilgileriyle yaptığı katkılardan ve desteklerinden dolayı Anabilim Dalı Başkanım, Sayın Hocam **Prof. Dr. Necat İMİRZALIOĞLU**'na; bilimsellik adına öğrendiğim her şeyi borçlu olduğum, ellerinde yoğrulup şekillendiğim, değerli tecrübesi, bilgisi, sevgisi ve candan desteğiyle her zaman yanımda olan, yolumu aydınlatan Sayın Hocam ve Danışmanım **Doç. Dr. Hale ŞAMLI**'ya en içten minnettarlık ve teşekkürlerimi sunmayı borç bilirim.

Tezimin istatistik çalışmalarını yapan, tezimde çalışılan hastaların sağlanmasında çok değerli destekleri ve katkıları olan Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Hocam **Doç. Dr. Murat ŞAMLI**'ya; tez çalışmamda kullanılan hastaların sağlanması ve değerlendirilmesindeki katkılarından dolayı Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın **Doç. Dr. Bülent ORHAN**'a; tezim boyunca sağladığı katkılardan dolayı Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın **Prof. Dr. Fatma AKTEPE**'ye çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca her zaman desteklerini gördüğüm canım dostlarım **Arş. Grv. Kuyaş HEKİMLER**, **Arş. Grv. Fadime MUTLU İÇDUYGU**'ya ve değerli ağabeyim **Yrd. Doç. Dr. M. Galip İÇDUYGU**'ya çok teşekkür ederim.

Beni bugünlere getiren, sevgiyle, sabırla her zaman, maddi manevi desteklerini esirgemedi yanımda olan canım anneme, babama ve ablama; tez çalışmalarım boyunca destek ve sevgilerini hissettiren canım arkadaşlarıma ve geniş aileme teşekkürü borç bilirim.

Bu tezi BAP 08.TIP.21 proje numarası ile destekleyen Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine çok teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
Kabul ve Onay	i
Önsöz	ii
İçindekiler	iii
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	v
Şekiller Dizini	vi
Çizelgeler Dizini	vii
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. Meme Kanseri	1
1.1.1. Meme kanseri tipleri	1
1.1.1.1. Lobüler Kanserler	1
1.1.1.1.1. Noninvaziv (İnsitu) Lobüler Kanserler	2
1.1.1.1.2. İnvaziv (İnfiltratif) Lobüler Kanserler	2
1.1.1.2. Duktal Kanserler	2
1.1.1.2.1. Noninvaziv (İnsitu) Duktal Kanserler	2
1.1.1.2.2. İnvaziv (İnfiltratif) Duktal Kanserler	2
1.1.1.3. Paget Hastalığı	3
1.1.1.4. İnflamatuvar Kanserler	3
1.1.2. Meme Kanserinde Evreleme	3
1.1.2.1. Tümör Nod Metastaz (TNM) Evreleme Sistemi	3
1.1.2.2. Evreleme (Stage) Sistemi	4
1.1.2.2.1. Evre (Stage) 0	5
1.1.2.2.2. Evre (Stage) 1	5
1.1.2.2.3. Evre (Stage) IIA	5
1.1.2.2.4. Evre (Stage) IIB	5
1.1.2.2.5. Evre (Stage) IIIA	6
1.1.2.2.6. Evre (Stage) IIIB	6
1.1.2.2.7. Evre (Stage) IV	6
1.2. Meme Kanseri Yatkınlığı	7
1.2.1 Meme Kanseriyle Birliktelik Gösteren Predispozisyon Sendromları	8
1.2.2 Nadir Orta-Penetranslı Meme Kanseri Yatkınlık Genleri	9
1.2.3 Yaygın Düşük Penetranslı Meme Kanseri Yatkınlık SNP'leri	11
1.3. Fibroblast Büyüme Faktörü ve Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptörleri	12
1.3.1. FGF-Reseptörlerinin Yapısı	14
1.3.2. FGFR'nin İzofomları	17
1.3.3. FGF ve FGFR İzofomlarının Biyolojik Roller	18
1.3.4. FGF Reseptörleriyle Sinyal Yolu	19
1.3.5. FRS2 $\alpha$ FGFR Yoluyla Sinyal İletiminde Başlıca Aracıdır	20
1.3.6. FGFR2 Geni ve Alternatif Splicingi	23
1.3.7. Embriyogenez ve Erişkin Doku Homeostazında FGFR2 Sinyali	23
1.3.8. FGFR2'nin Diğer Sinyal Kaskadlarıyla İlişkisi	25
1.3.9. Kanserde FGFR2'nin Genetiği Ve Genomiği	26
1.3.10. Anti-onkogenik FGFR2b	28
1.3.11. Kanseroz Olmayan Hastalıklarda FGFR2	29

1.3.12. FGFR2'yi Hedef Alan Terapötikler	29
1.4. B7 Ailesi Molekülleri ve Fonksiyonları	30
1.4.1. B7-H4 Geni ve Fonksiyonu	33
1.4.1.1. Kanser İmmunitesinde B7-H4	36
1.4.1.2. Meme Kanserinde B7-H4 Geni Polimorfizmleri	38
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	39
2.1. Hasta ve Kontrol Grupları	39
2.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar	39
2.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Sarf Malzemeler	40
2.4. Kullanılan Solüsyon ve Tamponların Hazırlanması	42
2.5. %2'lik Agaroz Jelin Hazırlanması	43
2.6. Periferik Kandan DNA İzolasyonu	43
2.7. FGFR2 Geni için PCR Koşulları	44
2.8. FGFR2 Geni için PCR Temizleme	45
2.9. FGFR2 Geni Dizi Analizi	46
2.10. B7-H4 Geni için PCR Koşulları	47
2.11. Elde Edilen PCR Ürünlerinin Agaroz Jelde Kontrolünün Yapılması	48
2.12. Enzim Kesimi	49
2.12.1. B7-H4 Geni rs10754339 G/A Polimorfizmi için MscI Enzim Kesimi	49
2.12.2. B7-H4 Geni rs10801935 C/A Polimorfizmi için SallI Enzim Kesimi	49
2.12.3. B7-H4 Geni rs3738414 A/G Polimorfizmi için BtsI Enzim Kesimi	50
2.13. İstatistiksel Değerlendirme	50
<b>3. BULGULAR</b>	52
<b>4. TARTIŞMA</b>	67
<b>5. SONUÇ</b>	85
<b>ÖZET</b>	86
<b>SUMMARY</b>	88
<b>KAYNAKLAR</b>	90
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	113

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

FGFR2	: Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptörü 2
UTR	: Translasyonu yapılmayan bölge (Untranslated Region)
EMT Transition)	: Epitelyalden mezenkimale geçişi (Epithelial to Mesenchymal)
ROS	: Reaktif oksijen türleri (Reactive Oxygen Species)
MAPK Kinase)	: Mitojen aktive edilmiş protein kinaz (Mitogen Activated Protein)
ER	: Östrojen Reseptörü
PR	: Progesteron Reseptörü
HER2	: İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 2
GWA	: Genom boyu bağlantı (Genome Wide Asosiasyon)
RTK	: Reseptör tirozin kinaz (Receptor Tyrosine Kinase)
LCIS	: Lobüler karsinoma insitu
DCIS	: Duktal karsinoma insitu
SNP	: Tek nükleotit Polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphism)
HSPG	: Heparan sülfat proteoglikan
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
PTK	: Protein tirozin kinaz
PTB	: Fosfotirozin bağlayan (Phosphotyrosine Binding)
RTK	: Reseptör tirozin kinaz
APC	: Antijen sunan hücre (Antigen Presenting Cell)
MHC	: Major histokompatibilite kompleksi
ESE	: Ekzonik splicing enhancer
A	: Adenin
G	: Guanin
C	: Sitozin
T	: Timin
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dNTP	: Deoksi Nükleotit Trifosfat
RFLP	: Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1.1.</b> Bir FGFR'nin yapısı	15
<b>Şekil 1.2.</b> FGFR izoformları	18
<b>Şekil 1.3.</b> FGF reseptörleriyle sinyal yolağı	22
<b>Şekil 1.4.</b> FGFR2 geninin kromozom 10q26'daki lokalizasyonu	23
<b>Şekil 1.5.</b> B7-H4 geninin kromozom 1p13.1'deki lokalizasyonu	34
<b>Şekil 1.6.</b> APC'lerdeki B7-H4 ve diğer B7 ailesi üyeleri ve T hücre üzerindeki ligandları	35
<b>Şekil 1.7.</b> Tümör mikroçevresindeki B7-H4+ APC'ler ve etkileri	38
<b>Şekil 3.1:</b> FGFR2 geni rs1219648 A/G polimorfizmi 22 nolu kontrole ait homozigot GG genotipini gösteren sekans grafiğı	52
<b>Şekil 3.2:</b> FGFR2 geni rs1219648 A/G polimorfizmi 7 nolu kontrole ait heterozigot AG genotipini gösteren sekans grafiğı	53
<b>Şekil 3.3:</b> FGFR2 geni rs1219648 A/G polimorfizm 24 nolu kontrole ait homozigot AA genotipini gösteren sekans grafiğı	53
<b>Şekil 3.4:</b> FGFR2 geni rs2981582 C/T polimorfizmi 10 nolu hastaya ait homozigot CC genotipini gösteren sekans grafiğı	54
<b>Şekil 3.5:</b> FGFR2 geni rs2981582 C/T polimorfizmi 7 nolu hastaya ait heterozigot CT genotipini gösteren sekans grafiğı	54
<b>Şekil 3.6:</b> FGFR2 geni rs2981582 C/T polimorfizmi 23 nolu hastaya ait homozigot TT genotipini gösteren sekans grafiğı	54
<b>Şekil 3.7:</b> B7-H4 geni rs10754339 polimorfizmi, 341 bç'lik amplifikasyon ürününün %2'lik agaroz jelde görüntülenmesi.	55
<b>Şekil 3.8:</b> B7-H4 geni rs10754339 polimorfizmi, 341 bç'lik amplifikasyon ürününün MscI enzimi ile yapılan RFLP sonuçlarının %2'lik agaroz jelde görüntülenmesi	55
<b>Şekil 3.9:</b> B7-H4 geni rs10801935 polimorfizmi, 466 bç'lik amplifikasyon ürününün %2'lik agaroz jelde görüntülenmesi.	56
<b>Şekil 3.10:</b> B7-H4 geni rs10801935 polimorfizmi, 466 bç'lik amplifikasyon ürününün Sall enzimi ile yapılan RFLP sonuçlarının %2'lik agaroz jelde görüntülenmesi	57
<b>Şekil 3.11:</b> B7-H4 geni rs3738414 polimorfizmi, 419 bç'lik amplifikasyon ürününün %2'lik agaroz jelde görüntülenmesi	58
<b>Şekil 3.12:</b> B7-H4 geni rs3738414 polimorfizmi, 419 bç'lik amplifikasyon ürününün BtsI enzimi ile yapılan RFLP sonuçlarının %2'lik agaroz jelde görüntülenmesi	58



## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Tablo 3.1.</b> Hasta ve kontrol gruplarında FGFR2 rs2981582 C/T polimorfizmi için genotip dağılımı	60
<b>Tablo 3.2.</b> Hasta ve kontrol gruplarında FGFR2 rs1219648 A/G polimorfizmi için genotip dağılımı	60
<b>Tablo 3.3.</b> Hasta ve kontrol gruplarında B7-H4 rs10754339 G/A polimorfizmi için genotip dağılımı	60
<b>Tablo 3.4.</b> Hasta ve kontrol gruplarında B7-H4 rs10801935 C/A polimorfizmi için genotip dağılımı	60
<b>Tablo 3.5.</b> Hasta ve kontrol gruplarında B7-H4 rs3738414 A/G polimorfizmi için genotip dağılımı	61
<b>Tablo 3.6.</b> Meme kanseri hasta grubunda yaş durumunun FGFR2 ve B7-H4 geni genotipleriyle ilişkisinin değerlendirilmesi	61
<b>Tablo 3.7.</b> Meme kanseri hasta grubunda menopozal durumunun FGFR2 ve B7-H4 geni genotipleriyle ilişkisinin değerlendirilmesi	62
<b>Tablo 3.8.</b> Meme kanseri hasta grubunda ailede meme kanseri bulunma durumunun FGFR2 ve B7-H4 geni genotipleriyle ilişkisinin değerlendirilmesi	63
<b>Tablo 3.9.</b> Meme kanseri hasta grubunda östrojen reseptör (ER) durumunun FGFR2 ve B7-H4 geni genotipleriyle ilişkisinin değerlendirilmesi	63
<b>Tablo 3.10.</b> Meme kanseri hasta grubunda progesteron reseptör (PR) durumunun FGFR2 ve B7-H4 geni genotipleriyle ilişkisinin değerlendirilmesi	64
<b>Tablo 3.11.</b> Meme kanseri hasta grubunda c-erb-B2 (HER-2/neu) durumunun FGFR2 ve B7-H4 geni genotipleriyle ilişkisinin değerlendirilmesi	65
<b>Tablo 3.12.</b> Meme kanseri hasta grubunda tümör büyüklüğü durumunun FGFR2 ve B7-H4 geni genotipleriyle ilişkisinin değerlendirilmesi	65
<b>Tablo 3.13.</b> Meme kanseri hasta grubunda lenf nodu tutulumu durumunun FGFR2 ve B7-H4 geni genotipleriyle ilişkisinin değerlendirilmesi	66

## 1. GİRİŞ

### 1.1. Meme Kanseri

Meme kanseri, tüm insanlarda akciğer kanserinden sonra ikinci sıklıkta görülmektedir. Gerek gelişmiş gerekse gelişmekte olan ülkelerin bir çoğunda en sık görülen kadın kanseridir (Parkin ve ark., 2005).

Ortalama %8-10'luk yaşam boyu riskle, meme kanseri batı dünyasındaki kadınlar arasında görülen en yaygın malignansidir. Sağlıklı kadınların yaklaşık %15'inin meme kanserli en az bir tane birinci derece akrabası mevcuttur (Robson ve Offit, 2007) ve ampirik data, meme kanseri riskinin bu kadınlarda iki kat daha fazla olduğunu göstermektedir (Ripperger ve ark., 2009). Amerika'da 2009 yılında kadın meme kanseri yeni vaka sayısı 192,370 meme kanseri nedeni ölüm sayısının ise 40,170 olacağı bildirilmiştir (<http://www.cancer.gov/cancertopics/types/breast>).

Ülkemizde mevcut verilere göre meme kanseri sıklığının, doğu bölgelerimizde 20/100.000, batı bölgelerimizde ise 40-50/100.000 oranında olduğu tahmin edilmektedir. Bu rakamlardan yola çıkılarak, Türkiye'de her yıl meme kanserine yakalanan kadın sayısının on bin kadar olduğu hesaplanabilir. Kadınlarda erken menarş (<12 yaş), geç doğum (>30 yaş), geç menopoz (>55 yaş), daha fazla hormon replasman tedavisi alma, daha kısa laktasyon süresi ve beslenme alışkanlıklarındaki değişiklikler, batı tipi yaşam biçiminin meme kanserinin insidans hızının artması ile ilgili öğeleri arasında sayılabilir. Kadınlardaki dört kanserden biri memede ortaya çıkmakta olup, kanserden en sık ölüm nedenidir (Özmen ve ark., 2009).

#### 1.1.1. Meme Kanseri Tipleri

Meme kanseri, tümörün köken aldığı asıl dokuya göre sınıflandırılır.

##### 1.1.1.1. Lobüler Kanserler

Memenin lobüllerindeki epitel dokudan kaynaklanmaktadır.

#### **1.1.1.1.1. Noninvaziv (İnsitu) Lobüler Kanserler (Lobüler Karsinoma İnsitu) (LCIS)**

LCIS başlangıçta lobül içinde sınırlı kalır. Belirti ve kitle oluşturmaz ve yavaş büyür. Bu nedenle yıllarca sessiz kalabilir ve tanı konulamayabilir. Biyopsi örneğinde tesadüfen tanınır. LCIS Sıklıkla çift taraflıdır. Vakaların %35'inde giderek invaziv hale gelir, genellikle genç kadınlarda görülür.

#### **1.1.1.1.2. İnvaziv (İnfiltratif) Lobüler Kanserler**

İnvaziv (infiltratif) lobüler kanserler nadir (%5-10) görülürler, genellikle multisentrik (çok merkezli) olup bir veya iki memede bir çok alanda deride kalınlaşma görülebilir. Bu tipte, sıklıkla aksiller lenf nodu tutulumu vardır.

#### **1.1.1.2. Duktal Kanserler**

Duktal kanserler meme kanallarındaki epitel dokudan kaynaklanmaktadır.

#### **1.1.1.2.1. Noninvaziv (İnsitu) Duktal Kanserler (Duktal Karsinoma İnsitu) (DCIS)**

Noninvaziv (insitu) duktal kanserler (DCIS), Lobüler karsinoma insitunun (LCIS) aksine belirgin büyüklüğe ulaşırlar ve kolaylıkla tanı alabilirler. Tedavi edilmezlerse invaziv duktal karsinomaya dönüşürler.

#### **1.1.1.2.2. İnvaziv (İnfiltratif) Duktal Kanserler**

Bu kanserler, en yaygın görülen meme kanseri tipidirler. Tüm meme kanserlerinin %75'ini oluştururlar ve prognozları diğer kanser tiplerinden daha kötüdür, metastazlarını genellikle aksiller lenf nodlarına yaparlar.

### 1.1.1.3. Paget Hastalığı

Paget Hastalığı nadir olup %3 oranında görülür, başlangıçta meme başında ve areolada yanma hissi, kaşınma, kabuklanma, ülserasyon vardır. Meme başı ve areolada egzamatöz lezyonlar oluşur. Geç evrede tümör invaziv hale gelir. Paget hastalığı, enfeksiyon olarak yanlış tanımlanabilir, hastalığın prognozu oldukça iyidir.

### 1.1.1.4. İnflamatuvar Kanserler

İnflamatuvar kanserler, meme kanserinin nadir bir tipi olup % 1-2 oranında görülürler. Bu kanserlerde tümör yumuşak ve ağrılıdır. Belirtileri diğer meme kanserlerinden farklıdır. Meme derisinde ödem, kızarıklık, sıcaklık ve kalınlaşma bulguları vardır. Memede saptanan bulgular enfeksiyon görünümünde olduğundan enfeksiyon ile karıştırılabilir. Prognozu oldukça kötüdür ([http://www.saglik.gov.tr/extras/birimler/ksdb/meme\\_kanseri.pdf](http://www.saglik.gov.tr/extras/birimler/ksdb/meme_kanseri.pdf)).

## 1.1.2. Meme Kanserinde Evreleme

### 1.1.2.1. Tümör Nod Metastaz (TNM) Evreleme Sistemi

Kanserin evrelendirilmesi amacı ile TNM sistemi geliştirilmiştir. Burada T tümörün boyutunu, N lenf bezlerinin durumunu ve M ise kanserin metastaz yapma yapmadığını belirtir (<http://www.kanser.org/toplum/mkanseri.php>).

Primer tümör: T

TX : Primer tümör değerlendirilememiş.

TO : Primer tümör bulgusu yok.

Tis : Tümör bulgusu olmayan Paget hastalığı veya in situ tümör.

T1 : Tümör 2 cm veya daha küçük.

T1a : Tümör 0.5 cm veya daha küçük.

T1a : Tümör 0.5 cm'den büyük, fakat 1 cm'yi aşmamış.

T1C : Tümör 1 cm'den büyük; fakat 2 cm'yi aşmamış.

T2 : Tumor 2 cm'den büyük; fakat 5 cm'yi aşmamış.

T3 :Tumor 5 cm'yi aşmış.

T4 :Tumorün boyutu ne olursa olsun deri ya da toraks duvarına doğrudan ulaşmış.

T4a :Toraks duvarına ulaşmış.

T4b :Meme derisindeki ödem (Peau d'orange dahil), ülserasyon, tümörlü memede satellit deri lezyonları.

T4c :T4a+ T4b

T4c :İnflamatuvar kanser: Klinikopatolojik bir bulgudur, deride yaygın endurasyon ile erizipeloid görünüm vardır. Genellikle ele kitle gelmez. Radyolojik olarak kitle olabilir ve meme üzerindeki deride karakteristik bir kalınlaşma vardır. Bu klinik görünüm dermal lenfatiklerde tümör embolisi ile oluşmaktadır. Paget hastalığında kitle varsa T'yi kitlenin büyüklüğü tayin eder. T ölçümünde tümörün en büyük boyutu göz önüne alınır.

Bölgesel lenf bezleri : N

NX :Bölgesel lenf bezleri değerlendirilememiş (örn. daha önce çıkarılmıştır.)

NO :Bölgesel lenf metastazı yoktur.

N1 :Aynı taraf koltuk altında bir ya da fazla mobil lenf bezinde metastaz.

N2 :Aynı taraf koltuk altında bir ya da fazla lenf bezinde metastaz; fakat bu lenf bezleri birbirlerine ya da etraf dokulara yapışık; paket oluşturmuştur.

N3 :Tümörün bulunduğu taraftaki mammaria interna lenf bezi grubuna metastaz.

Uzak metastazlar : M

MX :Uzak metastazların varlığı değerlendirilememiş.

Mo :Uzak metastaz yok.

M1 :Uzak metastaz var (supraklaviküler lenf bezlerindeki metastazlar da uzak metastaz olarak nitelenir)

(<http://www.gata.edu.tr/dahilibilimler/ichastaliklari/files/kitaplar/108.pdf>).

### 1.1.2.2. Evreleme (Stage) Sistemi

Kanserin evresini, tümörün boyu ve kanserin yayılımı tanımlar. Evrelendirme sisteminde Evre 0 ile 4 arasında bir rakam ile belirtilir.

#### **1.1.2.2.1. Evre (Stage) 0**

Aynı zamanda 'in-situ' olarak da adlandırılır. Evre 0, olan kanserler yerlerinde kalmış ve çevre dokulara yayılmamış olan kanserlerdir. Klinik kontrollerde tanısı konan kanserlerin yaklaşık olarak %15 ila %20'si Evre 0 kanserlerdir.

#### **1.1.2.2.2. Evre (Stage) 1**

Orijinal tümör 2cm ya da daha küçüktür ve henüz lenf bezlerinin tutulumu yoktur. Evre 1 kanser tedavisi için genellikle izlenen iki yöntem vardır. Meme koruyucu tedavi: lumpektomi (kanserli kitlenin etrafında bir parça sağlıklı göğüs dokusu ile birlikte alınması) ve koltuk altı lenf bezlerinin alınmasını takip eden radyasyon tedavisi yapılır. Gerekliyse kemoterapi veya hormonoterapiler eklenir veya mastektomi (kanserin bulunduğu göğsün alınması operasyonu) ve koltuk altı lenf bezlerinin çıkarılması önerilir.

#### **1.1.2.2.3. Evre (Stage) IIA**

Orjinal tümör 2 ila 5 cm arasındadır ve lenf bezlerinin tutulumu vardır.

#### **1.1.2.2.4. Evre (Stage) IIB**

Orijinal tümör 2 ila 5 cm arasındadır ve koltuk altı lenf bezlerine sıçramıştır, ya da orijinal tümör 5 cm den daha büyüktür ve koltuk altı lenf bezlerine sıçramamıştır. Evre II için genelde uygulanan tedavi şekli Evre I ile aynıdır (lumpektomi ve koltuk altı lenf bezlerinin çıkarılması yada mastektomi), ancak eğer tümör büyükse ya da lenf bezlerine sıçramışsa kemoterapi, hormonoterapi ve radyasyon tedavisinin tamamlayıcı olarak uygulanması daha yaygındır.

#### **1.1.2.2.5. Evre (Stage) IIIA**

Orijinal tümör koltuk altı lenf bezlerine ve göğüs dışı dokulara sıçramıştır. Evre IIA meme kanseri için uygulanmakta olan standart tedavi mastektomidir. Tümörün sağlıklı göğüs dokusundan bir kesim ile ayrılabilmesinin olası olduğu durumlarda, lumpektomi de yapılabilir. Operasyon sonrasında genelde radyasyon tedavisi ve sistematik tedavi olarak kemoterapi ve hormon tedavisi uygulanır. Eğer tümör çok büyükse, operasyon öncesinde tümörün boyunun küçültülmesi amacıyla kemoterapi uygulanabilir, bu tip kemoterapi uygulamalarına neoadjuvant kemoterapi denir. Bazı durumlarda neoadjuvant kemoterapiye yardımcı olması amacıyla operasyon öncesi hormon tedavisi de uygulanabilir.

#### **1.1.2.2.6. Evre (Stage) IIIB**

Orijinal tümörün boyutuna bakılmaksızın, tümörün kendisini göğüs duvarına bağladığı ve göğüs lenf bezlerine sıçradığı durumlarda kanser Evre IIIB olarak adlandırılır. Evre IIIB meme kanserinin standart tedavisi genellikle neoadjuvant kemoterapi ile başlar. Orijinal tümörün boyunun istenen oranda küçülmesi ile birlikte, lumpektomi veya mastektomi yapılır. Operasyon sonrası uygulanan standart tedavi ise, radyasyon tedavisi, kemoterapi ve hormon tedavisidir.

#### **1.1.2.2.7. Evre (Stage) IV**

Kanser göğüs dışına vücudun diğer bölümlerine (kemikler, akciğer, karaciğer yada beyin gibi) sıçramıştır. Evre IV meme kanserinin tedavisinde temel amaç yaşam süresini ve kalitesini arttırmak ve hastanın şikayetlerini gidermektir. Tedavide genelde kemoterapi ve hormon tedavisi gibi tüm vücudu etkileyen sistematik tedaviler uygulanır. Hastanın şikayetlerinin azaltılması amacı ile bazı durumlarda mastektomi de önerilebilir (<http://www.kanser.org/toplum/mkanseri.php>).

## 1.2. Meme Kanseri Yatkınlığı

Monogenik özelliklerin meme kanserinin %5'inden sorumlu olduğu düşünülmektedir (Bradbury ve Olopade, 2007). Familial meme kanserinin %20-40'ından germline BRCA1 ve BRCA2 mutasyonları sorumludur ve bu, tüm meme kanserlerinin %5'inden daha azdır (Wooster ve Weber, 2003), meme kanserinin hayat boyu riski açısından bu mutasyonlar %60-85'lik bir asosiasyon göstermektedir ve yine ovaryum kanseri için de yüksek risk teşkil etmektedir. Herediter meme kanseri ve ovaryum kanserindeki bu yüksek riske ek olarak, yüksek meme kanseri riskiyle asosiasyon gösteren bazı kalıtsal sendromlar da vardır. Bununla birlikte, familial meme kanserine yatkınlık açısından genetik predispozisyonun %50 nedeni hala bilinmemektedir (Nathanson ve ark., 2001; Meindl, 2002; Turnbull ve Rahman, 2008). Meme kanserinde orta derecede meme kanseri riski gösteren DNA tamir genlerindeki nadir mutasyonlarla, oldukça yüksek meme kanseri riskiyle asosiasyon gösteren düşük penetranslı polimorfizmler ayrı değerlendirilmelidir (Ripperger ve ark., 2009). Bu yaygın varyantlar fibroblast büyüme faktörü reseptörü 2 (FGFR2) gibi bilinen genlerdeki SNP'ler olduğu gibi, henüz sorumlu gen veya genlerin belirlenemediği lokuslardakiler de olabilmektedir. Çoğu kompleks hastalıkta olduğu gibi, meme kanseri için bireysel riskin, tek bir genetik varyanttan çok, bir polimorfizm kalıbı, hormonlar, fiziksel egzersiz gibi çevresel faktörlerin etkileşimiyle belirlenmesi beklenmektedir. Bu zamana kadar, ne bilinen düşük riskli varyant kalıplarıyla asosiasyon gösteren kümülatif risk tahmini, ne de farklı genetik varyantları entegre eden risk tahmini modelleri geliştirilmesi geçerli hale gelememiştir. Bu durum, BRCA1/BRCA2 mutasyonu taşımayan ailevi meme kanseri açısından risk taşıyan bireylerde ve genel popülasyonda bireysel meme kanseri riskini öğrenmek isteyen diğer bireylerde, bu yatkınlık mutasyon ve polimorfizmlerinin klinik kullanımını sınırlamaktadır (Willems, 2007). Bu durum ancak, yakın gelecekte diğer genetik risk faktörlerinin tanımlanması, geçerli risk tahmin modellerinin geliştirilmesi ve yeni jenerasyon yüksek verimli sekanslama teknolojilerinin kullanımıyla değişebilecektir. Bir aileye BRCA1 ve BRCA2 mutasyon taraması yapılmasının önerilmesi konusunda karar verilmesine rehberlik etmek için kurulmuş olan analizlerin, orta derecede meme kanseri riskiyle birliktelik



gösteren nadir mutasyonlar için orta penetranslı genlerin ve hafif yükselmiş meme kanseri riskiyle birliktelik gösteren yaygın alleller için düşük penetranslı SNP'lerin genetik testinin uygulanması öncesinde gerçekleştirilmesi gerekenler için kriterlerin tanımlanması gerekmektedir (Ripperger ve ark., 2009).

### **1.2.1. Meme Kanseriyle Birliktelik Gösteren Predispozisyon Sendromları**

BRCA1 ve BRCA2 mutasyonlarından kaynaklanan herediter meme ve ovaryum kanseri, yüksek meme kanseri riskiyle birliktelik gösteren en sık otozomal dominant düzensizliktir (Turnbull ve Rahman, 2008). Buna ek olarak, yüksek meme kanseri riskiyle birliktelik gösteren diğer nadir kanser predispozisyon sendromları vardır. TP53 geninde germline mutasyonlar nedeniyle oluşan Li-Fraumeni sendromunda, meme kanseri erken yaşta görülen, tekrarlayan yumuşak doku sarkomları, lösemi ve beyin tümörleri gibi multipl neoplazilerden biridir (Ripperger ve ark., 2009). Ek olarak, önceden LKB1 olarak bilinen, STK11 heterozigot germline mutasyonları taşıyan, dudaklarda, bukkal mukozada ve parmaklarda melanositik benekler, multipl gastrointestinal hemartomatöz polipler, meme kanseri de dahil çeşitli neoplazmlar için yüksek riskle karakterize bir polipozis sendromuna neden olan Peutz–Jeghers Sendromlu bireylerde de yüksek meme kanseri riski mevcuttur (Hearle ve ark., 2006).

Deri, meme, tiroid, gastrointestinal sistem, endometrium ve beyinde multipl hemartomlar ile malign tümörler için yüksek riskle karakterize Cowden Sendromu, 70 yaşlarında %30-50 olmak üzere yüksek meme kanseri riskiyle asosiyasyon gösterir. Hastalığa sebep olan germline mutasyonlar yaygın olarak fosfatidilinositol 3-kinaz yolağında kritik bir tümör supressör olan PTEN geninde bulunmuştur. İlginç olarak yapılan bir çalışmada BRCA1/BRCA2 mutasyonu taşımayan yüksek meme/ovaryum kanseri riskli ailelere mensup meme kanserli olgularda PTEN geninin kodlayan bölgesinde değil, intronik sekanslarında dört varyant saptanmıştır (Guenard ve ark., 2007).

CDH1 mutasyonlarının herediter diffüz gastrik kanser ve/veya lobular meme kanserine neden olduğu bilinmektedir (Kaurah ve ark., 2007). Diffüz gastrik kanser

aile öyküsü olmayan lobular meme kanserli kadınlarda CDH1 mutasyonları saptanmıştır (Masciari ve ark., 2007).

Otozomal dominant bir hastalık olan Nörofibromatoz TipI (NF1)'li kadınlar için, orta derecede yüksek meme kanseri riski bildirilmiştir (Sharif ve ark., 2007).

Nijmegen kırılma sendromu, mikrosefali, gelişme geriliği, immun yetmezlik, farklı malignansilere yatkınlıkla karakterize bir otozomal resesif kromozomal instabilite sendromu olup, DNA tamirinde görevli NBN genindeki mutasyonlarla oluşur (Walsh ve King, 2007). Son zamanlarda, NBN'deki bir 5bç'lik delesyonun (657del5), Merkez ve Doğu Avrupadaki heterozigot dişi taşıyıcılarda meme kanseri riskini neredeyse üç kat artırdığı gösterilmiştir (Bogdanova ve ark., 2008).

Son olarak, bazı çalışmalar, başlıca MLH1, MSH2, MSH6 ve PMS2'de olmak üzere DNA mismatch tamir mekanizması genlerindeki heterozigot mutasyonların neden olduğu herediter non-polipozis kolorektal kanser (HNPCC)'de artmış meme kanseri riskini bildirirlerken (Vasen ve ark., 2001; Risinger ve ark., 1996), diğer araştırmacılar ise çok az veya hiç risk bulunmadığını bildirmişlerdir (Geary ve ark., 2008; Watson ve ark., 2008).

### **1.2.2. Nadir Orta-Penetranslı Meme Kanseri Yatkınlık Genleri**

BRCA1 ve BRCA2, DNA tamirinde görev aldığı için ve ATM ve TP53 gibi DNA tamir genlerindeki heterozigot mutasyonlarının yüksek meme kanseri riskiyle asosiasyon gösterdiği tartışıldığı için, yüksek riskli ailelerde diğer meme kanseri yatkınlık genlerini tanımlamak üzere aday gen yaklaşımı, CHEK2, RAD50, BRIP1 ve PALB2 gibi DNA tamirinde yer alan genler üzerine yoğunlaşmıştır. DNA tamiri ve meme kanseri yatkınlığı, Fankoni anemisinden homozigot BRCA2 mutasyonlarının sorumlu olduğunun bulunmasıyla daha fazla merak uyandırmış ve BRCA2'nin FANCD1 ile özdeş olduğu gösterilmiştir (Howlett, 2007; Wang, 2007). ATM, CHEK2, RAD50, BRIP1 ve PALB2 orta derecede yüksek meme kanseri riskiyle asosiasyon göstermektedir (Walsh ve King, 2007).

ATM mutasyonlarının, serebellar ataksi, telanjiektaziler, immun defektler ve malignansiye yatkınlıkla karakterize otozomal resesif bir sendrom olan ataksi telanjiektazi (Louis-Bar sendromu)'ye neden olduğu bilinmektedir. Heterozigot

mutasyon taşıyıcısı ailelerde yüksek meme kanseri riski olduğu neredeyse 20 yıldır tartışmalıdır (Renwick ve ark., 2006; Ahmed ve ark., 2006). Farklı çalışmalarda tahmini rölatif risk 1.3-12.7 olarak değişmektedir (Angele ve Hall, 2000). Son zamanlarda, 440 aileden 441 BRCA1/BRCA2-negatif meme kanserli olgu ve 521 kontrolün ATM sekans varyantları açısından değerlendirilmesi sonucunda etkilenmiş bireylerde 12, kontrollerde 2 mutasyon tespit edilmiştir. Yaptıkları bir çalışmada Renwick ve arkadaşları heterozigot mutasyon taşıyıcılarında meme kanseri rölatif riskini 2.37 olarak tahmin etmişlerdir. Böylece, ATM şu anda orta penetranslı bir meme kanseri yatkınlık geni olarak kabul edilebilir (Ripperger ve ark., 2009).

Hücre siklusu kontrol noktası kinaz 2 (Cell cycle checkpoint kinase 2) (CHEK2), ATM tarafından DNA çift zincir kırıklarına cevaben aktive edilir ve sonuç olarak BRCA1'i fosforile eder. CHEK2'deki mutasyonlar nadiren LFS2'ye yol açarlar. Yapılan bazı çalışmalarda CHEK2 genindeki pek çok sekans değişimiyle, meme kanseri arasında kesin bir ilişki saptanamazken, bir çalışmada ekzon 10'daki 1100delC, kinaz fonksiyonunu engelleyerek dişi heterozigot mutasyon taşıyıcılarında meme kanseri riskinde iki kat artışa neden olmuştur (Nevanlinna ve Bartek, 2006).

Son zamanlarda ailevi meme kanseri olan 50 000'den fazla olgu ve kontrolle yapılan meta-analiz çalışmalarında heterozigot CHEK2 1100delC mutasyon taşıyıcılarında meme kanseri geliştirme rölatif riski 4.8 olarak bildirilmiştir. Bu da 70 yaşında meme kanseri tahmini kümülatif riskini %37 olarak belirlemektedir (Weischer ve ark., 2008). Hollandada taşıyıcı frekansı %0,8'e ulaşırken, Finlandiya ve İsveçte sırasıyla %0,7 ve %0,5'tir. Ortalama 1000 allelede 1 veya 2 olmak üzere allel frekansı diğer Avrupa ülkelerinde, Kuzey Amerika ve Avustralya'da nadiren %1'i geçmektedir (Nevanlinna ve Bartek, 2006; Osorio ve ark., 2004).

Dahası, 516 BRCA1/BRCA2 mutasyon negatif herediter meme kanseri ailesinin 14 kodlayan eksonun hepsinin taranması sonucu analiz edilen dört ailenin ikisinde CHEK2 1100delC bağımsız dağılım göstermiştir (Dufault 2004) ve daha önce erkek meme kanseri için bildirilen yüksek risk doğrulanmıştır (Nevanlinna ve Bartek, 2006). Offit ve Garber CHEK2 1100delC mutasyonun çoğu batı ülkesi popülasyonlarında çok düşük frekanslı olmasını hesaba katarak kliniğe rehberlik

etmek üzere rutin test olarak uygulamanın şu an için uygun olmadığı görüşünü savunmaktadırlar (Offit ve Garber, 2008).

Daha önce BACH1 olarak bilinen BRIP1'deki mutasyonların yüksek meme kanseri riskiyle asosiasyonu gösterilmiştir. 1212 BRCA1/BRCA2 mutasyon negatif aile ve 2081 kontrolle yapılan konstitüsyonel BRIP1 mutasyon taramasında, meme kanserlilerde 9, kontrollerde 2 truncating mutasyon bildirilmiştir. Bu da heterozigot mutasyon taşıyıcılarında 2,0 tahmini rölatif meme kanseri riskine yol açarken, biallelik mutasyonlar komplementasyon grup J Fankoni anemisine yol açmaktadır (Seal ve ark., 2006).

Fankoni anemisi komplementasyon grup N'ye sebep olduğu bilinen PALB2'nin araştırılması, herediter meme kanserli 923 birey ve 1084 sağlıklı bireyle yapılan araştırma, meme kanserli bireylerde 10 adet truncating PALB2 mutasyonu saptanırken, kontrollerde mutasyon saptanmamıştır. ATM, CHEK2, BRIP1 ve PALB2 mutasyonları, orta penetranslı, nadir meme kanser yatkınlık mutasyonları olarak sınıflandırılırlar ve tüm ailesel riskin %2,3'ünden sorumludurlar (Rahman ve ark., 2007). RAD50, BRCA1 ve NBN ile karşılıklı etkileşim gösteren ve çift zincirli DNA kırıklarının tamirinde önemli olan bir proteini kodlar. Bu genin 687 del T mutasyonu Finlandiya popülasyonunda yüksek meme kanser riskiyle asosiasyon göstermesine rağmen (n=317) (Heikkinen ve ark., 2006), İsveç, Norveç ve İzlanda kohortlarında (n=512) mutasyon saptanamamıştır, bu da bazı mutasyonların yüksek frekansının farklı popülasyonlarda oluştuğunu göstermektedir (Ripperger ve ark., 2009).

### **1.2.3. Yaygın Düşük Penetranslı Meme Kanseri Yatkınlık SNP'leri**

Binlerce hasta ve kontrol gruplarını içeren büyük gruplarda yüksek meme kanseri riskiyle asosiasyon gösteren genetik varyantları araştırmak üzere "genome-wide asosiasyon" çalışmaları için şimdilerde yüksek-dansiteli SNP arrayleri gibi yeni araçlar geliştirilmiştir. Bu çalışmaların amacı, her biri bireysel riskte sadece minör bir kapsamı etkilemesi beklenen polimorfizmleri tanımlamaktır. Bununla birlikte, bu varyantların çoğu, araştırılan popülasyonlarda yüksek frekansta olduğundan, meme kanseri riskinde önemli bir etkileri olmakta fakat kontrol kohortlarında da bulunabilmektedir (Willems 2007). Bu genetik varyantların nasıl etkileştiklerini ve

çevresel risk faktörlerini nasıl modifiye ettiklerini anlamak için tümörögenezdeki rollerini karakterize etmek gerekecektir. Son zamanlarda, artan bir listeye genlerde veya kromozomal lokuslarda bulunan yaygın SNP'ler genome-wide asosiasyon çalışmalarında tanımlanmıştır: FGFR2 (Hunter ve ark., 2007; Easton ve ark., 2007), LSP1 (Easton ve ark., 2007), MAP3K1 (Easton ve ark., 2007), TGFB1(Cox ve ark., 2007), TOX3 (Easton ve ark., 2007; Stacey ve ark., 2007), 2q35 (Stacey ve ark., 2007) ve 8q (Easton ve ark., 2007)'daki lokuslar buna örnektir.

Sporadik meme kanseri olgularında eksprese ve amplifiye edildiği bilinenen (Heiskanen 2001) FGFR2'nin 2. intronundaki 2 SNP (rs2981582 ve rs1219648)'nin, iki bağımsız çok merkezli genome-wide asosiasyon SNP çalışmasında yüksek meme kanseri riskine yol açtığı gösterilmiştir (Hunter ve ark., 2007; Easton ve ark., 2007). Bununla birlikte sağlıklı kontrol kohortlarının %47-48'nin de bu SNP'leri taşıması (Willems 2007), meme kanserli ailelerin yanı sıra ailevi meme kanseri öyküsü olmayan kadınların tahmin amaçlı testlerinde kullanılmasının zorluğunu göstermektedir. Aşkenazi Yahudilerinde yapılan üç fazlı bir GWA (genome-wide asosiasyon) çalışması da 10q kromozomal bölgesindeki FGFR2'nin önceden bildirilen meme kanseri riskini (Hunter ve ark., 2007; Easton ve ark., 2007) doğrulamıştır (Gold ve ark., 2008). Çoğu SNP'nin fonksiyonu veya biyolojik sonuçları henüz bilinmese de (Stratton ve Rahman, 2008), Meyer ve ark., FGFR2'nin ikinci intronundaki tanımlanan meme kanseri yatkınlık SNP'leri nedeniyle OCT1, RUNX2 ve C/EBP $\beta$  transkripsiyon faktörlerinin bağlanma affinitesinin değiştiği bunun da FGFR2 ekspresyonunda artışa sebep olduğunu bildirmiştir (Meyer ve ark., 2008). İleri GWA çalışmalarında BRCA1/BRCA2-negatif yüksek-risk meme kanserini ve sporadik meme kanseri olgularını kontrol kohortlarıyla karşılaştırma çalışmaları devam etmekte olup, bu çalışmalar da kuşkusuz yeni yatkınlık polimorfizmleri tanımlayacak, tanımlanan yatkınlık polimorfizmlerinin ilave ve sinerjistik muhtemel etkileri araştırılabilecektir (Turnbull ve Rahman 2008).

### **1.3. Fibroblast Büyüme Faktörü ve Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptörleri**

Büyüme faktörlerinden, Fibroblast büyüme faktörü (FGF) ailesinin 22 üyesi, hücrel cevaba FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGF4 olarak belirlenmiş dört reseptör

tirozin kinaz (RTK) tarafından kodlanan farklı izoformlara bağlanarak ve bu yolla onları aktive ederek aracılık ederler. Diğer büyüme faktörlerinden farklı olarak, FGFR'leri aktive etmek ve bu geniş büyüme faktörü ailesi tarafından indüklenen çeşitli hücrel cevabın oluşturulması için pleiotropik cevapları uyarmak için heparin ve heparan sülfat proteoglikan (HSPG) birlikte hareket ederler. İnsan iskelet displazilerinin bir çoğu, kranial, digital gelişimde ve iskelet gelişiminde ciddi bozukluklara sebep olan FGFR1, FGFR2, FGFR3'deki spesifik nokta mutasyonlarıyla ilişkilidir. FGFR'lerin fonksiyon kazanımı mutasyonları myeloproliferatif sendromlar, lenfomalar, prostat ve meme kanserleri ve diğer malign hastalıklar gibi çeşitli insan kanserlerinde tanımlanmıştır. FGF ve HSPG'nin FGFR'lerin ekstraselüler ligand bağlayan domainine bağlanması, reseptör dimerizasyonunu ve reseptör molekülünün stoplazmik domainindeki multipl tirozin rezidülerinin aktivasyon ve otoposforilasyonunu indükler. FGF sitümülasyonuna cevaben Shc, fosfolipaz-C $\gamma$ , STAT1, Gab1 ve FRS2 $\alpha$  gibi pek çok sinyal proteininin fosforilasyonu, hücre proliferasyonu, hücre farklılaşması, hücre migrasyonu, hücrenin yaşamını devam ettirmesi ve hücre şekillendirilmesini kontrol eden intraselüler sinyal yollarının sitümülasyonuna neden olur. FRS2 $\alpha$  ve FRS2 $\beta$  adaptör (docking) proteinleri, FGFR sitümülasyonunu takiben hücre yüzeyinde başlatılan sinyalin oluşmasında negatif feed-back etkisi yapmalarının yanı sıra, Ras/MAPK ve PI-3 kinaz /Akt sinyal yollarının başlıca araçlarıdır. (Eswarakumar ve ark., 2005)

Fibroblast büyüme faktörü (FGF) kültüre edilmiş fibroblastlar için bir mitojen olarak keşfedilmiştir (Gospodarowicz, 1974). Bundan sonra nematodtan, drosophiladan, fare ve insana kadar pek çok organizmada en az 22 farklı FGF tanımlanmıştır. FGF'ler 17-34 kDa büyüklükleri arasında değişmelerine rağmen, ailenin bütün üyeleri %16-65 sekans özdeşliği gösteren 120 amino asitlik korunmuş bir sekans paylaşırlar (Ornitz ve Itoh, 2001).

FGF'ler embriyonik gelişim süresince ve erişkin organizmada çeşitli hücrel cevaplara aracılık ederler. Embriyonik gelişim süresince FGF'ler, hücre proliferasyonunu, farklılaşmasını ve hücre migrasyonunu düzenleyerek, morfogenezde kritik bir rol oynarlar. Erişkin organizmada FGF'ler sinir sisteminin

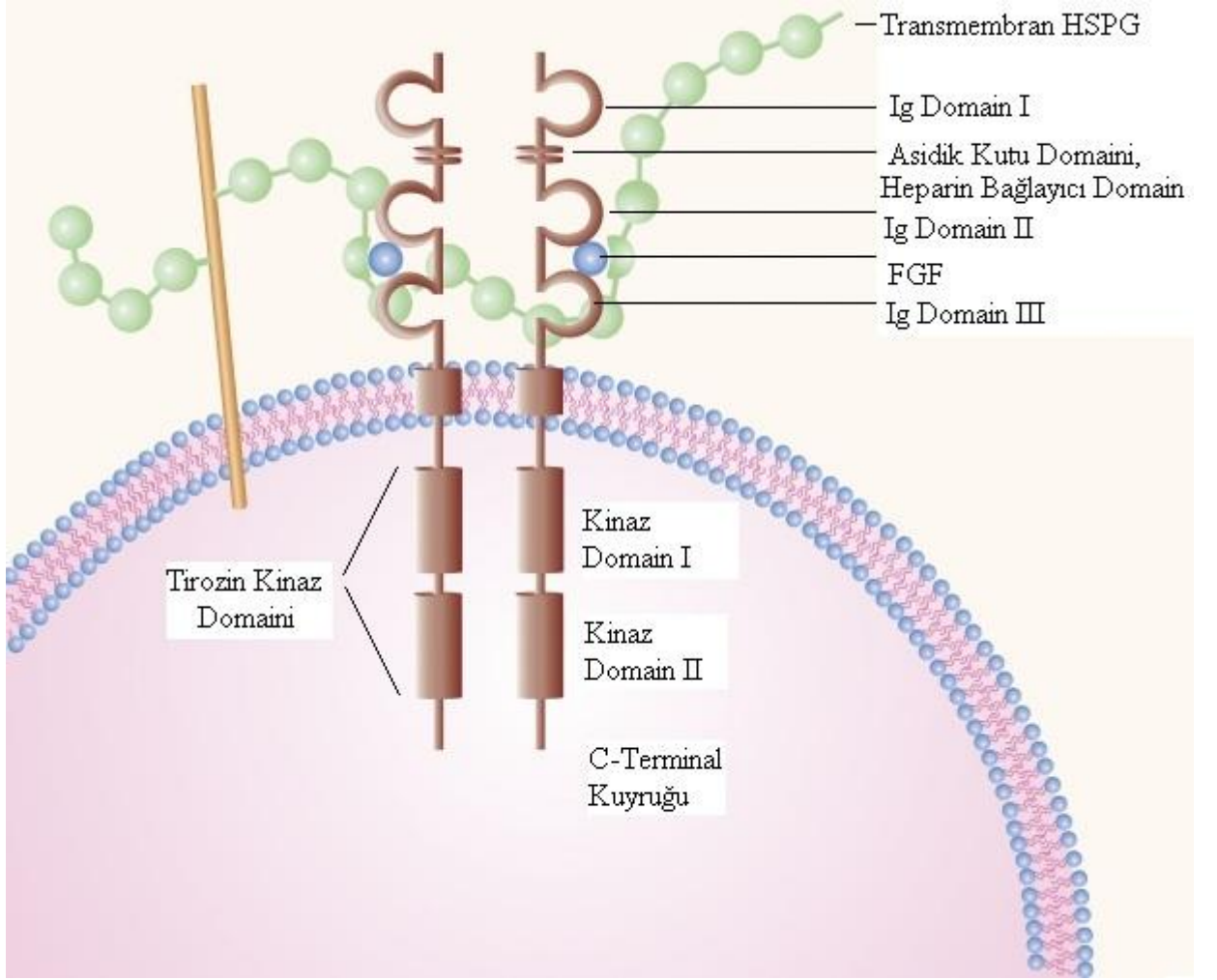
kontrolünde, doku tamirinde, yara iyileşmesinde ve tümör anjiyogenezinde önemli bir rol oynarlar (Givol ve ark., 2003).

FGF'ler hücrel cevaplarını, dört reseptör tirozin kinazdan oluşan yüksek-affiniteli FGF-reseptörleri FGFR1-FGFR4'ten oluşan bir aileye bağlanarak ve onları aktive ederek gerçekleştiriler. FGF'ler, biyolojik bir sinyal iletmeyen fakat FGF bağlanmasını ve ilgili sinyal reseptörlerinin aktivasyonunu düzenleyen bir aksesuar molekül olarak görev alan düşük affiniteli reseptör olan heparin veya heparan sülfat proteoglikanlara (HSPG) da bağlanırlar.

### **1.3.1. FGF-Reseptörlerinin Yapısı**

Bütün reseptör tirozin kinazlar (RTK'lar) gibi FGFR1-FGFR4, bir ekstraselüler ligand-bağlayıcı domain, bir transmembran domain ve katalitik protein tirozin kinaz (PTK) kor ve ek regülatör sekanslara sahip olan bir stoplazmik domainden oluşur (Hunter, 2000; Schlessinger, 2000).

FGFR'nin ekstraselüler ligand-bağlayıcı domaini D1-D3 olarak adlandırılan üç immunoglobulin (Ig) benzeri domain içerir; bağlayıcı (linker)'daki D1 ve D3'ü bağlayan yedi, sekiz rezidüden oluşan kısım "asit kutusu (acid box)" olarak adlandırılır ve D2'deki pozitif yüklü korunmuş bir bölge heparin için bağlanma bölgesi olarak iş görür (Schlessinger ve ark., 2000b).



**Şekil 1.1.** Bir FGFR'nin yapısı (Chaffer CL ve ark., 2007)

FGF ve heparince indüklenen FGFR dimerizasyonu ve aktivasyonunun altında yatan mekanizmayı ortaya çıkarmak için, FG1 ve FGF2 ile kompleks oluşturmuş haldeki FGFR1 ve FGFR2'nin ligand bağlayan domainlerinin kristal yapıları ve FGF/heparin/FGFR ternari kompleksinin kristal yapıları belirlenmiştir (Schlessinger ve ark., 2000b; Plotnikov ve ark., 1999; Plotnikov ve ark., 2000). Yapısal analizlerin temeline ve önceden yapılmış biyokimyasal çalışmalara dayanarak, ligand bağlanmasının FGFR'nin dimerizasyon ve aktivasyonunu nasıl indüklediği hakkında bir model tasarlamak mümkündür. X-ışını yapıları, ligand bağlanmış aktive edilmiş dimerik FGFR'nin, FGF-aracılı ve direkt reseptör-reseptör etkileşimleriyle olduğu kadar, heparinin, dimerdeki iki FGFR'nin D2 domainlerince ve iki bitişik bağlanmış FGF molekülünce oluşturulmuş pozitif yüklü bir yarığa bağlanmasıyla da stabilize edildiğini göstermiştir (Schlessinger ve ark., 2000b). Ligand bağlanmasından sonra,



FGFR'ler reseptör-aracılı dimerizasyona uğrar ve sonuç olarak stoplazmik bölgenin diğer kısımlarında ve tirozin kinaz korundaki (core) pek çok tirozin rezidüsünün transotofosforilasyonu gerçekleşir (Schlessinger, 2000).

Tirozin kinaz domaini ATP'nin  $\gamma$ -fosfatının tirozin rezidülerinin hidroksil grubuna transferini katalizleyerek, hem kinazın intrinsik katalitik aktivitesini artırır, hem de korunmuş Src Homoloji-2 (SH2) veya fosfotirozin-bağlayıcı (phosphotyrosine-binding (PTB)) domainleri aracılığıyla birçok downstream sinyal molekülünü harekete geçirir (Schlessinger ve Lemmon, 2003).

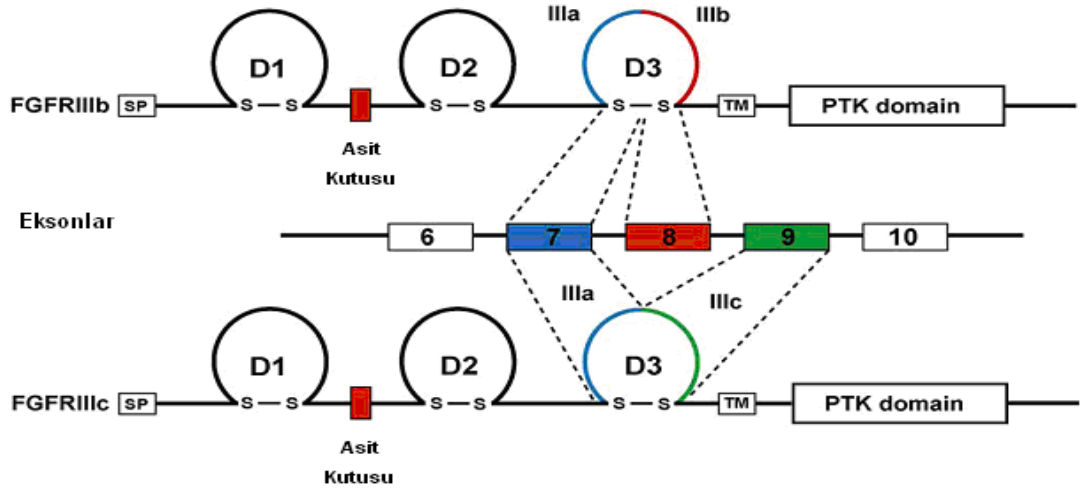
FGFR1'in tirozin kinaz domaininin X-ışını kristal yapısı, FGFR1'in inaktif durumdayken nükleotid-bağlayan ilmeğinin açılıp, aktivasyon ilmeğinin C terminalindeki rezidüler tarafından katalitik ilmeğin kapatıldığı otoinhibe edilmiş bir konformasyonda bulunduğunu ortaya koymuştur (Mohammadi ve ark., 1996). Diğer RTK'ların tirozin kinaz domainlerinin kristal yapıları çeşitli otoinhibitör konformasyonlar göstermiştir (Hubbard, 2002). Tirozin kinaz aktivitesinin hassas regülasyonunun gerekliliği, FGFR'lerin kinaz domainindeki Crouzon sendromu, Pfeiffer sendromu, Kallmann sendromu, çeşitli kanserler ve LADD sendromunu da içeren çeşitli klinik durumlardan sorumlu pek çok fonksiyon kazanımı (gain of function) ve fonksiyon kaybı (loss of function) mutasyonlarının keşfiyle açıklanmıştır (Wilkie, 2005; Lew ve ark., 2007).

FGF'lerle ve heparinle bağlanma deneyleri, her iki ligandın da, D1 ve asit kutusundan yoksun FGFR delesyon mutantlarını eksprese eden hücrelere bağlanma affinitesinin, intakt FGFR eksprese eden hücelere bağlanma affinitesinden daha fazla olduğunu göstermiştir (Wang ve ark., 1995). Pek çok deney FGFR'lerin D2 ve D3 domaininin FGF'ler için temel bağlanma yerleri olduğunu ve D1 ve asit kutusunun otoinhibitör fonksiyonu olduğunu göstermiştir. (Eswarakumar ve ark., 2005). Bütün yapılan çalışmalar göz önünde bulundurularak, FGFR'nin otoinhibe edilmiş "kapalı" konfügirasyonunun, dimerizasyon, transotofosforilasyon ve PTK aktivitesinin stimülasyonu ile oluşan aktif "açık" durumla denge halinde olduğu düşünülmüştür (Eswarakumar ve ark., 2005; Olsen ve ark., 2004).

FGFR1'in protein tirozin kinaz domaininin ATP analoguyla veya pek çok reseptör tirozin kinaz inhibitörüyle kompleks oluşturduğu belirlenmiştir (Mohammadi ve ark., 1996; Mohammadi ve ark., 1997; Mohammadi ve ark., 1998).

### 1.3.2. FGFR'nin İzofomları

RTK'lerin FGFR ailesinin önemli bir özelliği, FGFR transkriptlerinin alternatif splicingi ile pek çok FGFR izoformunun oluşturulmasıdır. Farklı FGFR izoformları iki veya üç Ig-benzeri domainden oluşan bir ekstraselüler domain içeren çözünebilir FGFR'leri ve yine ligand-bağlanma spesifikliğini tamamen değiştiren üçüncü Ig-benzeri domaininde (D3) alternatif splicingi olan FGFR izoformlarını kapsar (Miki ve ark., 1992; Yayon ve ark., 1992). D3'te alternatif splicing FGFR1, 2 ve 3'te mevcutken, FGFR4'te yoktur. FGFR2 geninin 7. ekzonu D3'ün N-terminal yarısını kodlarken ('a' olarak adlandırılır), ekzon 8 ve 9 alternatif olarak D3'ün C-terminal yarısını kodlarlar ve sırasıyla 'b' ve 'c' olarak isimlendirilirler (Şekil 1.2.). İki alternatif form farklı ligand-bağlama karakteristikleri gösterirler. Örneğin, FGFR2b FGF7 ve FGF10'a bağlanıp FGF2'ye bağlanmazken; FGFR2c izoformu FGF2 ve FGF18'e bağlanırken, FGF7 ve FGF10'a bağlanmaz. Bu izoformların farklı FGF ligandlarına spesifitesini özetlemektedir. FGFR2b (KGFR olarak da adlandırılır) izoformunun sadece epitelyal hücrelerde eksprese edildiği, FGFR2c'nin ise sadece mezenkimal hücrelerde eksprese edildiği gösterilmiştir (Orr-Urtreger ve ark., 1993). FGFR'lerin IIIb ve IIIc izoformlarının kökene-spesifik ekspresyonu, farklı FGF'lere cevap olarak, gelişme süresince epitelyal ve mezenkimal tabakalar arasında karşılıklı etkileşime imkan verir (Eswarakumar ve ark., 2005).



Şekil 1.2. FGFR izoformları (Eswarakumar ve ark., 2005)

### 1.3.3. FGF ve FGFR İzoformlarının Biyolojik Rollerini

Bilinen 22 memeli FGF'lerinin yarısından fazlasının biyolojik rolleri FGF genlerinin homolog rekombinasyonla hedeflenmesi yoluyla araştırılmıştır.

FGF'lerin farklı gelişim sistemlerindeki spesifik rolleri ve farklı doku ve hücrelerdeki ekspresyon patern analizleri birlikte değerlendirildiğinde, FGF'lerin fare gelişimi ve organogenezindeki çoğu evrede kritik roller oynadığını göstermiştir (Ornitz ve Itoh, 2001). Bu çalışmalar, FGF ailesinin bazı üyelerinin oldukça spesifik bir fenotipe yol açan çok özelleşmiş bir biyolojik role sahip olduğunu (örneğin: Angora mutant FGF5  $-/-$  faresi), veya bazı FGF'lerin kaybının FGF ailesinin diğer üyeleri tarafından kompanse edilmesiyle bariz bir fenotipe yol açmadığını (FGF1  $-/-$  farede bariz bir defekte yol açmaz) göstermiştir (Eswarakumar ve ark., 2005).

FGFR1'in hedef alınarak engellenmesi, primitif çizgi boyunca hücre migrasyonunda defektin sonucunda embriyonik lealiteye yol açar. FGFR1c izoformunun hedef alınarak engellenmesiyle de benzer bir fenotip oluşurken, FGFR1b  $-/-$  farelerde bariz bir fenotip gözlenmemiştir. FGFR2  $-/-$  farelerinin plasenta defektleri nedeniyle öldükleri gösterilmiştir. Bununla birlikte, FGFR2b izoformunun seçici engellenmesiyle akciğer, uzuvlar ve diğer dokuların gelişiminin bozulmasıyla doğumdan hemen sonra ani ölüm gerçekleşir. Diğer taraftan FGFR2c izoformunun

bozulmasıyla kafatası, kemik gelişiminde defekt olur fakat mutant fareler yaşayabilirler. Son olarak FGFR3 genindeki bozulma, kemiklerin aşırı gelişimine yol açarken, FGFR4  $-/-$  farelerde bariz bir fenotip gözlenmemiştir (Partanen ve ark., 1998; Deng ve ark., 1996; Deng ve ark., 1994; Yamaguchi ve ark., 1994; Xu ve ark., 1998; De Moerlooze v e ark., 2000; Eswarakumar ve ark., 2002; Colvin ve ark., 1996; Weinstein ve ark., 1998).

#### 1.3.4. FGF Reseptörleriyle Sinyal Yolu

FGFR'ler yoluyla sinyal iletimi, aktive edilmiş reseptör üzerindeki tirozin otofosforilasyon bölgelerine bağlanan sinyal proteinlerinin direkt uyarılmasıyla ve FGF uyarılmasına cevaben tirozin fosforile olan ve diğer sinyal proteinlerle kompleks oluşturan adaptör proteinler aracılığıyla oluşturulur. FGFR'nin stoplazmik domaini katalitik PTK kora ek olarak, pek çok düzenleyici sekansa sahiptir. FGFR'lerin juxtamembran domaini diğer reseptör kinazlarındakinden oldukça uzundur. Bu bölge, FRS2 adaptör protein ailesinin iki üyesi olan FRS2 $\alpha$  ve FRS2 $\beta$ 'nin fosfotirozin bağlayan (PTB) domainleri için bağlanma bölgesi olarak görev yapan oldukça iyi korunmuş sekanslar içerir (Ong ve ark., 2000; Dhalluin ve ark., 2000).

FRS2 $\alpha$ 'nın veya FRS2 $\beta$ 'nin PTB domainleri FGFR1'e bağlandıklarında, tirozin fosforilasyonu ve ligand stimülasyonundan bağımsız olarak, aynı PTB domainleri, NGF-reseptörünün juxtamembran domainindeki (TrkA) bir PTB domaini bağlama bölgesine (NPXpY motifi), fosforilasyon bağımlı bir mekanizmayla bağlanır. FGFR1 karboksi terminal kuyruğundaki Tyr766 'nın otoposforilasyonu fosfolipaz C $\gamma$  (PLC $\gamma$ )'ın SH2 domaini için spesifik bağlanma bölgesi oluşturur (Mohammadi ve ark., 1991; Eswarakumar ve ark., 2005).

Y766'nın mutasyonel analizi, bu tirozin rezidüsünün fosforilasyonunun PLC $\gamma$ 'nın tirozin fosforilasyonunda ve kompleks oluşturmada önemli olduğunu göstermiştir (Mohammadi ve ark., 1992), sonuçta da PLC $\gamma$ 'nın aktivasyonu, fosfotidilinositol (PI) hidrolizi, ve iki ikincil mesajcı olan diaçilgliserol (DAG) ve Ins(1,4,5)P3 oluşumu sağlanır (Falasca ve ark., 1998). PLC $\gamma$ , FGFR'lerin C-terminal kuyruğunun fosfotirozin rezidülerine yönlendirilerek, PIP2'nin DAG ve IP3'e dönüşmesi katalizlenir. DAG protein kinaz C (PKC) sinyal kaskadını aktive ederken, IP3, takip

eden Calmadulin-Calcineurin-NFAT kaskadının aktivasyonu için endoplazmik retikulumdan  $Ca^{2+}$  salınımını indükler (Katoh, 2008).

Y766'nın fenilalanine dönüştüğü mutant bir FGFR1, FGF-uyarısına cevaben PI hidrolizi ve  $Ca^{2+}$  salınımını aktive edemez. (Eswarakumar ve ark., 2005)

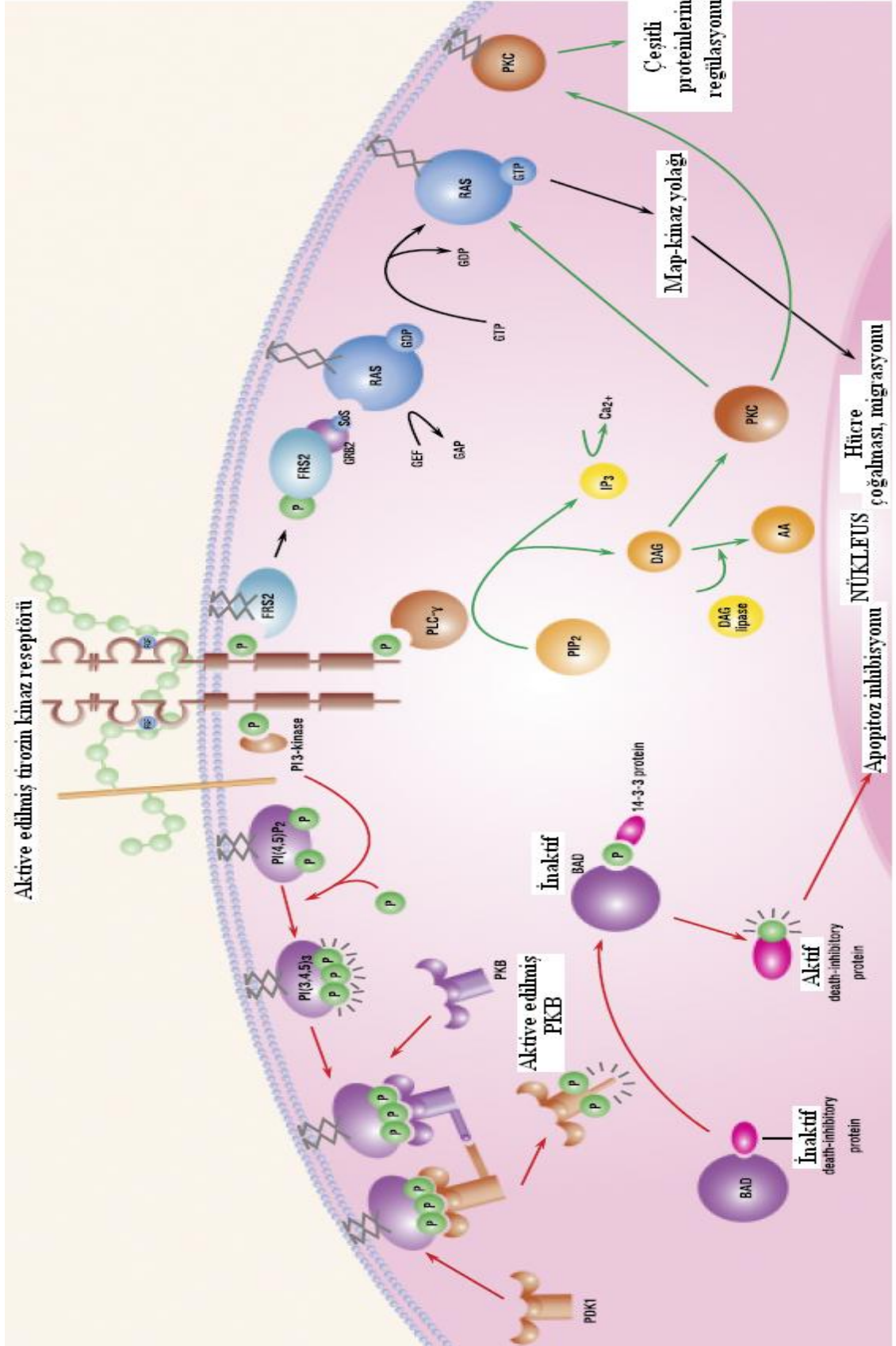
### 1.3.5. FRS2 $\alpha$ FGFR Yoluyla Sinyal İletiminde Başlıca Aracıdır

FGF-stimülasyonu FRS2 $\alpha$  ve FRS2 $\beta$  adaptör proteinlerinin tirozin fosforilasyonunu sağlar, bu da Grb2/Sos çoklu komplekslerinin Ras/MAP kinaz sinyal yolağını aktive etmek üzere uyarılmasına neden olur. Tirozin fosforile edilmiş FRS2 $\alpha$ , Gab1 adaptör proteini ve bu adaptör proteinin uyarılmasıyla harekete geçen efektör proteinleri içine alan bir multiprotein kompleksi için bir bağlanma bölgesi olarak iş görür. FRS2 proteinleri N-terminallerinde miristil bağlayıcıları ve PTB domainleri içerirken, C-terminallerinde çoklu tirozin fosforilasyon yerleri olan geniş bir bölge içerirler (Kouhara ve ark., 1997). FRS2 $\alpha$ , Grb2 adaptör proteini için dört, Shp2 protein tirozin fosfatı için iki bağlanma bölgesine sahiptir. FGF-stimülasyonu Shp2'nin tirozin fosforile olarak diğer Grb2 molekülleriyle kompleks oluşturmaya neden olur. Grb2/Sos kompleksleri böylece, Shp2 tarafından, FGF-stimülasyonuna cevaben FRS2 $\alpha$  tirozin fosforilasyonu ile direkt veya indirekt olarak uyarılırlar (Eswarakumar ve ark., 2005).

FRS2 $\alpha$   $-/-$  farelerden elde edilen embriyonik fibroblastlarla yapılan deneyler FRS2 $\alpha$ 'nın, FGF-ce indüklenmiş MAP kinaz stimülasyonunda, PI-3 kinaz stimülasyonunda, kemotaksik cevap ve hücre proliferasyonunda kritik bir rol oynadığını göstermiştir. Yine bu hücrelerle yapılan çalışmalarda Gab1 adaptör proteininin FGF-ce indüklenmiş tirozin fosforilasyonunun, FRS2 $\alpha$ 'nın tirozin fosforilasyonuna bağlı olduğu gösterilmiştir. Gab1, Grb2'nin C-terminalindeki SH3 domainine bağlanır ve Grb2/FRS2 $\alpha$  kompleksindeki birliktelik Gab1'in tirozin fosforilasyonuna neden olur ki, bu da PI-3 kinazı da içine alan sinyal proteinlerini içeren SH2 domaini komplemanının harekete geçmesini sağlar. FGF-ce indüklenmiş Gab1'in PI-3 kinazı harekete geçirmesi, Akt bağımlı anti-apoptotik yolağın aktivasyonuna neden olur (Eswarakumar ve ark., 2005).

MAP kinaz ve PI-3 kinaz aktivasyonu ve harekete geçirilmesindeki başlıca görevlerine ek olarak, FRS2 $\alpha$ 'nin, negatif regülatörlerin harekete geçirilmesinde de rol oynadığı gösterilmiştir. Grb2, tirozin fosforile edilmiş FRS2 $\alpha$ 'ya bağlanır ve Grb2'nin SH3 domainlerinin Cbl'nin proline zengin bölgesine de bağlanmasıyla bir ternari kompleks oluşur. Cbl'nin Grb2 aracılı uyarılması FGFR ve FRS2 $\alpha$ 'nin ubiquitinasyonunu sağlar. Cbl, intrinsik ubiquitin ligaz aktivitesi işlevi gören ve pek çok sinyal proteininin uyarılması için platform fonksiyonu yapan bir multidomainli proteindir (Wong ve ark., 2002). Yapılan çalışma, FRS2 $\alpha$ 'nın dengeli bir FGF sinyal transasyonu gerçekleştirmek için hem pozitif (örneğin Sos, PI-3K) hem de negatif (örneğin Cbl) sinyal proteinlerini bağladığını göstermektedir (Eswarakumar ve ark., 2005).

Tirozin fosforilasyonunun artmasıyla, FGF stimülasyonu en az sekiz treonin rezidüsünden FRS2 $\alpha$ 'nın MAP kinaz bağımlı fosforilasyonunu indükler. FRS2 $\alpha$ 'nın treonin fosforilasyonu ile birlikte, tirozin fosforilasyonu azalır, Grb2 uyarılması ve MAP kinaz cevabının atenuasyonu azalır (Lax ve ark., 2002).

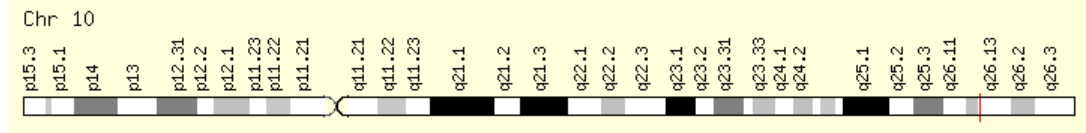


**Şekil 1.3.** FGF reseptörleriyle sinyal yolu (Chaffer CL ve ark., 2007)

### 1.3.6. FGFR2 Geni ve Alternatif Splicingi

Kromozom 10q26'da bulunan insan FGFR2 geni 21 eksondan oluşur. FGFR2 geni, birbirini dışlayan eksonların alternatif splicinginden dolayı Fgfr2 IIIb (Fgfr2b) ve Fgfr2 IIIc (Fgfr2c) izoformlarını kodlamaktadır. FGFR2b izoformu baskın olarak epitelyal hücrelerde ekspresse edilirken, FGFR2c izoformu mezenkimal hücrelerde fazladır. Ornitz ve arkadaşları FGF'lerin her bir FGFR izoformuna olan affinitelerini araştırmıştır. FGFR2b, FGF1, FGF3, FGF7, FGF10 ve FGF22 için yüksek affiniteli bir reseptörken; FGFR2c, FGF1, FGF2, FGF4, FGF6, FGF9, FGF16 ve FGF20 için yüksek affiniteli bir reseptördür (Ornitz ve ark., 1996; Zhang ve ark., 2006).

FGFR2b izoformu 1-6, 8, 9, 11-19 ve 21. eksonları içerirken, FGFR2c izoformu 1-6, 8, 10-19 ve 21. eksonları içerir. Fgfr2b ve Fgfr2c üçüncü Ig-benzeri domainin ikinci yarısı hariç neredeyse aynıdır (Dionne ve ark., 1990; Miki ve ark., 1991; Katoh ve ark., 1992). Üçüncü Ig-benzeri domainin ikinci yarısına karşılık gelen ekson 9 ve ekson 10 sırasıyla FGFR2b ve FGFR2c'de kullanılır (Katoh ve Katoh, 2003). İntron 8 içindeki splicing susturucu ve aktive edici sekanslar, ekson 9 splicinginin düzenlenmesinde rol oynarlar (Carstens ve ark., 2000).



**Şekil 1.4.** FGFR2 geninin kromozom 10q26'daki lokalizasyonu ([http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Location/View?g=ENSG00000066468](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Location/View?g=ENSG00000066468))

### 1.3.7. Embriyogenez ve Erişkin Doku Homeostazında FGFR2 Sinyali

FGF7, fibroblastlar, düz kas hücreleri, endotel hücreler, deri dermisi ve  $\gamma\delta$ T hücreleri gibi pek çok mezenkimal hücre tarafından salgılanır (Finch ve ark., 1989; Boismenu ve Havran, 1994). Mezenkimal hücrelerde FGF7 transkripsiyonu, trombositlerden derive olan PDGF ve polimorfonükleer lökositlerden veya makrofajlardan derive olan TNF- $\alpha$  ve IL-1, IL1 $\beta$  tarafından upregüle edilir (Brauchle ve ark., 1994). FGFR2b gastrointestinal epitelyum, meme bezi epitelyumu,



urotelyum ve epidermal keratinositlerde ekspresse olduğu için (Housley ve ark., 1994), FGF7-FGFR2b sinyali yara iyileşmesinde ve erişkin dokuların mukozal tamirinde görev yapmaktadır. FGF10 embriyogenez boyunca mezenkimal hücrelerden salınır. FGF10, akciğer tomurcuklarında FGF10 üreten mezenkimal hücrelere doğru epitelyal migrasyonu *Tgtp*, *Numb*, *Bmpr1a*, *Ctnnb1*, *Tacstd2*, *Tm4sf3*, *Vnn1*, ve *Myh7*'nin upregülasyonu ile aktive eder (Arman ve ark., 1999; Lu ve ark., 2005). FGF10, FGFR2b sinyalini ektoderm yüzeyinde, uzuv tomurcuklarının gelişimini başlatmak için ve uzuv oluşumunda apikal ektodermal sırtın meydana gelmesi için aktive eder (Revest ve ark., 2001). FGF10 embriyogenez boyunca, mesoderm-den-derive hücrelerden salınarak, endoderm veya ektoderm-derive bitişik hücrelerde FGFR2b sinyalini aktive eder. FGF10-FGFR2b sinyali akciğer, mide, pankreas, çekum, uzuv, timus, tiroid, hipofiz bezi, tükürük bezi, iç kulak, diş ve deri gibi embriyonik dokuların morfogenezinde görev alır (Katoh, 2008).

FGF22 serebellar granül hücrelerinden salgılanarak, FGFR2b ekspresse eden pontin ve vestibular nöronların aksonlarını uyarır. FGF22-FGFR2b sinyali, FGF22 salgılayan hücrelere akson ulaşımını indükleyerek, sinaps oluşumunu organize eder. FGFR2 geni Crouzon Sendromu, Jackson-Weiss Sendromu, Apert Sendromu, Pfeiffer Sendromu ve Beare-Stevenson Sendromu gibi konjenital iskelet anomalilerinde mutasyona uğramıştır (Wilkie, 1994; Reardon ve ark., 1994; Jabs ve ark., 1994; Passos-Bueno ve ark., 1999).

FGFR2 geninin missens mutasyonları, ikinci ve üçüncü Ig-benzeri domainin menteşe bölgesine, FGFR2c izoformunun üçüncü Ig-benzeri domainine ve tirozin kinaz domainine kümelenmiştir. Menteşe bölgesi ve üçüncü Ig-benzeri bölgedeki missens FGFR2 mutasyonları, FGFR2'nin ligand-reseptör spesifitesini değiştirirken, tirozin kinaz domainindekiler liganda bağlı olmayan FGFR2 aktivasyonunu indüklerler (Katoh, 2008).

Paznekas ve arkadaşları, kraniosinostozis ve uzuv anomalileriyle karakterize Saethre-Chotzen sendromunda TWIST1/TWIST'de fonksiyon kaybı mutasyonları, FGFR2 veya FGFR3'te fonksiyon kazanımı mutasyonları bildirmiştir (Paznekas ve ark., 1998). TWIST1, FGFR2 geninin promoter bölgesi içindeki E-box'a bağlanan, bazik heliks-ilmek-heliks (bHLH) domaini olan dokuya spesifik bir transkripsiyon

faktörüdür. TWIST1 homodimeri, FGFR2 upregülasyonunu indüklerken, TWIST1 heterodimeri ve E2A-ilşkili proteinler indüklemezler. TWIST1 FGFR2'nin ekspresyonunu E2A-ilşkili proteinlerin ekspresyon seviyelerine dayanan koşula-bağımlı bir yolla regüle eder (Kato, 2008).

### 1.3.8. FGFR2'nin Diğer Sinyal Kaskadlarıyla İlişkisi

WNT ailesi üyeleri, embriyogenez ve karsinogenez boyunca anahtar roller oynayan salgılanmış glikoproteinlerdir (Kato, 2002; Nusse, 2003; Moon ve ark., 2004; Clevers, 2006). WNT sinyalleri klasik veya alternatif şarta-bağımlı sinyel kaskadlarına dönüştürülür (Kato, 2007). MMTV-WNT1 transgenik farede mamal karsinogenez FGF3-FGF4 veya FGF8 lokusu etrafında MMTV entegrasyonu, MMTV-FGF3 transgenik farelerde ise WNT1-WNT10B lokusu etrafında MMTV entegrasyonu ile ilişkilendirilir (Shackleford ve ark., 1993; Lee ve ark., 1995). WNT10B sinyali adiposit diferensiyasyonunu inhibe edip, osteoblast diferensiyasyonunu artırırken, FGF10-FGFR2 sinyali osteoblast diferensiyasyonunu inhibe edip, adiposit diferensiyasyonunu artırır (Raucci ve ark., 2008). Osteogenez ve adipogenez boyunca FGF sinyalleri klasik WNT sinyallerini önlemesine rağmen, karsinogenez sürecinde, FGF ve klasik WNT sinyalleri sinerjik hareket ederler (Chamorro ve ark., 2005; Kato ve Kato, 2006).

Notch sinyalleri HES1, HES5, HEY1, HEY2 ve HEYL genlerinin transkripsiyonal aktivasyonu ile, kök hücre ve progenitor hücre popülasyonlarının regülasyonunu gerçekleştirir (Artavanis-Tsakonas ve ark., 1999; Radtke ve Raj, 2003; Kato ve Kato, 2007a; Kato ve Kato, 2007b). Fare somitogenezinde, FGF sinyel aktivasyonunu NOTCH ve WNT sinyali izler, ve sonra NOTCH sinyali aktivasyonu, FGF sinyel reaktivasyonu için, bir FGF inhibitörü olan DUSP4'ü baskılamak amacıyla HES7 ekspresyonunu indükler (Wahl ve ark., 2007; Niwa ve ark., 2007). Timik gelişim süresince, TP63 izoformu olan  $\Delta Np63$  tarafından FGFR2 ve NOTCH ligandı JAG2, birlikte indüklenir (Candi ve ark., 2007). FGF10-FGFR2b sinyali gelişen gastrik bezde HES1 upregülasyonunu indüklemesine rağmen, mekanizmanın tamamı bilinmemektedir (Nyeng ve ark., 2007). Embriyogenez boyunca FGFR2 ve NOTCH sinyali kaskadlarının ilişkisi anahtar bir rol oynar.

FGF, WNT, Notch ve Hedgehog sinyal ağı arasındaki denge, kök hücre ve progenitor hücreler arasındaki homeostasinin korunması için önemlidir. Kök hücre sinyal ağının bozulması, konjenital hastalıklar ve kanser gibi patolojik durumlarla sonuçlanır (Katoh, 2007).

### **1.3.9. Kanserde FGFR2'nin Genetiği ve Genomiği**

Easton ve arkadaşları (Easton ve ark., 2007) ve Hunter ve arkadaşları (Hunter ve ark., 2007) FGFR2 geninin tek nükleotid polimorfizmleri (TNP=SNP'ler) ile yüksek meme kanseri riski arasında, yaptıkları genome-wide asosiasyon çalışmalarında asosiasyon bildirmiş ve Huijts ve arkadaşları aday-gen yaklaşımı kullanarak bu asosiasyonu doğrulamıştır (Huijts, 2007). Meme kanseri şüphesiyle asosiasyon gösteren 5 SNP, FGFR2 geninin intron 2 bölgesinde lokalize olmuştur, bununla birlikte, bu SNP'lere sahip hastalarda mamal karsinogenezin mekanizması açıklanamamıştır (Katoh, 2008).

FGFR2 geninin missens mutasyonu, meme kanserinde, gastrik kanserde, akciğer kanserinde, ovaryum kanserinde gözlenmektedir ve FGFR2 geninin menteşe bölgesi ve üçüncü Ig-benzeri bölgesinde kümelenmiştir (Jang ve ark., 2001; Davies ve ark., 2005; Pollock ve ark., 2007). Endometriyal uterus kanserindeki I547V, N549K, ve K659E mutasyonları FGFR2'nin kinaz domaininde toplanmıştır (Pollock ve ark., 2007). FGFR2'nin üçüncü Ig-benzeri bölgesi etrafındaki missens mutasyonlar, değişmiş ligand reseptör spesifikliğı nedeniyle FGF otokrin ilmeğini oluşturduğu için onkogenik FGFR aktivasyonunu indüklerken, tirozin kinaz domaininde oluşan mutasyonlar ise ligand bağımsızlığı özelliğı kazandırdıkları için onkogenik FGFR aktivasyonunu indüklerler (Katoh, 2008).

Gen amplifikasyonu ve FGFR2'nin overekspresyonu, insan meme kanseri ve gastrik kanserde meydana gelir (Adnane ve ark., 1991; Katoh ve Terada, 1993). FGFR2 geninin 20. ve 21. eksonları, FGFR2 izoformlarının C-terminal bölgesini kodlayan, alternatif son eksonlarıdır. Ekson 21'li yabancı tip FGFR2 transkriptleri, normal hücrelerde ve çoğu tümör hücrelerinde ekspresse edilirken, ekson 20'li anormal FGFR2 transkriptleri, FGFR2 amplikonundan 21. eksonun devre dışı kalmasıyla, FGFR2 gen amplifikasyonu olan olgularda overekspresyona uğramıştır (Katoh ve

Katoh, 2003). Yabancı tip FGFR2 izoformlarının, Y769, Y779, Y783, Y805, ve Y812'si, C-terminali delesyona uğramış FGFR2 izoformlarında kaybolmuştur. Fosforile olmuş Y769, PLC $\gamma$  ve SHB adaptör molekülü için bağlanma bölgesidir. Yabancı tip FGFR2b, liganda-bağımlı bir şekilde geçici olarak FRS2'yi fosforile ederken, C-terminali delesyona uğramış FGFR2b, FRS2'yi ligandan-bağımsız olarak, yapısal olarak fosforile eder (Moffa ve ark., 2004). FGFR2 gen amplifikasyonu, downstream sinyallerin kalitatif ve kantitatif değişiminin yanı sıra ligand bağımsızlığı özelliğinin de kazanılmasıyla, daha malign bir fenotipe yol açar. FGFR2b'nin FGFR2c'ye dönüşümü, prostat kanseri ve mesane kanserinin ilerlemesi süresince oluşur (Chaffer ve ark., 2007; Carstens ve ark., 1997). Düşük FGFR2b düzeyi olan prostat ve mesane kanseri, invazyon ve metastaz potansiyelinin artmasından dolayı daha zayıf prognoz gösterir. FGFR2b'nin prostat ve mesane kanseri hücre hatlarında yeniden-ekspresye olması, in vitroda azalmış proliferasyon, in vivo da azalmış tümörögenез ile sonuçlanır (Matsubara ve ark., 1998; Ricol ve ark., 1999). Mekanizma tam olarak bilinmemesine rağmen, çok basamaklı karsinogenез boyunca, FGFR2'nin kasıtlı dönüşümü, FGF otokrin ilmeğinin oluşmasına neden olan değişmiş ligand-reseptör spesifikliğı sebebiyle, daha malign fenotiple sonuçlanır (Katoh, 2008).

FGFR2 geninin 2. intronunda bulunan sekiz SNP (rs35054928, rs2981578, rs2912778, rs2912781, rs35393331, rs10736303, rs7895676 ve rs33971856) yüksek meme kanseri riskiyle asosiasyon göstermektedir (Easton ve ark., 2007; Hunter ve ark., 2007; Huijts ve ark., 2007; Meyer ve ark., 2008). POU (Oct)-bağlama bölgesi, rs35054928 ve rs2981578'ye bitişik yer almaktadır ve muhtemel RUNX-bağlama bölgesi rs2981578 risk allelinin üzerinde bulunmaktadır. Muhtemel östrojen reseptör (ER)-bağlama bölgesi rs10736303 risk allelinin üzerinde bulunmaktadır. Muhtemel C/EBP $\beta$ -bağlama bölgesi rs7895676 risk allelinde kaybolmuştur. Meme kanseriyle birliktelik gösteren rs2981578 allelinin FGFR2 upregülasyonu ile asosiasyon gösterdiği bildirilmesine rağmen (Meyer ve ark., 2008), FGFR2 upregülasyonunun, intron 2'deki muhtemel enhancer bölgeyi içeren FGFR2 risk allelinde nasıl indüklendiğı anlaşılamamıştır.

Meme kanseriyle birliktelik gösteren rs2981578 alleli, endometrial uterus kanseriyle düşük bir asosiasyon gösterirken (McGrath ve ark., 2008), epitelyal ovaryum

kanseriyle asosiasyon göstermez. Karsinogenik senaryo ve genetik temelin çeşitliliğinden dolayı, FGFR2 SNP'leri ve pek çok kanser çeşidiyle olan asosiasyonu dünyadaki pek çok popülasyonda araştırılmalıdır (Katoh, 2008).

### **1.3.10. Anti-onkogenik FGFR2b**

FGFR2b'den FGFR2c'ye geçiş prostat kanseri ve mesane kanserinin ilerleme sürecinde görülür (Chaffer ve ark., 2007), buna invazyon ve metastaz için artan potansiyelle birlikte epitelyalden mezankimale geçiş eşlik eder (EMT) (Thiery, 2002; Shook ve Keller, 2003; Lee ve ark., 2006; Katoh, 2005; Katoh ve Katoh, 2008). FGFR2b prostat kanseri ve mesane kanserinde anti-onkogeniktir. (Katoh ve Katoh, 2009). Yapılan çalışmalar, farelerde deri epidermisinde FGFR2'nin kaybının kimyasal karsinogeneze duyarlılığı artırdığını göstermiştir (Grose ve ark., 2007). FGF7 ve FGF10, yara iyileşmesi sürecinde epidermisteki  $\gamma\delta$ T hücreleri tarafından salınır (Jameson ve ark., 2002), yapılan çalışmada bu hücreleri olmayan fareler deri karsinogenezine duyarlı hale gelmiştir (Girardi ve ark., 2001). Bütün bunlar, FGFR2b sinyalinin inaktive edilmesinin fare deri karsinogenezini tetiklediğini ortaya koymaktadır (Katoh ve Katoh, 2009).

Nfe2l2 (Nrf2), deri epidermisinde FGFR2b sinyal yolağının hedef genlerinden biridir (Katoh ve Katoh, 2009). Nfe2l2 geni temel bir lüsin fermuarı (bZIP) transkripsiyon faktörü olan Nfe2l2'yi kodlar. Nfe2l2 stressiz koşulda Keap1-aracılı ubiquitinasyon nedeniyle downregüle edildiğinden, çevresel veya endojen reaktif oksijen türleri (ROS) varlığında yapısal modifikasyona uğrayarak, Keap1-ce indüklenmiş yıkıma uğramaz (Tong ve ark., 2006). Stabilize Nfe2l2, karsinojenleri non-karsinojenik kimyasallara katalizleyen antioksidan enzimleri kodlayan hedef genlere, antioksidan (ROS-detoksifiye edici) yanıt elemanlarına bağlanır. Fgfr2b sinyali kriyoproteksiyonda görevli Nfe2l2'yi upregüle ettiği için delesyon veya spliceosome disregülasyonu nedeniyle FGFR2 sinyalinin kaybı karsinogenezini ivmelendirir (Katoh ve Katoh, 2009).

### 1.3.11. Kanseroz Olmayan Hastalıklarda FGFR2

FGFR2 geninin missens aktive edici mutasyonları, kısa-uzuv kemik displazisi (kraniyosinostozis), ve her bir sendroma spesifik olan Crouzonoid yüz, kemik sindaktilisi, uzuv anomalileri, kutis girata ile kendini gösteren konjenital iskelet bozuklukları olan Crouzon sendromu, Jackson-Weiss sendromu, Apert sendromu, Pfeiffer sendromu ve Beare-Stevenson sendromunda görülmektedir (Katoh, 2008; Reardon ve ark., 1994; Jabs ve ark., 1994; Passos-Bueno ve ark., 1999). FGFR2 geninin missens mutasyonları, iskelet gelişimi sürecinde anormal FGFR2 sinyal aktivasyonunu indükler.

FGFR2 geninin 3' flanking bölgesinde lokalize olan bir SNP (rs17101921)'nin, 10 olguluk bir analize dayandırılarak şizofreniyle asosiasyon gösterdiği iddia edilmektedir (O'Donovan ve ark., 2009), bununla birlikte sonuca ulaşmak için, 1000'den daha fazla olgu ve kontrolün kullanılması gereklidir. FGFR2 ve WDR11 genleri, insanlarda kromozom 10q26'daki rekombinasyon hot spotunun etrafında kümelendiği için (Katoh ve Katoh, 2003), rs17101921 SNP'siyle asosiasyon gösteren etken genin hangisi olduğu belirzistir. FGF22-FGFR2b sinyal kaskadının embriyogenez sürecinde sinaps oluşumuna katılması önemlidir. FGF22-FGFR2b sinyal komponentleri kodlayan genlerin SNP'lerini araştırmada aday yaklaşımı şizofreniyle asosiasyon gösteren yeni etken genleri belirlemede faydalı olabilir (Katoh ve Katoh, 2009).

### 1.3.12. FGFR2'yi Hedef Alan Terapötikler

PD173074, SU5402, AZD2171 ve Ki23057 küçük-moleküllü FGFR inhibitörleridir. İnsan antikoru, peptit mimetik, RNA aptameri, siRNA ve sentetik miRNA FGFR2'yi hedef alan kanser terapötikleri için uygulanabilecek gelişen teknolojilerdir (Katoh ve Katoh, 2009). FGFR2 mutasyonları veya gen amplifikasyonları olan hastalarda kanser tedavisi için FGFR2 inhibitörlerini uygulamak faydalı olacaktır, bununla birlikte, FGFR2 risk alleli olanlarda kanser önlenmesi için bu uygulama, oksidatif strese karşı bir kriyoprotektif mekanizmanın bozulması nedeniyle dezavantajlı olabilir.

Peptit mimetik, transmembran reseptörleri için agonist ve antagonist geliştirmek için gelecek vadeden bir stratejidir. Dekafinler, FGFR1c veya FGFR2b ile asosiasyon gösteren FGF mimetik peptidlerdir (Li ve ark., 2008).

RNA aptamerleri hedef proteine spesifik sıkı bağlantı gerçekleştirmek için stabil üç boyutlu yapı oluşturan kısa RNA oligonükleotidleridir. (Ulrich, 2005; Lee ve ark., 2006; Ireson ve Kelland, 2006; Reichert ve ark., 2005). FGFR2 kinaz domainini veya FGFR2-FRS ara birimini hedef alan RNA aptamerleri yeni FGFR2 sinyal inhibitörleri olarak geliştirilecekken, FGFR2 ekstraselüler bölgesini hedef alacaklar, immunoterapide insan antikollarının yerine geçmesi için, tümörü hedef alan ilacın iletiminde işe karışması için geliştirilecektir (Katoh ve Katoh, 2009).

Fire ve arkadaşarı 1998'de çift zincirli RNA kullanarak, RNA represyonu gerçekleştirmişlerdir (Fire ve ark., 1998). 2001'de Elbashir ve arkadaşarı siRNA kullanarak RNA represyonu gerçekleştirmişlerdir (Elbashir ve ark., 2001). 2007'de Liang ve arkadaşarı RNA represyonunu sentetik miRNA kullanarak gerçekleştirmişlerdir (Liang ve ark., 2007). siRNA ve sentetik miRNA'nın protein ekspresyonunu hedef mRNA'yı yıkarak veya translasyonel represyonla kontrol etmesi kanser terapötikleri için gelecek vadeden gelişmeler olmakla birlikte, klinik uygulamaya geçilmeden önce hedef dışı etkilerinden kaçınmanın ve tümöre spesifik iletim sistemine yönlendirilmenin gerçekleştirilmesi gerekir (Katoh ve Katoh, 2009).

#### **1.4. B7 Ailesi Molekülleri ve Fonksiyonları**

B7-benzeri moleküller immunoglobulin (Ig) süper ailesine aittir. B7-benzeri moleküllerin ekstraselüler kısmı, tekli IgV (variable) ve IgC (constant) domaini ve yaklaşık %20-40 ortak amino asit içerirler. T hücrelerindeki counter-reseptörlerine bağlanarak, B7-benzeri moleküller antijen-spesifik immun cevabın kontrolü ve ayarlanmasında kritik roller oynarlar (Sica ve ark., 2003).

T hücre aktivasyonu ve toleransı tesadüf oluşumlar değildir. APC ve T hücreler arasındaki etkileşimleri regüle etmek için, pek çok molekül organize bir sistem oluşturur. Bu etkileşim iki-sinyal modeli (two-signal model) ile açıklanır. Buna göre birinci sinyal T hücrelerin T-hücre reseptörlerine, APC'ler tarafından ekprese edilen MHC molekülleri üzerindeki spesifik antijenlerin sunulmasıyla sağlanırken, ikinci sinyal, APC'lerin T hücre cevabını yönetmek ve/veya düzenlemek için kullandığı B7

ailesi ve diğer ko-stimülatör proteinler tarafından oluşturulur. Büyüyen B7 ailesi yedi üye içermektedir; CD80 (B7.1 olarak da bilinir), CD86 (B7.2), B7-DC (PD-L1 veya CD274), B7-H1, B7-H2 (ICOSL), B7-H3 (CD276) ve B7-H4 (B7S1 veya B7X veya VTNC1) (Chen, 2004; Korman ve ark., 2006; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/608162>). B7 moleküllerinin T-hücre aktivasyonunu desteklemek ve stimüle etmek için önemli pozitif sinyal sağlamakla kalmayıp, T-hücre cevabını baskılayan ve kontrol eden negatif sinyaller de oluşturduğu ortaya konmuştur (Chen, 2004; Sharpe ve Freeman, 2002). Bu negatif sinyaller çoğunlukla yeni tanımlanan B7 üyeleri B7-H1 ve B7-H4 tarafından sağlanır (Zou ve Chen, 2008).

B7-1(CD80)/B7-2(CD86) ligandlarıyla CD28/CTLA-4(CD152) reseptörleri arasındaki etkileşimler klasik bir yolak gösterir. B7'ler hem büyümeyi hem de enerji engellemesini birlikte uyarırken, CD28 reseptörleriyle T hücrelerin sağ kalımını devam ettirir. Bununla birlikte B7'ler varsayılan bir negatif sinyal dağıtarak T hücre cevabını inhibe eder (Chambers ve ark., 2001). Bu yolağın manipüle edilmesinin hem humoral hem de hücre-aracılı immun cevap üzerinde varsayılan etkileri vardır. Örneğin, B7-1/B7-2 gen transferi, veya CTLA-4 nötralize edici antikorunun verilmesi, tümör immunitasını harekete geçirirken, mAb veya CTLA-4Ig'ni nötralize eden B7-1/B7-2 yolağının bloke edilmesi otoimmün hastalıkları ve transplantasyonun reddedilmesini engeller (Salomon ve Bluestone, 2001).

Son zamanlarda yeni bir B7-1/B7-DC/PD-1 yolağı tanımlanmıştır. B7-H1, EST (Expressed Sequence Tags-Genebank-NCBI) veritabanı araştırmasında, B7'lerle olan homolojilerine dayanarak tanımlanmıştır. B7-H1'in T hücrelerine bağlanması in vitro'da IL-10 ve interferon- $\gamma$ 'nın sekresyonunun tercihi seçimini ve gelişmeyi birlikte stimüle ederken, in vivo'da T-helper hücre cevabını ve antikorları yönlendirir (Dong ve ark., 1999; Tamura ve ark., 2001). B7-H1 ile homoloji gösteren B7-DC, dentritik hücrelere spesifik transkriptler araştırılırken substraktif hibridizasyon metoduyla orijinal olarak tanımlanmıştır (Tseng ve ark., 2001). Hem B7-H1 hem de B7-DC programmed death 1 (programlanmış ölüm 1=PD-1) reseptörüne bağlanma yeteneğine sahiptir (Freeman ve ark., 2000). PD-1'den yoksun farelerin spontan olarak sistemik ve organ-spesifik otoimmün hastalık geliştirmeleri (Nishimura ve ark., 1999.), PD-1'in T hücre cevabındaki negatif regülasyon rolünü



desteklemektedir. Hem B7-H1 hem de B7-DC'in yeni T hücreler için kostimülatör oldukları bulunurken (Dong ve ark., 1999), diğer çalışmalarda aktif T hücrelerin proliferasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Freeman ve ark., 2000; Latchman ve ark., 2001). B7-1 ve B7-DC'nin her ikisinin de PD-1 yoluyla fonksiyon gösterdiği düşünüldüğünde, bu asosiyasyonu yansıtması açısından bu moleküller sırasıyla PDL1 ve PD-L2 olarak yeniden isimlendirilmiştir (Freeman ve ark., 2000), bununla birlikte bu hipotez tüm deneysel bulgularla entegrasyon göstermemiştir. B7-H1 tarafından T hücre kostimülasyonu muhtemelen başka bir reseptör aracılığıyla sağlanmaktadır (Dong ve ark., 2002). Bu en iyi şu durumla ortaya konabilir; PD-1'e bağlanma yeteneğini kaybetmiş B7-1 ve B7-DC mutantları, yine T hücreler için kostimülatör olmayı sürdürmektedir (Wang ve ark., 2003) ve hem B7-1 hem de B7-DC, PD-1 -/- T hücrelerini kostimüle edebilmektedir. (Wang ve ark., 2003; Shin ve ark., 2003). Önemlidir ki, B7-H1 insan kanserlerinin çoğunda ve bazı fare tümör hatlarında eksprese olur, aktif insan T hücrelerinin apoptoza gitmelerini sağlar ve fare tümörlerini T hücre saldırısına karşı dirençli kılar (Dong ve ark., 2002; Iwai ve ark., 2002).

B7h/B7RP-1 (B7-H2, GL-50, ICOS ligand, LICOS) bağımsız olarak en az altı çalışma tarafından tanımlanmıştır (Carreno ve Collins, 2002). B7h/B7RP-1 reseptörleri fare ve insan için indüklenebilir bir kostimülatör (ICOS) olarak belirlendiğinde (Hutloff ve ark., 1999), konuya olan ilgi artmıştır. Moleküler modelleme çalışmaları ICOS'un CD28'e benzer bir yapısı olduğunu ve primer olarak aktive edilmiş T hücreleri ve dinlenme halindeki hafıza T hücrelerinde eksprese edildiğini göstermiştir (Hutloff ve ark., 1999). ICOS ve B7h/B7RP-1 arasındaki etkileşim, fare modellerinde T-helper bağımlı antikor üretiminin düzenlenmesi, Th1 ve Th2 sitokin sekresyonu ve hücre-aracılı immun cevapta kritik roller oynar (Carreno ve Collins, 2002). Bununla birlikte, son zamanlarda yaygın değişken immun yetmezliği olan hastalardaki çalışmalar ICOS'un homozigot kaybının defektif T hücre cevabına yol açmadığı halde, B hücrelerin cevaba yanaştığını ortaya koymuştur (Grimbacher ve ark., 2003). Son zamanlarda, yeni bir B7-benzeri molekül B7-H3 tanımlanmıştır (Chapoval ve ark., 2001). B7-H3, T hücre proliferasyonunu kostimüle eder, IFN- $\gamma$ 'nın seçici olarak indüklenmesini gerçekleştirir, gelişmeyi sağlar, allogeneik antijenlere karşı CD<sup>+</sup> CTL farklılaşmasını sağlar ki bu da, B7-

H3'ün tercihi olarak selüler immun cevabı kostimüle edebileceğini ortaya koymaktadır. Sica ve ark. çalışmalarında T hücre cevabında oldukça fazla inhibitör fonksiyonu olan, B7-benzeri bir molekül olan "B7-H4" anlatılmıştır (Sica ve ark., 2003).

#### 1.4.1. B7-H4 Geni ve Fonksiyonu

CD80, CD86'yı içeren "klasik" B7 ailesinin ve onların reseptörleri olan CD28 ve sitotoksik T-lenfosit antijen-4 (CTLA-4)'ün başlıca fonksiyonu, T-hücre reseptörü (TCR)-aracılı antijenik sinyalle, T-hücre cevabının başlangıç evresinde pozitif ve/veya negatif ko-sinyal oluşturmaktır. Daha yeni bir zamanda tanımlanan, B7-H1, B7-DC, B7-H2, B7-H3 VE B7H4'ü içine alan B7-homolog molekülleri, bununla birlikte, adaptif immun sistemde çok daha farklı görevleri olan bir molekül sınıfını temsil eder. Dahası, bu moleküller adaptif immun sistemin ötesinde immun cevabın kontrolünde kritik roller de oynarlar. Pek çok dokuda ve hücrede eksprese edilen B7-H4'ün T-hücre cevabına ilaveten nötrofil progenitörlerinin büyümesini baskılayarak konakçının doğal cevabını regüle ettiği keşfedilmiştir. B7-H3'ün immunoregülatör fonksiyonuna ek olarak osteopoiesisi düzenlediği gösterilmiştir. (Yi ve Chen, 2009). Sica ve arkadaşları B7 ailesi IgV ve IgC domainlerini içeren sekanslar için EST veritabanı araştırmalarını takiben bir plasenta cDNA kütüphanesini tarayarak, B7-H4 kodlayan bir cDNA izole etmişlerdir. 282 amino asitten oluştuğu tahmin edilen protein %87 fare proteiniyle benzerlik gösterip, 2-amino asitlik intraselüler domain, büyük bir hidrofobik tip I transmembran bölge, pek çok N-glikozilasyon bölgeleri ve korunmuş sistein rezüdüleri olan bir ekstraselüler domain içermektedir. Northern blot analizi 1,8 kb'lik transkriptin dalak, akciğer ve timüste eksprese edildiğini ortaya koyarken, RT-PCR analizi pek çok dokuda ekspresyon saptamıştır. İmmunohistokimyasal ve flow sitometrik analizler ekspresyonu aktif T hücrelerde gösterirken, yeni T hücrelerde, B hücrelerde, monositlerde ve dentritik hücrelerde göstermemiştir.

Sica ve ark.'dan bağımsız olarak Zeng ve ark. 'da fare ve insan B7-H4'ünü tanımlamış ve karakterize etmiş ve B7X olarak isimlendirmişlerdir. Yine Sica ve

ark.'dan bağımsız olarak Prasad ve ark., B7S1 olarak isimlendirdikleri B7-H4'ü tanımlamış ve karakterize etmişlerdir (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/608162>). İnsan B7-H4 geni 1. kromozoma haritalanmıştır (1p13.1), 66kb'lık bir bölgeyi kapsayan 6 ekson ve 5 introndan oluşur. 6. ekson 2 farklı transkript oluşturmak üzere alternatif splicingte kullanılır (Cheng ve ark., 2009).



**Şekil 1.5.** B7-H4 geninin kromozom 1p13.1'deki lokalizasyonu

([http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Location/View?g=ENSG00000134258;r=1:117686209-117753556;t=ENST00000369458](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Location/View?g=ENSG00000134258;r=1:117686209-117753556;t=ENST00000369458))

B7-H4'ün ~20kb ve ~800bp olan iki transkripti vardır. Daha büyük olan transkript baskındır ve 3' translasyona uğramayan bölgesi (UTR) splicinge uğramış olan küçükten farklıdır. İki transkript arasındaki 3' UTR farklılığının B7-H4 protein sentezinin verimliliğini etkilemesi muhtemeldir (Zhang ve ark., 2009).

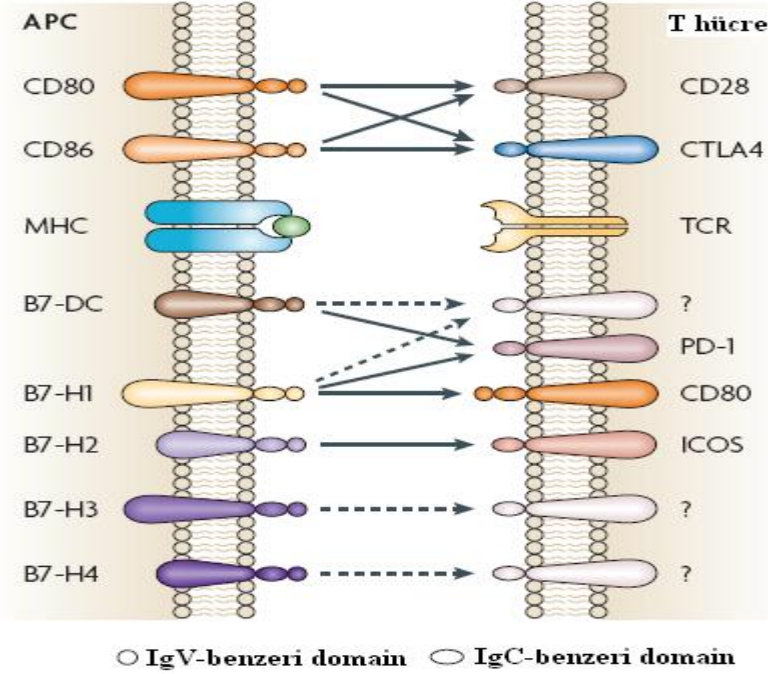
Sica ve ark. B7-H4'ün T hücre aktivitesini ve IL2 ve IL10'un üretimini inhibe ettiğini bildirmiş, *in vitro*'da sitolitik T lenfositlerin (CTL'ler) indüksiyonunu inhibe ettiğini ve T hücrelerin hücre siklusunu G0/G1 fazında durdurduğunu göstermişlerdir (Sica ve ark., 2003).

B7-H4 mRNA'sı fare ve insan periferal dokularında yaygın bir dağılım gösterirken, B7-H4 proteininin hücre yüzeyi ekspresyonu sınırlıdır ve hematopoietik hücrelerde indüklenebilir bir pattern sergiler. B7-H4'ün varsayılan reseptörleri, aktif T hücrelerinde upregüle edilebilir. Hücre siklusunu durdurarak, T hücrelerine B7-H4 bağlanmasının büyüme, sitokin sekresyonu ve sitotoksitenin gelişmesi üzerinde büyük bir inhibitör etkisi vardır. B7-H4Ig'nin farelere verilmesi antijen-spesifik T hücre cevabını bozarken, endojen B7-H4'ün spesifik monoklonal antikorla blokajı, T hücre cevabını indükler (Sica ve ark., 2003).

B7-H4 ekspresyonunun regülasyonu, sadece insan sisteminde çalışılmıştır. IL-6 ve IL-10, monositleri, makrofajları ve myeloid DC'leri B7-H4'ü eksprese etmek üzere stimüle edebilirken; Granülosit-makrofaj koloni-stimulan faktör (GM-CSF) ve IL-4, B7-H4'ün ekspresyonunu bu hücrelerde downregüle edebilmektedirler (Kryczek ve ark., 2006a; Kryczek ve ark., 2006b; Kryczek ve ark., 2007). Diğer taraftan

interferonların B7-H4 ekspresyonunu indüklemek üzerinde çok az bir etkisi olduğu görülmektedir. T hücreler üzerinde fonksiyon gösterebilen ve indüklenebilen bir reseptörün varlığı ortaya kinsa da, henüz B7-H4 için bir reseptör keşfedilememiştir (Prasad ve ark., 2003; Sica ve ark., 2003). İlk olarak B- ve T- lenfosit atenüatörü (BTLA) B7-H4 için bir reseptör olarak düşünülse de, ilerleyen çalışmalar bunun doğru olmadığını ortaya koymuştur (Compaan ve ark., 2005; Gonzalez ve ark., 2005; Sedy ve ark., 2005).

Yapılan çalışmalarda B7-H4'ün CD4+ ve CD8+ T-hücre proliferasyonunu, sitokin üretimini ve alloreaktif CTL'lerin oluşumunu hücre siklusunu durdurarak inhibe ettiği ortaya konmuştur (Prasad ve ark., 2003; Sica ve ark., 2003; . Zang ve ark., 2003;). Taşıyıcı APC'lerin yüzeyinde eksprese edilen B7-H4, T-hücre proliferasyonunu da inhibe eder (Sica ve ark., 2003; . Zang ve ark., 2003). Endojen B7-H4'ün in vivo'da spesifik mAb ile blokajının T-hücre cevabını teşvik etmesi, B7-H4'ün inhibitör rolünü ortaya koymaktadır (Sica ve ark., 2003). Nakavt farelerle yapılan çalışmalar B7-H4'ün Th1 cevabında inhibitör rolü olduğunu akla getirmiştir (Suh ve ark., 2006).



**Şekil 1.6.** APC'lerdeki B7-H4 ve diğer B7 ailesi üyeleri ve T hücre üzerindeki ligandları (Zou W ve Chen L, 2008)

#### 1.4.1.1. Kanser İmmunitesinde B7-H4

B7-H4'ün pek çok insan kanserinde eksprese olduğu bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada, ovaryum karsinomlarından çoğunda (26 dan 22 sinde) yüksek seviyede B7-H4 eksprese edildiği saptanmıştır. Çok sayıda örnekle yapılan bir takip çalışmasında B7-H4'ün ovaryum papiller seröz adenokarsinomunda overeksprese olduğu gösterilirken (%88), müsinöz ve düşük malignant potansiyelli ovaryum kanserler ve normal dokuların B7-H4 için negatif olduğu belirlenmiştir (Salceda ve ark., 2005).

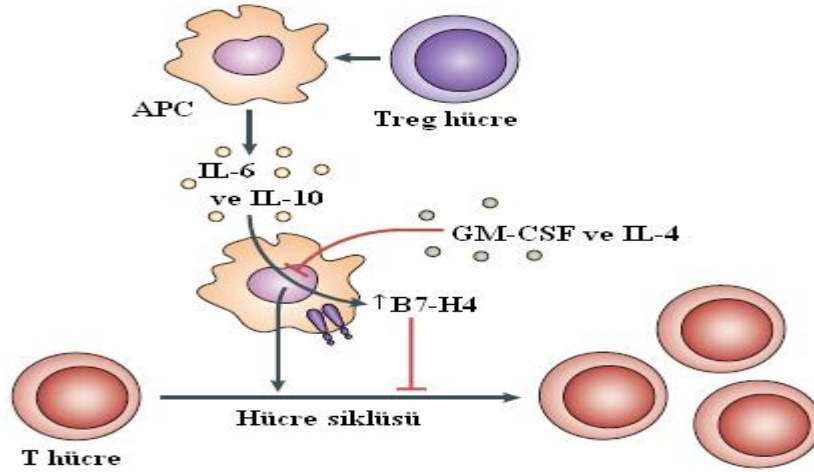
B7-H4 duktal (%100) ve lobüler (%100) meme adenokarsinomunda ve endometrial kanserinde hem mRNA hemde protein düzeyinde overeksprese olmuştur (Miyatake ve ark., 2007). İmmunohistokimya yöntemiyle, B7-H4'ün primer meme kanserlerinin %95'i ve metastatik meme kanserlerinde (invaziv lobüler ve invaziv duktal) tümör grade ve stage'inden bağımsız olarak overekspresyonu gösterilmiştir (Tringler ve ark., 2005). B7-H4 pozitif hücrelerin büyük bölümüyle invaziv duktal karsinoma ve tümörü infiltre eden lenfositlerin sayısındaki azalma arasında anlamlı bir asosiyasyon bulunmuştur (Mugler ve ark., 2007).

Dahası, B7-H4 ekspresyonu, lenf nodu metastazı olan akciğer kanserinde (Choi ve ark., 2003), zayıf yaşam şansıyla asosiye renal hücre karsinomunda (Krambeck ve ark., 2006), yayılım, tekrarlama ve ölümle asosiye prostat kanserinde gözlenmiştir (Zang ve ark., 2007). Yapılan bir çalışmada 16 akciğer kanserinden 5 tanesinin B7-H4'ü eksprese ettiği bulunurken, 17 melonoma örneği ekspresyon göstermemiştir. B7-H4 bölünmeyen beyin tümörü hücrelerinde tercihi olarak eksprese edilmiştir (Yao ve ark., 2008). İnsan tümörlerinde B7-H4'ün ekspresyonunun, tümörlerde post-transkripsiyonun regülasyonunun anormalleşmesi sebebiyle olması muhtemeldir çünkü normal insan dokusu hücrelerinde bol miktarda B7-H4 mRNA'sı saptanmasına rağmen hücre yüzeyi protein ekspresyonu nadirdir. *In vitro*'da B7-H4'ün baskın biçimde T hücre cevabını hücre siklusunun durdurulmasını kositümüle etmek yoluyla inhibe etmesi, proliferasyon ve sitokin sekresyonunu inhibe etmesiyle sonuçlanır (Sica ve ark., 2003).

Diğer çalışmalarda, tümör hücrelerindeki yüksek B7-H4 ekspresyonu, hem azalan apoptozla hem de tümörlerin büyümesiyle korelasyon göstermiştir. B7-H4'ün fazla

miktarda ve değişken biçimde N-glikozile olduğu gösterilmiştir, bunun da, immun kontrolden kaçmayı gerçekleştirmek için bir 'bariyer' mekanizma olabilme ihtimali bulunmaktadır (Salceda ve ark., 2005). Bu yüzden, tümör progresyonunda B7-H4'ün rolü pre-kanseröz hücreleri transforme etmek ve immun kontrolden korumak olabilir. Tümör hücrelerine ek olarak, kanser mikroçevresindeki tümörü infiltre eden makrofajların (Kryczek ve ark., 2006; Kryczek ve ark., 2007) ve küçük kan damarlarının endotelial hücrelerinin (Krambeck ve ark., 2006) B7-H4 ekspresye ettiği bulunmuştur. B7-H4'ün ovaryum kanseri hastalarının asitlerinde tümöre-asosiyel makrofajlarda, fazla miktarda ekspresye olduğu saptanmış ve bu durumun tümör progresyonuna etki edebildiği düşünülmüştür (Kryczek ve ark., 2006).

Antisens oligonükleotidlerle B7-H4'ün blokajı, makrofajların T hücreleri stimüle etmek üzere fonksiyon göstermesini bu da *in vivo*'da tümör regresyonunu sağlamaktadır. Daha sonra yapılan çalışmalar tümöre-asosiyel CD4+, CD25+, forkhead box p3+ (foxp3+) Treg hücrelerin, makrofaj içeren APC'leri IL-6 ve IL-10 üretmek üzere tetiklediğini göstermiştir (Kryczek ve ark., 2007). Bu sitokinler makrofajın B7-H4 ekspresyonunu stimüle ederken; GM-CSF ve IL-4 ekspresyonu, makrofaj B7-H4 ekspresyonunu inhibe eder ((Kryczek ve ark., 2006).) İlginçtir ki, IL-4, IL-6, IL-10 ve GM-CSF'nin tümör hücrelerinde B7-H4 ekspresyonunu regüle ettiği henüz saptanmamıştır, tümör hücrelerindeki APC'lerdeki fonksiyonel olarak farklı olabilirler veya farklı regüle ediliyor olabilirler (Kryczek ve ark., 2007; Krambeck ve ark., 2006). Bununla uyumlu olarak hem Treg hücreleri hem de makrofaj B7-H4'ü hastanın akıbetiyle negatif asosiyasyon gösterirken, tümör B7-H4'ü bu asosiyasyonu göstermemiştir (Kryczek ve ark., 2007). B7-H4+ tümör makrofajları ovaryum kanserinde yeni bir supresör hücre popülasyonu olabilir ve terapötik olarak hedef alınabilir (Kryczek ve ark., 2006; Yi ve Chen, 2009 ).



**Şekil 1.7.** Tümör mikroçevresindeki B7-H4+ APC'ler ve etkileri (Zou W ve Chen L, 2008)

#### 1.4.1.2. Meme Kanserinde B7-H4 Geni Polimorfizmleri

B7-H4 mRNA transkripsiyonunun protein ekspresyonu açısından kararsız olması, B7-H4 ekspresyonunun periferel dokularda translasyonel seviyede sıkı bir şekilde kontrol edildiğini ortaya koymaktadır. UTR'lerin ve intronların, özellikle intron 1'in, gen ekspresyonunu stabil mRNA üretimi, translasyonel verimlilik, mRNA yıkımı, vs. gibi pek çok seviyede düzenleyebildiği belirtilmiştir. Zhang ve ark. yaptığı çalışmada, UTR'lerde ve intron 1'de üç polimorfizm tespit etmiş ve Çin'in kuzeydoğusundaki Han Çinlileri popülasyonunda B7-H4 polimorfizmleri ile meme kanseri riski arasındaki asosiyasyonu saptamışlardır (Zhang ve ark., 2009).

Zhang ve ark. Pupasview Software'ı (Ma ve ark., 2009) kullanarak, stabil mRNA'nın üretimiyle, primer transkriptin splicing'ini etkileyebilen, ekzonik splicing enhancerların (ESE'ler) üzerinde lokalize olan 3'-UTR'de rs10754339 (Baralle ve Baralle, 2005) ve 5'-UTR'de rs3738414 'i bulmuşlardır. RNA structure 4.5 software'in (Mathews ve ark., 2007) tahmini ile intron 1'deki rs10801935'in pre-mRNA sekonder yapısını değiştirebileceğini belirlemişler, bu sebeple bu üç potansiyel fonksiyonel SNP'yi Kuzeydoğu Çin'deki Han Çinlileri popülasyonunda meme kanseriyle bağlantısını araştırmak üzere tespit etmişlerdir. Zhang ve ark.'nın çalışması B7-H4 polimorfizmleriyle meme kanseri riski asosiyasyonunu bildirmek üzere yapılmış ilk polimorfizm çalışmasıdır (Zhang ve ark., 2009).

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

“Meme Kanserinde FGFR2 ve B7-H4 Geni Polimorfizmlerinin ve Etkilerinin Araştırılması” isimli bu tezin çalışmalarına başlanmadan önce “**Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Danışma Kurulu Başkanlığı**”ndan 2010/0023 karar numaralı (24.05.2010 tarihli) Etik Kurul onayı alınmıştır.

### 2.1. Hasta ve Kontrol Grupları

Bu çalışmaya Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Anabilim Dalı’nda meme kanseri tanısı alan, premenopozal ve postmenopozal 31 hasta ve meme kanseri tanısı almamış, postmenopozal 50 yaş üstü 30 sağlıklı kadından oluşan kontrol grubu dahil edildi. Çalışmaya dahil olan hastalardan kan alınmadan önce **Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Araştırmalar Değerlendirme Kurulu**’ndan onay alındı. Çalışma kriterlerine uygun olan bireylere etik kurulca onaylanmış hasta ve kontrol grubu için hazırlanmış olan onam formları verilerek çalışma anlatıldı ve katılmaya gönüllü bireylerden çalışma grubu oluşturuldu. Hasta ve kontrol grubuna ait gerekli bilgiler daha önceden hazırlanmış olan formlara her hasta için poliklinik doktorları tarafından dolduruldu ve hastalardan EDTA’lı tüplere 4cc kan alındı. Alınan kanlar DNA izolasyonu yapılana kadar +4 C° de muhafaza edildi.

### 2.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

Hassas terazi (**Sartorius**)

Mikro santrifüj (**Heraeus – Biofuge pico**)

Soğutmalı santrifüj (**Thermo**)

Hot plate (**Nüve**)

PH metre (**Hanna**)

Spektrofotometre (**NanoDrop ND-1000**)

Termal Cycler (**Eppendorf - Mastercycler personal**)

Mikropipetler (1-10 µl ve 10-100 µl) (**Eppendorf Research**)



Çeker ocak

Distile su cihazı (**Barnstead**)

Yatay elektroforez tankı (**Thermo**)

Mikrodalga fırın (**Arçelik**)

Buz dolabı (**Profilo**)

Derin dondurucu (-20) (**Bosch**)

Jel görüntüleme sistemi (**BioDoc-It® Imaging System-UVP**)

Güç kaynağı (**Apelex**)

Vorteks (**Nüve**)

Su banyosu (**Nüve**)

ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer (**Applied Biosystems**)

### 2.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Sarf Malzemeler

#### DNA İzolasyon Kiti (**High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche)**)

- Binding Buffer
- Proteinaz K
- Inhibitor Removal Buffer
- Wash Buffer
- Elution Buffer
- Collection Tüpler
- Filtreli Tüpler

#### FGFR2 geni rs1219648 polimorfizmi için primerler (**Metabion**)

F: 5'- TCCACAATGGCGCAGAATTA-3'

R: 5'- GCTGGACAGGTCATTGTGGTG-3'

#### FGFR2 geni rs2981582 polimorfizmi için primerler (**Metabion**)

F: 5'- GAACCTCTCTCCCAGCCCTTT -3'

R: 5'- CCCCACTGGGTAAGTGTGCT -3'

Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (**Applied Biosystems**)

ABI PRISM® 3100 POP-4™ polymer (**Applied Biosystems**)

**B7-H4 geni rs10754339 polimorfizmi için primerler (IDT-Integrated DNA Technologies)**

F: 5'- TCCTATGGGTCTGTCAATG-3'

R: 5'- GCTGCTAAACTCAAAGGC-3'

**B7-H4 geni rs10801935 polimorfizmi için primerler (IDT-Integrated DNA Technologies)**

F: 5'-TAGTGGCGGTACAATAGC-3'

R: 5'-AGTGCCTCTGTTTCTTCC-3'

**B7-H4 geni rs3738414 polimorfizmi için primerler (IDT-Integrated DNA Technologies)**

F: 5'AAAGACCTCACTGCTGTTCC-3'

R: 5'-CCACAGTCAGGAGGAAAGTC-3'

MscI restriksiyon enzimi (**Fermentas**)

SallI restriksiyon enzimi (**Fermentas**)

BtsI restriksiyon enzimi (**NEB-New England Biolabs**)

Taq DNA polimeraz (**Fermentas**)

MgCl<sub>2</sub> (**Fermentas**)

PCR tamponu (**Fermentas**)

dNTP mix,10 mM (**Fermentas**)

DNA Marker (**Fermentas GeneRuler 50 bp DNA Ladder 50 µg (0.5 µg/µl)**)

dH<sub>2</sub>O

Isopropanol (**Sigma**)

Ethanol absolute (**Merck**)

Agaroz (**Amresco Agarose I**)

5 X TBE Buffer (**Biological Industries**)

Etidyum bromür (**Sigma**)

Bromphenol blue (sodium salt %0.25, Ficoll 400 % 15) (**Applichem**)

Disodium EDTA.2H<sub>2</sub>O (**Sigma**)

Sodyum Asetat (**Sigma**)

Erlen mayer (**Isolab**)

Mezürler (50 ml, 100 ml, 500 ml) (**Isolab**)

Steril sarı ve beyaz pipet ucu (**Corning**)

0.2-1.5 ml'lik Ependorf tüpleri (**Axygen**)

Pens

Çeşitli boyutta cam şişeler (**Isolab**)

#### **2.4. Kullanılan Solüsyon ve Tamponların Hazırlanması**

##### **Inhibitör removal Buffer**

20 ml absolute ethanol eklenerek hazırlandı

##### **Wash Buffer**

80 ml absolute ethanol eklenerek hazırlandı

##### **Proteinaz K**

4,5 ml steril distile suda çözülerek hazırlandı.

##### **FGFR2 geni rs1219648 polimorfizmi için Forward Primer**

Liyofilize içeriğe 226 µl steril dH<sub>2</sub>O eklenerek hazırlandı.

##### **FGFR2 geni rs1219648 polimorfizmi için Reverse Primer**

Liyofilize içeriğe 295 µl steril dH<sub>2</sub>O eklenerek hazırlandı.

##### **FGFR2 geni rs2981582 polimorfizmi için Forward Primer**

Liyofilize içeriğe 273 µl steril dH<sub>2</sub>O eklenerek hazırlandı.

##### **FGFR2 geni rs2981582 polimorfizmi için Reverse Primer**

Liyofilize içeriğe 292 µl steril dH<sub>2</sub>O eklenerek hazırlandı.

##### **B7-H4 geni rs10754339 polimorfizmi için Forward Primer**

Liyofilize içeriğe 839.9 µl steril dH<sub>2</sub>O eklenerek hazırlandı.

##### **B7-H4 geni rs10754339 polimorfizmi için Reverse Primer**

Liyofilize içeriğe 884.4 µl steril dH<sub>2</sub>O eklenerek hazırlandı.

##### **B7-H4 geni rs10801935 polimorfizmi için Forward Primer**

Liyofilize içeriğe 755.7 µl steril dH<sub>2</sub>O eklenerek hazırlandı.

##### **B7-H4 geni rs10801935 polimorfizmi için Reverse Primer**

Liyofilize içeriğe 958.9 µl steril dH<sub>2</sub>O eklenerek hazırlandı.

##### **B7-H4 geni rs3738414 polimorfizmi için Forward Primer**

Liyofilize içeriğe 868.6 µl steril dH<sub>2</sub>O eklenerek hazırlandı.

##### **B7-H4 geni rs3738414 polimorfizmi için Reverse Primer**

Liyofilize içeriğe 848.9 µl steril dH<sub>2</sub>O eklenerek hazırlandı.

**0.5 X TBE Buffer**

5 X TBE Buffer'dan 1'e 9 oranında distile su ile seyreltilerek hazırlandı.

**0.5 M EDTA**

186,1 g Disodium EDTA.2H<sub>2</sub>O 800ml dH<sub>2</sub>O'da çözüldü, pH NaOH'le 8'e ayarlandı, total volüm 1000ml'ye tamamlandı.

**125 mM EDTA**

100ml 0.5M EDTA'ya 400 ml dH<sub>2</sub>O eklenerek hazırlandı.

**3M Sodyum Asetat**

40,8 g NaOAc 70 ml dH<sub>2</sub>O'da çözüldü, pH glasiyal asetik asitle 5.2'ye ayarlandı, total volüm 100ml'ye tamamlandı.

**2.5. %2'lik Agaroz Jelin Hazırlanması**

PCR sonunda, amplifikasyon ürünlerinin kontrol edilmesi için %2'lik agaroz jel hazırlandı. 200 ml 0,5X TBE içine 4 g agaroz eklenerek mikrodalga fırında saydamlaşmaya kadar kaynatılıp, içerisine çeker ocak altında 12 µl EtBr ilave edildi ve toplam volüm jel dökme setine dökülerek tarak yerleştirildi. Jel donduktan sonra tarak çıkarıldı. Hazırlanan %2'lik agaroz jel, içinde 0,5X TBE bulunan elektroforez tankına alındı. Jel tarağının oluşturduğu kuyulardan ilkinde 1µl 6X yükleme boya solüsyonu, 2µl marker DNA, 3µl dH<sub>2</sub>O karışımı; diğer kuyulara ise 5 µl yükleme tamponu bromphenol blue ile birlikte 15µl amplifikasyon ürünüyle yüklendi. 100 voltta 1 saat yürütüldü. Sonuçlar jel görüntüleme sisteminde değerlendirildi.

**2.6. Periferik Kandan DNA İzolasyonu**

İzolasyon Roche DNA izolasyon kiti ile gerçekleştirilmiştir.

1. Önceden 70 C<sup>0</sup>'ye getirilmiş su banyosuna son basamakta ilave edilmek üzere yeterli miktarda elution buffer inkübasyona bırakıldı.
2. 200 µl kan, 200 µl binding buffer ve 40 µl Proteinaz K 1,5 ml lik tüpe sırasıyla eklendi.

3. Karışım vortekslendikten sonra santrifüjde spin atıldı ve 70 C<sup>0</sup> de 10 dakika inkübasyona bırakıldı.
4. 10 dakika sonunda karışımın üzerine 100µl isopropanol eklendikten sonra vortekslendi, santrifüjde spin atıldı ve altında collection tüp ( toplama tüpü ) bulunan filtrelili tüpe aktarıldı.
5. Filtrelili tüpe aktarılan karışım 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi ve collection tüp değiştirildi.
6. Inhibitor removal buffer'dan 500 µl ilave edildi ve 8000 rpm de 1 dakika santrifüj edildikten sonra collection tüp değiştirildi.
7. 500 µl wash buffer ilave edildi ve 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildikten sonra collection tüp değiştirildi.
8. Yıkama işlemi, yani 7. basamak tekrar edildi.
9. Yıkamalardan sonra boş collection tüple 13.000 rpm de 1 dakika santrifüj edildi.
10. Collection tüp atıldı ve filtrelili tüpler 1,5 ml lik tüplere yerleştirildikten sonra 150µl elution buffer ilave edilerek 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.

## 2.7. FGFR2 Geni için PCR Koşulları

FGFR2 geninin 2. intronunda yer alan rs1219648 A/G SNP'si, bu genin 123346190 A/G değişimi ve rs2981582 C/T SNP'si, bu genin 123352317 C/T değişimini dizi analiziyle tespit etmek amacıyla PCR gerçekleştirildi. Bunun için toplam 50 µl'lik PCR MIX'i hazırlandı.

### **FGFR2 rs1219648 ve rs2981582 için hazırlanan 50 µl'lik PCR MIX'i:**

- 10X PCR Buffer                      5µl
- MgCl<sub>2</sub> (25 mM)                      5µl
- dNTP mix (25 mM)                      5µl
- F primer (10 pmol)                      2 µl
- R primer (10 pmol)                      2 µl
- Taq DNA polimeraz                      0.25 µl
- dH<sub>2</sub>O                                      25,75µl

- Kalıp DNA 5 µl

Ependorf tüpler içinde hazırlanan mix pipetaj ve kısa bir santrifüj işleminden sonra ısı döngüsü aşağıdaki şekilde hazırlanmış olan Thermal Cycler'a yerleştirildi.

**FGFR2 rs1219648 ve rs2981582 için hazırlanan Thermal Cycler ısı döngüsü:**

95 °C	5 dk	} 30 Döngü
95 °C	15 sn	
57 °C	1 dk	
72 °C	1 dk	
72 °C	7 dk	
4 °C	Saklama	

**2.8. FGFR2 Geni için PCR Temizleme**

PCR temizleme her biri 20 µl PCR ürünü içeren 96 kuyucuklu reaksiyon plate'te Ethanol/EDTA/Sodyum Asetat metodu ile gerçekleştirildi.

1. 96 kuyucuklu reaksiyon plate thermalcycler'dan alındı ve kısa süreli spin atıldı.
2. Her bir kuyucuğa 2 µl EDTA (125 mM) ilave edildi ve kuyucuğun tabanına ulaşması sağlandı.
3. Her bir kuyucuğa 2 µl Sodyum Asetat (3 M) ilave edildi ve kuyucuğun tabanına ulaşması sağlandı.
4. Kuyucuklara 50 µl %100'lük ethanol ilave edildi.
5. Plate aliminyum bantla tamamen kaplandı ve 4 kez ters düz edilerek karıştırıldı.
6. Oda ısısında 15 dakika inkübe edildi.
7. 5000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi.
8. Plate santrifüjden çıkarılıp ters çevrildi ve spin atıldı.
9. Kuyucuklara 70 µl %70'lik ethanol ilave edildi.
10. Soğutmalı santrifüjde +4 °C'de 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.

11. Plate santrifüjden çıkarılıp ters çevrildi ve spin atıldı.
12. Kuyucukların karanlıkta iyice kuruması sağlandı.
13. Devam etmek için örnekler enjeksiyon buffer ilave edildi. Hemen çalışılmıyacaksa plate alüminyum folyo ile kaplandı ve +4 °C’de muhafaza edildi.

## 2.9. FGFR2 Geni Dizi Analizi

### Sekans PCR:

PCR ürünleri ile “Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing” kiti içerisinde bulunan Big Dye Karışımı kullanılarak, FGFR2 rs1219648 ve rs2981582 SNP’lerinin ilk PCR’ında kullanılan F primerlerle sekans PCR’ı gerçekleştirilmiştir.

### **FGFR2 rs1219648 ve rs2981582 için hazırlanan 20 µl’lik Sekans PCR MIX’i:**

Big Dye Karışımı 8 µl

Primer F 4 µl

İlk PCR ürünü 5 µl

dH<sub>2</sub>O 3µl

Eppendorf tüpler içinde hazırlanan mix pipetaj ve kısa bir santrifüj işleminden sonra ısı döngüsü aşağıdaki şekilde hazırlanmış olan Thermal Cycler’a yerleştirildi.

### **FGFR2 rs1219648 ve rs2981582 için Sekans PCR Thermal Cycler ısı döngüsü:**

96°C	30 sn	
96°C	10 sn	} 30 Döngü
50°C	5 sn	
60°C	4 dk	

### Sekans Temizlemesi:

Sekans temizleme her biri 20 µl PCR ürünü içeren 96 kuyucuklu reaksiyon plate’te Ethanol/EDTA/Sodyum Asetat metodu ile gerçekleştirildi.

### **Kapiller Elektroforez:**

Sekansı takiben reaksiyon purifikasyonu yapıldıktan sonra, örnekler Applied Biosystems kapiller elektroforeze dayalı genetik analizörde (ABI 3100) analiz için hazır hale geldi. Kapiller elektroforezde, siklüs sekans reaksiyon ürünleri elektrokinetik olarak, POP-4 polimerle doldurulmuş kapillerlere enjekte edildi. Uygulanan yüksek voltajla, negatif yüklü DNA fragmanları pozitif elektroda doğru, kapillerler içindeki polimer boyunca hareket etti.

### **Veri Analizi:**

Kapiller elektroforezden sonra, veri toplama software'i Sequencing Analysis Software Version 5.1 ham verilerinden oluşan bir örnek dosyası oluşturdu. Toplanan renk-veri bilgilerinin karşılık gelen nükleotid bazlarına dönüştürülmesi için veri analizi yapılması amacıyla Finch TV programı kullanıldı.

### **2.10. B7-H4 Geni için PCR Koşulları**

B7-H4 geninin 3'-UTR bölgesinde yer alan rs10754339 G/A, 5'-UTR'de rs3738414 A/G ve intron 1'deki rs10801935 C/A polimorfizmlerini, PCR RFLP metoduyla tespit etmek amacıyla PCR gerçekleştirildi. PCR'ı takiben RFLP için %2'lik agaroz jel dökülerek enzim kesim ürünleri jelde yürütüldü. Bunun için toplam 50 µl'lik PCR Mix'i hazırlandı.

#### **B7-H4 Geni rs10754339, rs10801935, rs3738414 Polimorfizmleri için Hazırlanan 50 µl'lik PCR Mix'i:**

- |                             |       |
|-----------------------------|-------|
| • 10X PCR Buffer            | 5µl   |
| • MgCl <sub>2</sub> (25 mM) | 5µl   |
| • dNTP mix (10 mM)          | 0.5µl |
| • F primer (100 nmol)       | 0.6µl |
| • R primer (100 nmol)       | 0.6µl |
| • Taq DNA polimeraz (500U)  | 0.8µl |



- dH<sub>2</sub>O 29.5µl
- Kalıp DNA 8µl

**B7-H4 Geni rs10754339 G/A Polimorfizmi için Hazırlanan Thermal Cycler Isı Döngüsü:**

94 <sup>0</sup> C	5 dk	
94 <sup>0</sup> C	30 sn	} 35 Döngü
53.2 <sup>0</sup> C	30 sn	
72 <sup>0</sup> C	30 sn	
72 <sup>0</sup> C	10 dk	
4 <sup>0</sup> C	Saklama	

**B7-H4 Geni rs10801935 C/A ve rs3738414 A/G Polimorfizmleri için Hazırlanan Thermal Cycler Isı Döngüsü:**

94 <sup>0</sup> C	5 dk	
94 <sup>0</sup> C	30 sn	} 30 Döngü
55.6 <sup>0</sup> C	30 sn	
72 <sup>0</sup> C	30 sn	
72 <sup>0</sup> C	10 dk	
4 <sup>0</sup> C	Saklama	

**2.11. Elde Edilen PCR Ürünlerinin Agaroz Jelde Kontrolünün Yapılması**

Hazırlanan %2'lik agaroz jel, içinde 0,5X TBE bulunan elektroforez tankına alındı. Jel tarağının oluşturduğu kuyulardan ilkine 1µl 6X yükleme boya solüsyonu, 2µl marker DNA, 3µl dH<sub>2</sub>O karışımı; diğer kuyulara ise 5 µl yükleme tamponu brom fenol blue ile birlikte 15µl PCR ürünü yüklendi. 100 voltta 1 saat yürütüldü. Sonuçlar jel görüntüleme sisteminde değerlendirildi.

## 2.12. Enzim Kesimi

### 2.12.1. B7-H4 Geni rs10754339 G/A Polimorfizmi için MscI Enzim Kesimi

PCR'dan sonra kontrol edilen ve amplifiye olan örneklere MscI enzim kesimi uygulandı. Bunun için hazırlanan mix listesi aşağıda verilmiştir.

- PCR ürünü 20µl
- dH<sub>2</sub>O 16µl
- 10X Buffer R 2µl
- MscI 2µl

Eppendorf tüpler içinde hazırlanan karışım hafifçe pipetaj yaparak karıştırıldı ve santrifüj yapıldı. 37<sup>0</sup>C'de 3 saat inkübe edildi. Sürenin sonunda elde edilen ürünler %2'lik agaroz jelde kontrol edildi. Agaroz jele marker ve enzim kesim ürünlerinin yüklemesi PCR ürünlerinin kontrolü için yapılan yüklemeyle aynı şekilde yapıldı. Agaroz jel elektroforeziyle yapılan RFLP analizi sonucunda elde edilen bantlara göre üç farklı genotip belirlendi:

PCR ürünü: 341 bç

Genotip AA :237bç, 104 bç büyüklüğünde 2 bant

Genotip GG :341bç büyüklüğünde tek bant

Genotip AG :341bç, 237bç, 104bç büyüklüğünde 3 bant

### 2.12.2. B7-H4 Geni rs10801935 C/A Polimorfizmi için Sall Enzim Kesimi

PCR dan sonra kontrol edilen ve amplifiye olan örneklere Sall enzim kesimi uygulandı. Bunun için hazırlanan mix listesi aşağıda verilmiştir.

- PCR ürünü 20µl
- dH<sub>2</sub>O 16µl
- 10X Buffer R 2µl
- Sall 2µl

Eppendorf tüpler içinde hazırlanan karışım hafifçe pipetaj yaparak karıştırıldı ve santrifüj yapıldı. 37<sup>0</sup>C'de 3 saat inkübe edildi. Sürenin sonunda elde edilen ürünler %2'lik agaroz jelde kontrol edildi. Agaroz jele marker ve enzim kesim ürünlerinin

yüklemesi PCR ürünlerinin kontrolü için yapılan yüklemeyle aynı şekilde yapıldı. Agaroz jel elektroforeziyle yapılan RFLP analizi sonucunda elde edilen bantlara göre üç farklı genotip belirlendi:

PCR ürünü: 466 bç

Genotip AA : 466bç büyüklüğünde tek bant

Genotip CC : 240bç, 226bç büyüklüğünde 2 bant

Genotip AC : 466bç, 240bç, 226bç büyüklüğünde 3 bant

### **2.12.3. B7-H4 Geni rs3738414 A/G Polimorfizmi için BtsI Enzim Kesimi**

PCR'dan sonra kontrol edilen ve amplifiye olan örneklere BtsI enzim kesimi uygulandı. Bunun için hazırlanan mix listesi aşağıda verilmiştir.

- PCR ürünü 20µl
- dH<sub>2</sub>O 20µl
- 10X Buffer 4 2,5 µl
- 100xBSA 0,25 µl
- BtsI 1µl

Eppendorf tüpler içinde hazırlanan karışım hafifçe pipetaj yaparak karıştırıldı ve santrifüj yapıldı. 55<sup>0</sup>C'de 16 saat inkübe edildi. Sürenin sonunda elde edilen ürünler %3'lük agaroz jelde kontrol edildi. Agaroz jelle marker ve enzim kesim ürünlerinin yüklemesi PCR ürünlerinin kontrolü için yapılan yüklemeyle aynı şekilde yapıldı. Agaroz jel elektroforeziyle yapılan RFLP analizi sonucunda elde edilen bantlara göre üç farklı genotip belirlendi:

PCR ürünü: 419 bç

Genotip AA : 281bç, 130bç, 8bç büyüklüğünde 3 bant

Genotip GG : 411bç, 8bç büyüklüğünde 2 bant

Genotip AG : 411bç, 281bç, 130bç, 8bç büyüklüğünde 4 bant

### **2.13. İstatistiksel Değerlendirme**

İstatistiksel analiz Statistical Package for Social Sciences (SPSS for Windows Release version 12, SPSS Inc. Headquarters, 223 S. Wacker Drive, 11th floor,

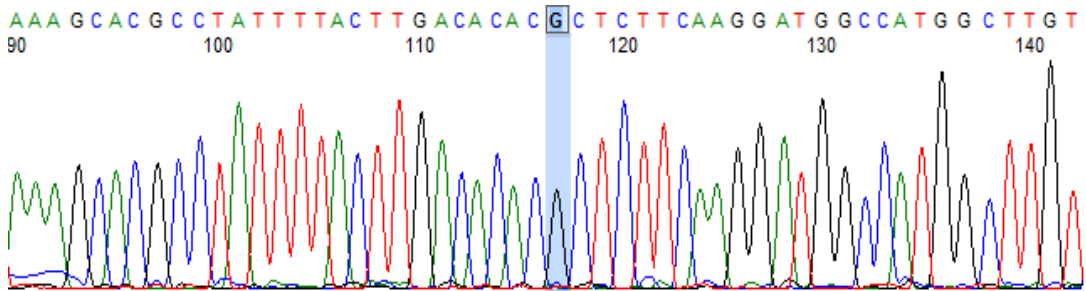
Chicago, Illinois 60606) programı kullanılarak yapılmıştır. Kontrol ve çalışma grupları arasındaki yaş, meme kanserli olgu grubundaki menopozal durum, ailede meme kanseri öyküsü bulunması, ER, PR, CerbB2 (HER2/neu) durumu lenf nodu tutulumu ile genotipler, Fisher'in ki kare testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Meme kanserli olgu grubundaki tümör büyüklüğü ile genotipler, Pearson'ın ki kare testi ile karşılaştırılmıştır. P değeri <0.05 olduğunda karşılaştırılan parametreler arasındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu kabul edilmiştir.

### 3. BULGULAR

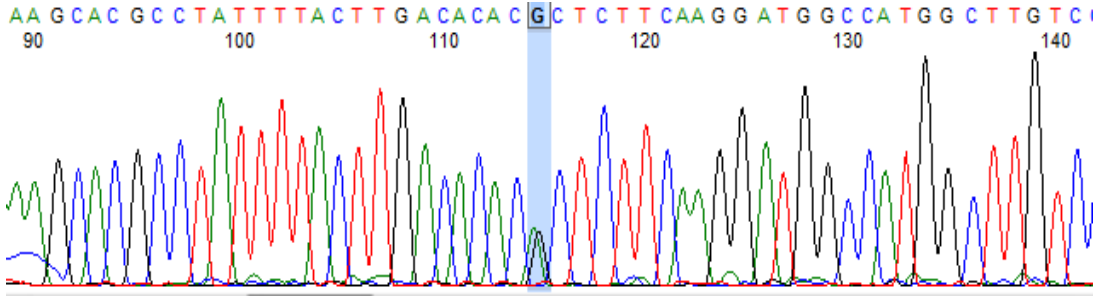
Meme kanseri tanısı almış pre-menopozal 11 ve post-menopozal 20 olgu ve herhangi bir malignite tanısı almamış 50 yaş üstü post-menopozal 30 kontrol grubundan EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinden DNA izolasyon kiti (Roche, High Pure PCR Template Preparation Kit) kullanılarak DNA izole edilmiştir. İzole edilen DNA'ların miktarı (ng/μl olarak) ve saflığı (260/280 nm dalga boyundaki absorbands değeri) spektrofotometre ile ölçülerek belirlenmiştir.

Çalışmaya dahil edilen meme kanserli olgu grubunun yaş ortalaması 55,2 iken, kontrol grubunun yaş ortalaması 60,7'dir. Klinik parametrelerin meme kanserinde çalıştığımız polimorfizmlerle olan asosiasyonunu değerlendirmek üzere hasta ve olgu grubunun yaş durumu, hasta grubunun menopozal durumu, ailede meme kanseri öyküsü, ER, PR, CerbB2 (HER2/neu) durumu, tümör büyüklüğü, lenf nodu tutulumu ile genotipler kıyaslanmıştır (Tablo 3.6., Tablo 3.7., Tablo 3.8., Tablo 3.9., Tablo 3.10., Tablo 3.11., Tablo 3.12., Tablo 3.13.).

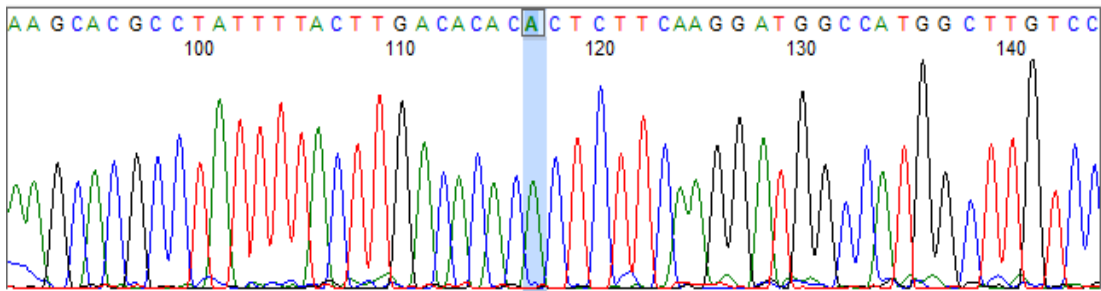
FGFR2 geninin 2. intronunda yer alan rs1219648 SNP'si, yani bu genin 123346190 A/G değişimini saptamak üzere ilgili bölgeyi kapsayan yaklaşık 300bp büyüklüğündeki bölgenin dizi analizi gerçekleştirilmiştir. Kurulan PCR'in kontrolü %2'lik agaroz jelde yapılmış olup, ilgili bölge için bazı olgulara ait Sequencing Analysis Software Version 5.1'in oluşturduğu ham verilerden Finch TV kromatogram görüntüleyici programının oluşturduğu grafik görüntüleri verilmiştir (Şekil 3.1, Şekil 3.2, Şekil 3.3).



**Şekil 3.1:** FGFR2 geni rs1219648 A/G polimorfizmi 22 nolu kontrole ait homozigot GG genotipini gösteren sekans grafiği.

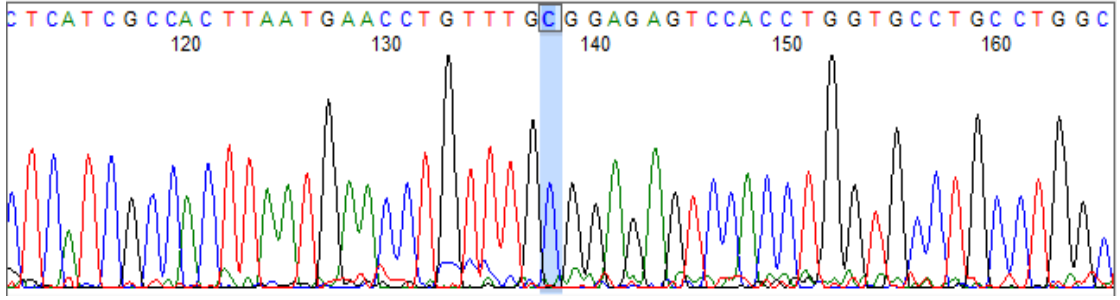


**Şekil 3.2:** FGFR2 geni rs1219648 A/G polimorfizmi 7 nolu kontrole ait heterozigot AG genotipini gösteren sekans grafiği.

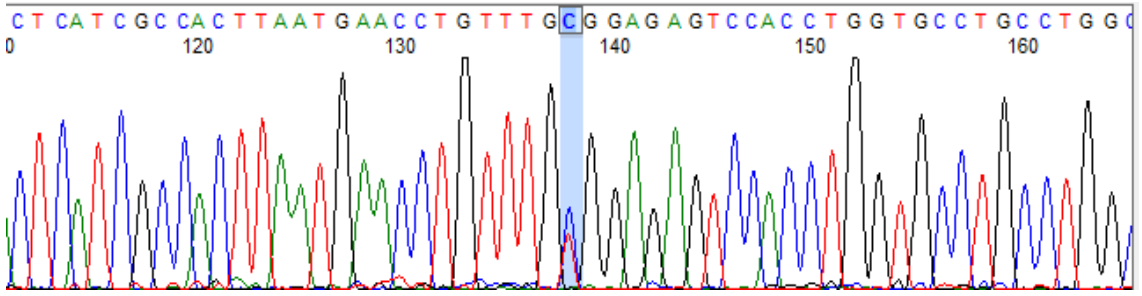


**Şekil 3.3:** FGFR2 geni rs1219648 A/G polimorfizm 24 nolu kontrole ait homozigot AA genotipini gösteren sekans grafiği.

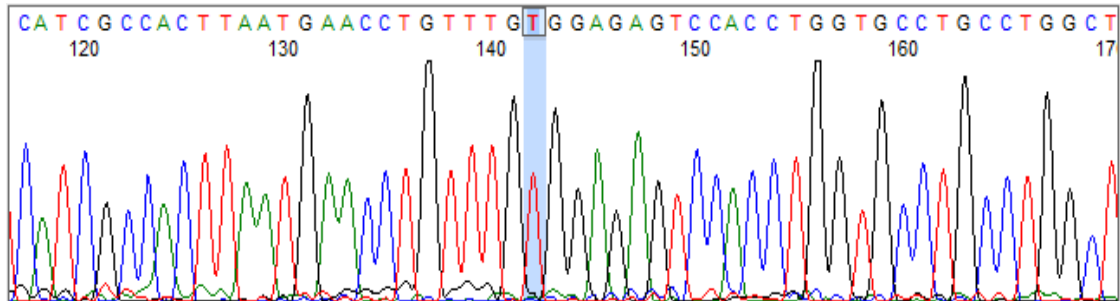
FGFR2 geninin 2. intronunda yer alan rs2981582 SNP'si, yani bu genin 123352317 C/T değişimini saptamak üzere ilgili bölgeyi kapsayan yaklaşık 300bp büyüklüğündeki bölgenin dizi analizi gerçekleştirilmiştir. Kurulan PCR'in kontrolü %2'lik agaroz jelde yapılmış olup, ilgili bölge için bazı olgulara ait Sequencing Analysis Software Version 5.1'in oluşturduğu ham verilerden Finch TV kromatogram görüntüleyici programının oluşturduğu grafik görüntüleri verilmiştir (Şekil 3.4, Şekil 3.5, Şekil 3.6).



**Şekil 3.4:** FGFR2 geni rs2981582 C/T polimorfizmi 10 nolu hastaya ait homozigot CC genotipini gösteren sekans grafiği.



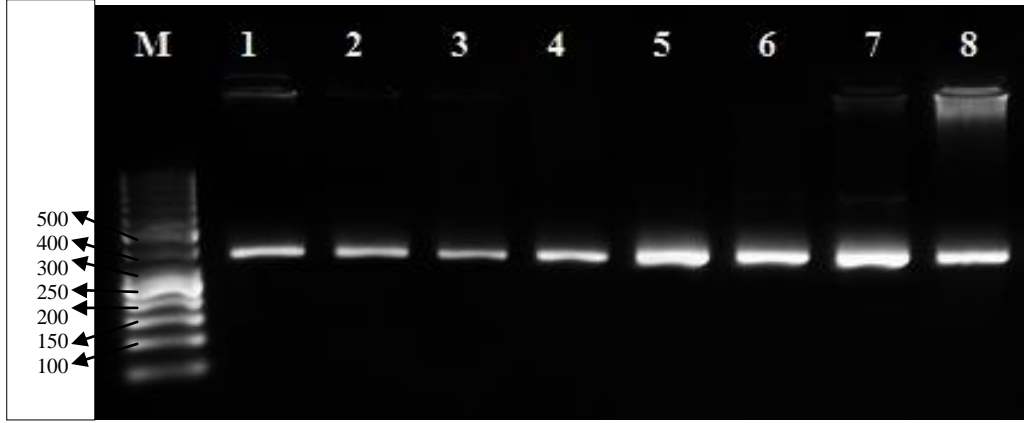
**Şekil 3.5:** FGFR2 geni rs2981582 C/T polimorfizmi 7 nolu hastaya ait heterozigot CT genotipini gösteren sekans grafiği.



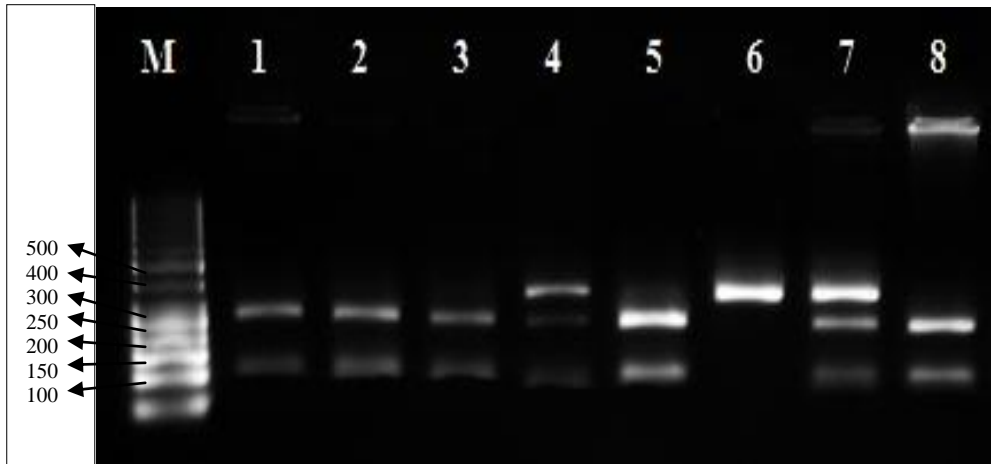
**Şekil 3.6:** FGFR2 geni rs2981582 C/T polimorfizmi 23 nolu hastaya ait homozigot TT genotipini gösteren sekans grafiği.

B7-H4 geni 3' kodlanmayan bölge (untranslated region=UTR)'de bulunan rs10754339 G/A polimorfizminin tespiti için PCR uygulaması sonucu 341 bç'lik ilk ürünün kontrolü %2'lik agaroz jelde yapılmıştır, bazı olgulara ait agaroz jel görüntüsü verilmiştir (Şekil 3.7). Birinci PCR dan sonra kontrol edilen ve amplifikasyon ürünü olan örnekler **MscI** enzim kesimi uygulandı. Ürünler %2'lik agaroz jelde kontrol edildi (Şekil 3.8).

Homozigot AA : 237bç, 104 bç büyüklüğünde 2 bant  
 Homozigot GG : 341bç büyüklüğünde tek bant  
 Heterozigot AG : 341bç, 237bç, 104bç büyüklüğünde 3 bant



**Şekil 3.7:** B7-H4 geni rs10754339 polimorfizmi, 341 bç'lik amplifikasyon ürününün %2'lik agaroz jelde görüntülenmesi. M: Marker DNA (50bç, 100bç, 150bp, 200bç, 250bç, 300bç, 400bç, 500bp, 600bç, 700bç, 800bç, 900bç,1000bp). 1-8: Olgulara ait amplifikasyon ürünü.

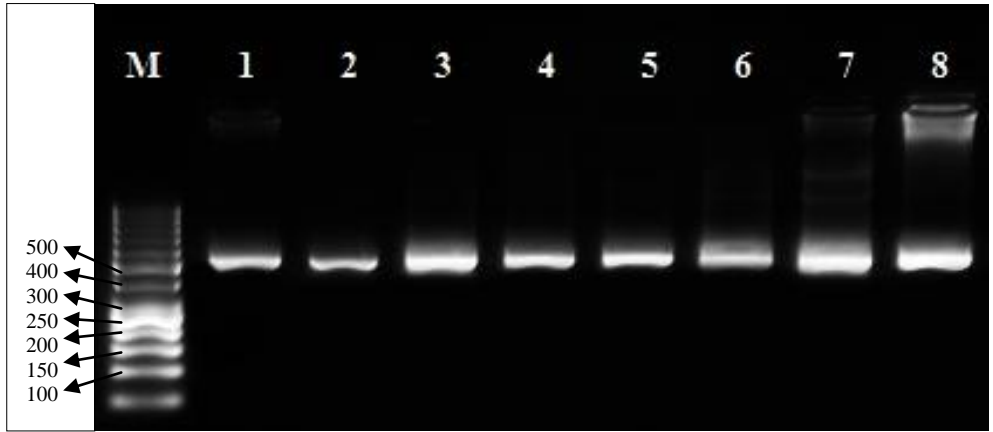


**Şekil 3.8:** B7-H4 geni rs10754339 polimorfizmi, 341 bç'lik amplifikasyon ürününün MscI enzimi ile yapılan RFLP sonuçlarının %2'lik agaroz jelde görüntülenmesi. M: Marker DNA (50bç, 100bç, 150bp, 200bç, 250bç, 300bç, 400bç, 500bp, 600bç, 700bç, 800bç, 900bç,1000bp). 1-8: Olgulara ait MscI enzim kesim ürünleri. Homozigot AA: 237bç, 104 bç büyüklüğünde 2 bant (1.,2.,3.,5. ve 8. örnekler). Homozigot GG: 341bç büyüklüğünde tek bant (6.örnek). Heterozigot AG: 341bç, 237 bç, 104 bç büyüklüğünde 3 bant (4. ve 7. örnek). 1:AA, 2:AA, 3:AA, 4:AG, 5:AA, 6:GG, 7:AG, 8:AA.

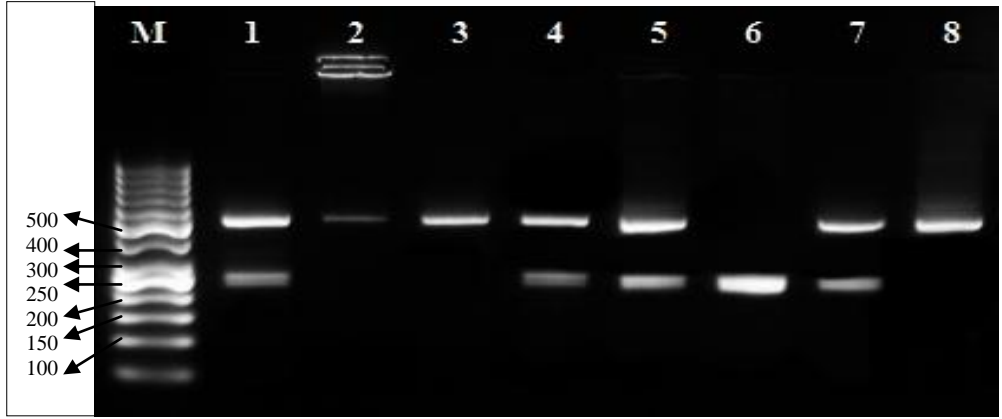


B7-H4 geni intron 1' de bulunan **rs10801935 C/A** polimorfizminin tespiti için PCR uygulaması sonucu 466 bç'lik ilk ürünün kontrolü %2'lik agaroz jelde yapılmıştır, bazı olgulara ait agaroz jel görüntüleri verilmiştir (Şekil 3.9). Birinci PCR'dan sonra kontrol edilen ve amplifikasyon ürünü olan örneklerle **SaII** enzim kesimi uygulandı. Ürünler %2'lik agaroz jelde kontrol edildi (Şekil 3.10).

Homozigot AA : 466bç büyüklüğünde tek bant  
 Homozigot CC : 240bç, 226bç büyüklüğünde 2 bant  
 Heterozigot AC : 466bç, 240bç, 226bç büyüklüğünde 3 bant



**Şekil 3.9:** B7-H4 geni rs10801935 polimorfizmi, 466 bç'lik amplifikasyon ürününün %2'lik agaroz jelde görüntülenmesi. M: Marker DNA (50bç, 100bç, 150bp, 200bç, 250bç, 300bç, 400bç, 500bp, 600bç, 700bç, 800bç, 900bç,1000bp). 1-8: Olgulara ait amplifikasyon ürünü.



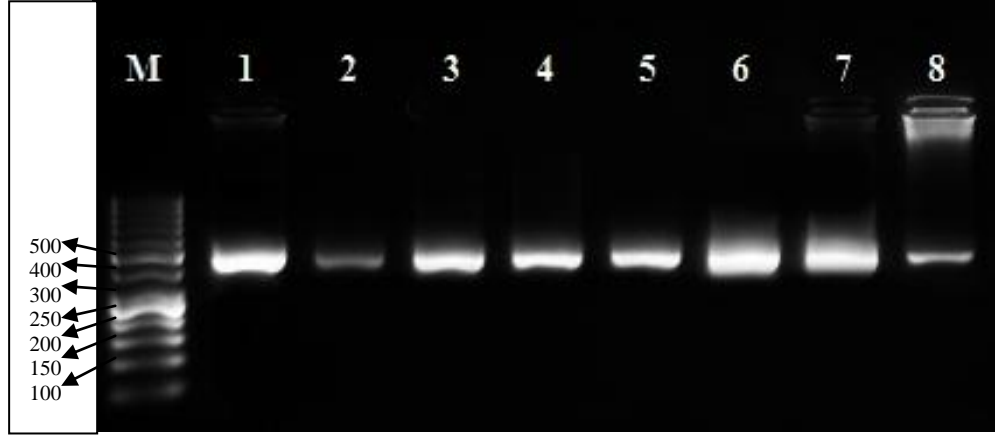
**Şekil 3.10:** B7-H4 geni rs10801935 polimorfizmi, 466 bç'lik amplifikasyon ürününün SalI enzimi ile yapılan RFLP sonuçlarının %2'lik agaroz jelde görüntülenmesi. M: Marker DNA (50bç, 100bç, 150bp, 200bç, 250bç, 300bç, 400bç, 500bp, 600bç, 700bç, 800bç, 900bç,1000bp). 1-8: Olgulara ait SalI enzim kesim ürünleri. Homozigot AA: 466bç büyüklüğünde tek bant (2., 3. ve 8. örnek). Homozigot CC: 240bç, 226bç büyüklüğünde 2 bant (4. örnek). Heterozigot AC: 466bç, 240bç, 226bç büyüklüğünde 3 bant (1., 4., 5. ve 7. örnek). 1:AC, 2:AA, 3:AA, 4:AC, 5:AC, 6:CC, 7:AC; 8:AA

B7-H4 geni 5' kodlanmayan bölge (untranslated region=UTR)'de bulunan **rs3738414 A/G** polimorfizminin tespiti için PCR uygulaması sonucu 419 bç'lik ilk ürünün kontrolü %2'lik agaroz jelde yapılmıştır, bazı olgulara ait agoroz jel görüntüleri verilmiştir (Şekil 3.11). Birinci PCR dan sonra kontrol edilen ve amplifikasyon ürünü olan örnekler **BtsI** enzim kesimi uygulandı. Ürünler %2'lik agaroz jelde kontrol edildi (Şekil 3.12).

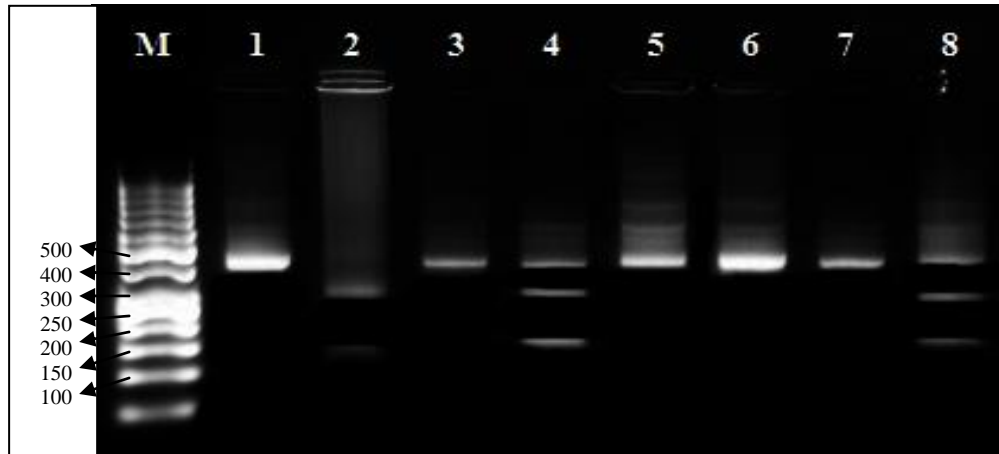
Homozigot AA : 281bç, 130bç, 8bç büyüklüğünde 3 bant

Homozigot GG : 411bç, 8bç büyüklüğünde 2 bant

Heterozigot AG : 411bç, 281bç, 130bç, 8bç büyüklüğünde 4 bant



**Şekil 3.11:** B7-H4 geni rs3738414 polimorfizmi, 419 bç'lik amplifikasyon ürününün %2'lik agaroz jelde görüntülenmesi. M: Marker DNA (50bç, 100bç, 150bp, 200bç, 250bç, 300bç, 400bç, 500bp, 600bç, 700bç, 800bç, 900bç,1000bp). 1-8: Olgulara ait amplifikasyon ürünü.



**Şekil 3.12:** B7-H4 geni rs3738414 polimorfizmi, 419 bç'lik amplifikasyon ürününün BtsI enzimi ile yapılan RFLP sonuçlarının %2'lik agaroz jelde görüntülenmesi. M: Marker DNA (50bç, 100bç, 150bp, 200bç, 250bç, 300bç, 400bç, 500bp, 600bç, 700bç, 800bç, 900bç,1000bp). 1-8: Olgulara ait BtsI enzim kesim ürünleri. Homozigot AA: 281bç, 130bç, 8bç büyüklüğünde 3 bant (2. örnek). Homozigot GG: 411bç, 8bç büyüklüğünde 2 bant (1., 3., 5., 6. ve 7. örnekler). Heterozigot AG: 411bç, 281bç, 130bç, 8bç büyüklüğünde 4 bant (4. ve 8. örnekler). 1:GG, 2:AA, 3:GG, 4:AG; 5:GG, 6:GG, 7:GG, 8:AG.

Meme kanserli 31 olgu ve kanser tanısı bulunmayan benzer yaş aralığındaki 30 kadın kontrol grubunda FGFR2 geni rs1219648, rs2981582 SNP'leri dizi analizi, B7-H4 geni rs10754339, rs10801935 ve rs3738414 SNP'leri PCR-RFLP yöntemiyle belirlendi.

FGFR2 rs2981582 polimorfizminin genotip dağılımı olgu grubunda %19,4 (6/31) CC, %51,6 (16/31) CT, %29 (9/31) TT; kontrol grubunda %26,7 (8/30) CC, %40 (12/30) CT, %33,3 (10/30) TT bulunmuştur. Gruplar arasında FGFR2 rs2981582 polimorfizminin genotip dağılımı açısından istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (sırasıyla;  $p=0,554$ ;  $p=0,444$ ;  $p=0,786$ ) (Tablo 3.1.).

FGFR2 rs1219648 polimorfizminin genotip dağılımı olgu grubunda %12,9 (4/31) AA, %58,1 (18/31) AG, %29 (9/31) GG; kontrol grubunda %30 (9/30) AA, %33,3 (10/30) AG, %36,7 (11/30) GG bulunmuştur. Gruplar arasında FGFR2 rs1219648 polimorfizminin genotip dağılımı açısından istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (sırasıyla;  $p=0,127$ ;  $p=0,073$ ;  $p=0,592$ ) (Tablo 3.2.).

B7-H4 rs10754339 polimorfizminin genotip dağılımı olgu grubunda, %77,4 (24/31) AA, %19,4 (6/31) AG, %3,2 (1/31) GG; kontrol grubunda, %86,7 (26/30) AA, %10 (3/30) AG, %3,3 (1/30) GG bulunmuştur. Gruplar arasında B7-H4 rs10754339 polimorfizminin genotip dağılımı açısından istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (sırasıyla;  $p=0,508$ ;  $p=0,473$ ;  $p=1,000$ ) (Tablo 3.3.).

B7-H4 rs10801935 polimorfizminin genotip dağılımı olgu grubunda, %35,5 (11/31) AA, %51,6 (16/31) AC, %12,9 (4/31) CC; kontrol grubunda, %26,7 (8/30) AA, %43,3 (13/30) AC, %30 (9/30) CC bulunmuştur. Gruplar arasında B7-H4 rs10801935 polimorfizminin genotip dağılımı açısından istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (sırasıyla;  $p=0,582$ ;  $p=0,611$ ;  $p=0,127$ ) (Tablo 3.4.).

B7-H4 rs3738414 polimorfizminin genotip dağılımı olgu grubunda, %9,7 (3/31) AA, %45,2 (14/31) AG, %45,2 (14/31) GG; kontrol grubunda %3,3 (1/30) AA, %20 (6/30) AG, %76,7 (23/30) GG bulunmuştur. Gruplar arasında B7-H4 rs3738414 polimorfizminin genotip dağılımında AA ve AG genotipleri açısından istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmazken, GG genotipi dağılımı açısından anlamlı fark tespit edilmiştir (sırasıyla;  $p=0,612$ ;  $p=0,056$ ;  $p=0,018$ ) (Tablo 3.4.).

**Tablo 3.1.** Hasta ve kontrol gruplarında FGFR2 rs2981582 C/T polimorfizmi için genotip dağılımı

Gruplar	FGFR2 rs2981582 CC Genotip Sıklığı (n/%)	FGFR2 rs2981582 CT Genotip Sıklığı (n/%)	FGFR2 rs2981582 TT Genotip Sıklığı (n/%)
<b>Hasta (n=31)</b>	6 (% 19,4)	16 (%51,6)	9 (% 29)
<b>Kontrol (n=30)</b>	8 (%26,7 )	12 (%40)	10 (%33,3 )

**Tablo 3.2.** Hasta ve kontrol gruplarında FGFR2 rs1219648 A/G polimorfizmi için genotip dağılımı

Gruplar	FGFR2 rs1219648 AA Genotip Sıklığı (n/%)	FGFR2 rs1219648 AG Genotip Sıklığı (n/%)	FGFR2 rs1219648 GG Genotip Sıklığı (n/%)
<b>Hasta (n=31)</b>	4 (% 12,9)	18 (%58,1)	9 (%29)
<b>Kontrol (n=30)</b>	9 (%30)	10 (%33,3)	11 (%36,7)

**Tablo 3.3.** Hasta ve kontrol gruplarında B7-H4 rs10754339 G/A polimorfizmi için genotip dağılımı

Gruplar	B7-H4 rs10754339 AA Genotip Sıklığı (n/%)	B7-H4 rs10754339 AG Genotip Sıklığı (n/%)	B7-H4 rs10754339 GG Genotip Sıklığı (n/%)
<b>Hasta (n=31)</b>	24 (%77,4)	6 (%19,4)	1 (%3,2)
<b>Kontrol (n=30)</b>	26 (%86,7)	3 (%10)	1 (%3,3)

**Tablo 3.4.** Hasta ve kontrol gruplarında B7-H4 rs10801935 C/A polimorfizmi için genotip dağılımı

Gruplar	B7-H4 rs10801935 AA Genotip Sıklığı (n/%)	B7-H4 rs10801935 AC Genotip Sıklığı (n/%)	B7-H4 rs10801935 CC Genotip Sıklığı (n/%)
<b>Hasta (n=31)</b>	11 (%35,5)	16 (%51,6)	4 (%12,9)
<b>Kontrol (n=30)</b>	8 (%26,7)	13 (%43,3)	9 (%30)

**Tablo 3.5.** Hasta ve kontrol gruplarında B7-H4 rs3738414 A/G polimorfizmi için genotip dağılımı

Gruplar	B7-H4 rs3738414 AA Genotip Sıklığı (n/%)	B7-H4 rs3738414 AG Genotip Sıklığı (n/%)	B7-H4 rs3738414 GG Genotip Sıklığı (n/%)
<b>Hasta (n=31)</b>	3 (%9,7)	14 (%45,2)	14 (%45,2)
<b>Kontrol (n=30)</b>	1 (%3,3)	6 (%20)	23 (%76,7)

Meme kanseri hasta grubunda 50 yaş üstünde 23 (%74,19) olgu mevcutken, 50 yaş altında 8 (%25,81) olgu bulunmaktadır. 50 yaş üstündeki bireylerde FGFR2 ve B7-H4 geni genotiplerinin bulunma yüzdeleriyle, 50 yaş altındaki bireylerde FGFR2 ve B7-H4 geni genotiplerinin bulunma yüzdeleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. ( $p>0.05$ ). (Tablo 3.6.)

**Tablo 3.6.** Meme kanseri hasta grubunda yaş durumunun FGFR2 ve B7-H4 geni genotipleriyle ilişkisinin değerlendirilmesi

<b>Meme Kanseri Hasta Grubunda Yaş Durumu</b>															
50 Yaş Üstündekiler (n=23)															
Gen	FGFR2						B7-H4								
SNP	rs2981582			rs1219648			rs10754339			rs10801935			rs3738414		
Genotipler	TT	CC	CT	GG	AA	AG	GG	AA	AG	AA	CC	AC	GG	AA	AG
<b>n</b>	6	5	12	8	3	12	1	18	4	7	4	12	10	1	12
<b>%</b>	26,1	21,7	52,2	34,8	13	52,2	4,4	78,3	17,4	30,4	17,4	52,2	43,5	4,4	52,2
50 Yaş Altındakiler (n=8)															
Gen	FGFR2						B7-H4								
SNP	rs2981582			rs1219648			rs10754339			rs10801935			rs3738414		
Genotipler	TT	CC	CT	GG	AA	AG	GG	AA	AG	AA	CC	AC	GG	AA	AG
<b>n</b>	3	1	4	1	1	6	0	6	2	4	0	4	4	2	2
<b>%</b>	37,5	12,5	50	12,5	12,5	75	0	75	25	50	0	50	50	25	25
<b>p değeri</b>	0,660	1,000	1,000	0,379	1,000	0,412	1,000	1,000	0,634	0,405	0,550	1,000	1,000	0,156	0,240

Meme kanseri hasta grubunda premenopozal birey sayısı 11 (%35,48) iken, postmenopozal birey sayısı 20 (%64,52)'dir. Premenopozal bireylerde FGFR2 ve B7-H4 geni genotiplerinin bulunma yüzdeleriyle, postmenopozal bireylerde FGFR2

ve B7-H4 geni genotiplerinin bulunma yüzdeleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. ( $p>0.05$ ). (Tablo 3.7.)

**Tablo 3.7.** Meme kanseri hasta grubunda menopozal durumunun FGFR2 ve B7-H4 geni genotipleriyle ilişkisinin değerlendirilmesi

<b>Meme Kanseri Hasta Grubunda Menopozal Durum</b>															
Premenopozal Olanlar (n=11)															
Gen	FGFR2						B7-H4								
SNP	rs2981582			rs1219648			rs10754339			rs10801935			rs3738414		
Genotipler	TT	CC	CT	GG	AA	AG	GG	AA	AG	AA	CC	AC	GG	AA	AG
n	5	1	5	4	2	5	1	7	3	4	3	4	5	1	5
%	45,45	9,1	45,45	36,36	18,18	45,45	9,1	63,64	27,27	36,36	27,27	36,36	45,45	9,1	45,45
Postmenopozal Olanlar (n=20)															
Gen	FGFR2						B7-H4								
SNP	rs2981582			rs1219648			rs10754339			rs10801935			rs3738414		
Genotipler	TT	CC	CT	GG	AA	AG	GG	AA	AG	AA	CC	AC	GG	AA	AG
n	4	5	11	6	1	13	0	17	3	7	1	12	10	2	8
%	20	25	55	30	5	65	0	85	15	35	5	60	50	10	40
p değeri	0,217	0,383	0,716	0,683	0,601	0,449	0,355	0,210	0,638	1,000	0,115	0,273	1,000	1,000	1,000

Meme kanseri hasta grubunda ailesinde meme kanseri öyküsü bulunan 8 (%25,81) birey mevcutken, bulunmayan 23 (%74,19) birey mevcuttur. Ailesinde meme kanseri öyküsü bulunan bireylerde FGFR2 ve B7-H4 geni genotiplerinin bulunma yüzdeleriyle, ailesinde meme kanseri bulunmayan bireylerde FGFR2 ve B7-H4 geni genotiplerinin bulunma yüzdeleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. ( $p>0.05$ ). (Tablo 3.8.)

**Tablo 3.8.** Meme kanseri hasta grubunda ailede meme kanseri bulunma durumunun FGFR2 ve B7-H4 geni genotipleriyle ilişkisinin değerlendirilmesi

<b>Meme Kanseri Hasta Grubunda Ailede Meme Kanseri Bulunma Durumu</b>															
Ailesinde Meme Kanseri Bulunanlar (n=8)															
Gen	FGFR2						B7-H4								
SNP	rs2981582			rs1219648			rs10754339			rs10801935			rs3738414		
Genotipler	TT	CC	CT	GG	AA	AG	GG	AA	AG	AA	CC	AC	GG	AA	AG
<b>n</b>	1	3	4	3	1	4	0	7	1	4	0	4	4	1	3
<b>%</b>	12,5	37,5	50	37,5	12,5	50	0	87,5	12,5	50	0	50	50	12,5	37,5
Ailesinde Meme Kanseri Bulunmayanlar (n=23)															
Gen	FGFR2						B7-H4								
SNP	rs2981582			rs1219648			rs10754339			rs10801935			rs3738414		
Genotipler	TT	CC	CT	GG	AA	AG	GG	AA	AG	AA	CC	AC	GG	AA	AG
<b>n</b>	8	3	12	8	1	14	1	17	5	7	4	12	10	2	11
<b>%</b>	34,8	13,04	52,2	34,8	4,35	60,9	4,35	73,9	21,74	30,44	17,39	52,17	43,48	8,7	47,83
<b>p değeri</b>	0,379	0,161	1,000	0,660	1,000	0,689	1,000	0,642	1,000	0,405	0,550	1,000	0,698	1,000	1,000

Meme kanseri hasta grubunda östrojen reseptör (ER) pozitif birey sayısı 20 (%64,52) iken, östrojen reseptör (ER) negatif birey sayısı 11 (%35,48)'dir. Östrojen reseptör (ER) pozitif bireylerde FGFR2 ve B7-H4 geni genotiplerinin bulunma yüzdeleriyle, östrojen reseptör (ER) negatif bireylerde FGFR2 ve B7-H4 geni genotiplerinin bulunma yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. ( $p>0.05$ ). (Tablo 3.9.)

**Tablo 3.9.** Meme kanseri hasta grubunda östrojen reseptör (ER) durumunun FGFR2 ve B7-H4 geni genotipleriyle ilişkisinin değerlendirilmesi

<b>Meme Kanseri Hasta Grubunda Östrojen Reseptör (ER) Durumu</b>															
ER Pozitif Olanlar (n=20)															
Gen	FGFR2						B7-H4								
SNP	rs2981582			rs1219648			rs10754339			rs10801935			rs3738414		
Genotipler	TT	CC	CT	GG	AA	AG	GG	AA	AG	AA	CC	AC	GG	AA	AG
<b>n</b>	4	4	12	5	2	13	1	18	1	9	2	9	8	2	10
<b>%</b>	20	20	60	25	10	65	5	90	5	45	10	45	40	10	50
ER Negatif Olanlar (n=11)															
Gen	FGFR2						B7-H4								
SNP	rs2981582			rs1219648			rs10754339			rs10801935			rs3738414		
Genotipler	TT	CC	CT	GG	AA	AG	GG	AA	AG	AA	CC	AC	GG	AA	AG
<b>n</b>	5	2	4	4	2	5	0	7	4	2	2	7	6	1	4
<b>%</b>	45,5	18,2	36,36	36,36	18,2	45,5	0	63,64	36,36	18,2	18,2	63,64	54,6	9,1	36,36
<b>p değeri</b>	0,217	1,000	0,273	0,683	0,601	0,449	1,000	0,210	0,151	0,241	0,601	0,458	0,477	1,000	0,707



Meme kanseri hasta grubunda progesteron reseptör (PR) pozitif birey sayısı 21 (%67,74) iken, progesteron reseptör (PR) negatif birey sayısı 10 (%32,26)'dur. progesteron reseptör (PR) pozitif bireylerde FGFR2 ve B7-H4 geni genotiplerinin bulunma yüzdeleriyle, progesteron reseptör (PR) negatif bireylerde FGFR2 ve B7-H4 geni genotiplerinin bulunma yüzdeleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. ( $p>0.05$ ). (Tablo 3.10.)

**Tablo 3.10.** Meme kanseri hasta grubunda progesteron reseptör (PR) durumunun FGFR2 ve B7-H4 geni genotipleriyle ilişkisinin değerlendirilmesi

<b>Meme Kanseri Hasta Grubunda Progesteron Reseptör (PR) Durumu</b>															
PR Pozitif Olanlar (n=21)															
Gen	FGFR2						B7-H4								
SNP	rs2981582			rs1219648			rs10754339			rs10801935			rs3738414		
Genotipler	TT	CC	CT	GG	AA	AG	GG	AA	AG	AA	CC	AC	GG	AA	AG
n	5	5	11	5	3	13	1	18	2	9	2	10	8	2	11
%	23,81	23,81	52,38	23,81	14,29	61,91	4,76	85,71	9,52	42,86	9,52	47,62	38,1	9,52	52,38
PR Negatif Olanlar (n=10)															
Gen	FGFR2						B7-H4								
SNP	rs2981582			rs1219648			rs10754339			rs10801935			rs3738414		
Genotipler	TT	CC	CT	GG	AA	AG	GG	AA	AG	AA	CC	AC	GG	AA	AG
n	4	1	5	4	1	5	0	7	3	2	2	6	6	1	3
%	40	10	50	40	10	50	0	70	30	20	20	60	60	10	30
p değeri	0,417	0,634	1,000	0,417	1,000	0,701	1,000	0,652	0,358	0,262	0,577	0,704	0,441	1,000	0,280

Meme kanseri hasta grubunda c-erb-B2 (HER-2/neu) pozitif birey sayısı 13 (%41,94) iken, c-erb-B2 (HER-2/neu) negatif birey sayısı 18 (%58,1)'dir. C-erb-B2 (HER-2/neu) pozitif bireylerde FGFR2 ve B7-H4 geni genotiplerinin bulunma yüzdeleriyle, c-erb-B2 (HER-2/neu) negatif bireylerde FGFR2 ve B7-H4 geni genotiplerinin bulunma yüzdeleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. ( $p>0.05$ ). (Tablo 3.11.)

**Tablo 3.11.** Meme kanseri hasta grubunda c-erb-B2 (HER-2/neu) durumunun FGFR2 ve B7-H4 geni genotipleriyle ilişkisinin değerlendirilmesi

<b>Meme Kanseri Hasta Grubunda c-erb-B2 (HER-2/neu) Durumu</b>															
c-erb-B2 Pozitif Olanlar (n=13)															
Gen	FGFR2						B7-H4								
SNP	rs2981582			rs1219648			rs10754339			rs10801935			rs3738414		
Genotipler	TT	CC	CT	GG	AA	AG	GG	AA	AG	AA	CC	AC	GG	AA	AG
n	4	4	5	4	2	7	1	10	2	3	0	10	9	0	4
%	30,77	30,77	38,46	30,77	15,39	53,85	7,69	76,92	15,39	23,1	0	76,92	69,23	0	30,77
c-erb-B2 Negatif Olanlar (n=18)															
Gen	FGFR2						B7-H4								
SNP	rs2981582			rs1219648			rs10754339			rs10801935			rs3738414		
Genotipler	TT	CC	CT	GG	AA	AG	GG	AA	AG	AA	CC	AC	GG	AA	AG
n	5	2	11	5	2	11	0	14	4	7	4	7	6	2	10
%	27,8	11,11	61,11	27,78	11,11	61,11	0	77,78	22,22	38,89	22,22	38,89	33,33	11,11	55,56
p değeri	1,000	0,208	0,285	1,000	1,000	0,727	0,419	1,000	1,000	0,718	0,120	0,149	0,157	1,000	0,275

Meme kanseri hasta grubunda tümör büyüklüğü TB  $\leq$ 2cm olan birey sayısı 3 (%9,68), 2cm<TB  $\leq$  5cm olan birey sayısı 19 (%61,3), TB>5cm olan birey sayısı ise 9 (%29)'dur. Tümör büyüklükleriyle FGFR2 ve B7-H4 geni genotiplerinin bulunma yüzdeleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0.05) (Tablo 3.12.).

**Tablo 3.12.** Meme kanseri hasta grubunda tümör büyüklüğü durumunun FGFR2 ve B7-H4 geni genotipleriyle ilişkisinin değerlendirilmesi

<b>Meme Kanseri Hasta Grubunda Tümör Büyüklüğü (TB) Durumu</b>															
TB $\leq$ 2cm Olanlar (n=3)															
Gen	FGFR2						B7-H4								
SNP	rs2981582			rs1219648			rs10754339			rs10801935			rs3738414		
Genotipler	TT	CC	CT	GG	AA	AG	GG	AA	AG	AA	CC	AC	GG	AA	AG
n	1	1	1	1	1	1	0	3	0	1	0	2	2	0	1
%	33,33	33,33	33,33	33,33	33,33	33,33	0	100	0	33,33	0	66,67	66,67	0	33,33
2cm<TB $\leq$ 5cm Olanlar (n=19)															
Gen	FGFR2						B7-H4								
SNP	rs2981582			rs1219648			rs10754339			rs10801935			rs3738414		
Genotipler	TT	CC	CT	GG	AA	AG	GG	AA	AG	AA	CC	AC	GG	AA	AG
n	5	5	9	4	3	12	0	13	6	6	3	10	7	2	10
%	26,32	26,32	47,37	21,1	15,79	63,16	0	68,42	31,58	31,58	15,79	52,63	36,84	10,53	52,63
TB>5cm Olanlar (n=9)															
Gen	FGFR2						B7-H4								
SNP	rs2981582			rs1219648			rs10754339			rs10801935			rs3738414		
Genotipler	TT	CC	CT	GG	AA	AG	GG	AA	AG	AA	CC	AC	GG	AA	AG
n	3	0	6	4	0	5	1	8	0	4	1	4	5	1	3
%	33,33	0	66,67	44,44	0	55,56	11,11	88,89	0	44,44	5,26	44,44	55,56	11,11	33,33
p değeri	0,916	0,210	0,508	0,438	0,274	0,613	0,283	0,296	0,095	0,799	0,737	0,792	0,476	0,836	0,575

Meme kanseri hasta grubunda lenf nodu pozitif birey sayısı 22 (%70,97) iken, lenf nodu negatif birey sayısı 9 (%29,03)'dur. Lenf nodu pozitif bireylerde FGFR2 ve B7-H4 geni genotiplerinin bulunma yüzdeleriyle, lenf nodu (PR) negatif bireylerde FGFR2 ve B7-H4 geni genotiplerinin bulunma yüzdeleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. ( $p>0.05$ ). (Tablo 3.13.)

**Tablo 3.13.** Meme kanseri hasta grubunda lenf nodu tutulumu durumunun FGFR2 ve B7-H4 geni genotipleriyle ilişkisinin değerlendirilmesi

<b>Meme Kanseri Hasta Grubunda Lenf Nodu Tutulumu Durumu</b>															
Lenf Nodu Pozitif Olanlar (n=22)															
Gen	FGFR2						B7-H4								
SNP	rs2981582			rs1219648			rs10754339			rs10801935			rs3738414		
Genotipler	TT	CC	CT	GG	AA	AG	GG	AA	AG	AA	CC	AC	GG	AA	AG
<b>n</b>	7	5	10	8	3	11	1	15	6	8	3	11	11	2	9
<b>%</b>	31,82	22,73	45,45	36,36	13,64	50	4,55	68,18	27,27	36,36	13,64	50	50	9,1	40,91
Lenf Nodu Negatif Olanlar (n=9)															
Gen	FGFR2						B7-H4								
SNP	rs2981582			rs1219648			rs10754339			rs10801935			rs3738414		
Genotipler	TT	CC	CT	GG	AA	AG	GG	AA	AG	AA	CC	AC	GG	AA	AG
<b>n</b>	2	1	6	1	1	7	0	9	0	3	1	5	3	1	5
<b>%</b>	22,22	11,11	66,67	11,11	11,11	77,78	0	100	0	33,33	11,11	55,56	33,33	11,11	55,56
<b>p değeri</b>	0,689	0,642	0,433	0,220	1,000	0,237	1,000	0,077	0,145	1,000	1,000	1,000	0,456	1,000	0,693

#### 4. TARTIŞMA

Meme kanseri ve diğer maligniteler hücre büyümesi ve gelişimine katılan önemli hücresel yolları etkileyen genetik değişimler ile çok adımlı bir işlem sonucu ortaya çıkar (<http://www.ctf.edu.tr/stek/pdfs/54/5402.pdf>).

Dünyada meme kanseri, kadınlarda görülen kanser türleri arasında ilk sırada, kanser nedeniyle oluşan ölümlerde ise akciğer kanserinden sonra ikinci sırada yer almaktadır. Ülkemizde ise meme kanseri %24,96 oranıyla kadınlarda görülen kanserler arasında birinci sıradadır. Kadınların meme kanserine yakalanma riski oldukça yüksek olup bir çok faktör meme kanseri riskini artırmaktadır. Cinsiyet, yaş, ailesel ve genetik faktörler, memede daha önceden kanser yada atipik hiperplazi olması, ırk, radyasyona maruz kalma, menarşın 12 yaşın altında, menopozun 55 yaşın üzerinde başlaması meme kanseri ile ilgili önemli risk faktörleri olmakla birlikte, hiç doğum yapmama veya 30 yaş sonrası gebelik, over aktivitesi, oral kontraseptif kullanma, menopoz sonrası dönemde hormon replasman tedavisi görme, laktasyon, alkol kullanımı, obezite ve yağlı diyet, fiziksel aktivite meme kanseri ile ilgili olduğu düşünülen yaşam tarzı ile ilgili diğer risk faktörleridir (Koç ve Sağlam, 2009).

Düşük-penetranslı yatkınlık genlerinin çevresel ve kalıtsal faktörlerle birleştiğinde, karsinogenez için önemli olduğu ortaya konmuştur. Son zamanlarda yaygın düşük-penetrant genlerden FGFR2 geni potansiyel bir meme kanseri yatkınlık geni olarak tanımlanmıştır (Zhang J ve ark., 2010).

FGFR2 geni, FGF reseptörleri olarak görev yapan farklı ekspresyon domainleri ve ligand spesifiteleri olan FGFR2b ve FGFR2c izoformlarını kodlar. (Katoh ve Katoh, 2009). FGFR2, reseptör tirozin kinaz (RTK)'ların FGFR ailesinin bir üyesidir. FGF-reseptörleri, hücre proliferasyonu, farklılaşma, migrasyon ve hücresel homeostasinin korunması gibi pek çok hücresel prosesin kontrolünde önemli bir rol oynar (Lew ve ark., 2007). FGFR2 şartlara ve çevreye bağlı olarak onkogenik veya anti-onkogenik roller oynar. FGFR2 geninin missens veya kopya sayısı kazanımı mutasyonları FGFR2 sinyalini aktive etmek üzere meme kanseri ve gastrik kanserde oluşmaktadır. Anormal FGFR2 sinyal aktivasyonu tümör hücrelerinin proliferasyon ve canlı kalma yeteneklerini indükler. FGFR2b formundan FGFR2c formuna geçiş, spliceosome disregülasyonu nedeniyle, prostat ve mesane kanserinin ilerleme sürecinde

oluşmaktadır. Epidermal FGFR2b knockout fareler, reaktif oksijen türlerinin (ROS), Nfe2l2 (Nrf2)-aracılı detoksifikasyon yetmezliği nedeniyle kimyasal karsinojenlere karşı artmış hassasiyet göstermektedirler. FGFR2b sinyal kaybı, epitelyalden-mezenkimale geçişi (EMT) ve ROS'u indükler. Kronik inflamasyon, sigara, yüksek kalori alımı, yetersiz egzersiz, hayat boyunca ortaya çıkan genetik değişimler ve epigenetik modifikasyonların birikimi nedeniyle FGFR2 sinyalinin düzenlenememesi karsinogeneze yol açmaktadır (Kato ve Kato, 2009).

Son zamanlarda iki bağımsız genome-wide asosiyasyon (GWA) çalışmasında pek çok polimorfik lokusun meme kanseri riskiyle asosiyasyon gösterdiği belirlenmiştir. En güçlü asosiyasyonlardan biri FGFR2 geninde bulunmuştur (Hunter ve ark., 2007; Easton ve ark., 2007).

Hem GWA hem de sonrasında yapılan çalışmalar, asosiyasyon lokusunun intron 2'deki ~20 kb'ı kapsayan bir bağlantı dengesizliği ile (LD=linkage disequilibrium) sınırlı olduğunu düşündürmüştür. Bununla birlikte, bu asosiyasyonun sınırı ve intron 2'deki esas neden olan varyantın hangisi olduğu konusundaki cevap kesin değildir. Easton ve ark.'nın çalışmasında intron 2'nin upstream sınırında lokalize rs2981582 en anlamlı asosiyasyonu gösteren SNP olurken (Boyarskikh ve ark., 2009), Hunter ve ark.'nın meme kanseri riskiyle en fazla asosiyasyon bildirdiği SNP rs1219648 olmuştur. Raskin ve ark. kendi çalışma gruplarında da değerlendirdikleri, Hunter ve ark. meme kanseri riskiyle asosiyasyon bildirdiği dört SNP ile (rs11200014, rs2981579, rs1219648, rs2420946) Easton ve ark. asosiyasyon bildirdiği rs2981582'nin yüksek bağlantı dengesizliği (LD) içinde olduğunu, dolayısıyla aslında her iki GWA çalışmasının da aynı asosiyasyonu bulduğunu belirtmişlerdir (Raskin ve ark., 2008).

Çalışmamızda biz de meme kanserli 31 olgu ve kanser tanısı bulunmayan benzer yaş aralığındaki 30 kadın kontrol grubunda Easton ve Hunter'ın meme kanserinde en fazla asosiyasyon bildirdiği sırasıyla FGFR2 geni rs2981582, rs1219648 SNP'lerini değerlendirerek, bu polimorfizmlerin meme kanserindeki etkisini belirlemeyi amaçladık.

Şimdiye kadar FGFR2 geni polimorfizmleri ile meme kanseri riski asosiyasyonunu farklı populasyonlarda değerlendirilen çalışmalar ortaya konmuştur. Yapılan çalışmalarda; Huijts ve ark., Hollanda populasyonunda rs2981582'yi ; Liang ve ark.

Çin populasyonunda rs2981582 ve rs1219648'i; Raskin ve ark., Arap-İsraillileri ve Yahudi populasyonunda rs1219648'i; Kawase ve ark. Japon populasyonunda rs2981582 ve rs1219648'yi; Rebbeck ve ark. Afrika-Amerikalıları ve Avrupa-Amerikalılarında rs2981582 ve rs1219648'i; Boyarskikh ve ark. Batı Sibirya Rus populasyonunda rs2981582'yi; Garcia-Closas ve ark. yaptıkları multi etnik çalışmaya (İspanya, Danimarka, Hollanda, Amerika, İsveç, Finlandiya, Avustralya populasyonları) rs2981582'yi dahil etmişlerdir.

Şimdiye kadar farklı populasyonlarda FGFR2 geni SNP'leri ve meme kanseriyle olan asosiyasyonu değerlendirilmiş olmasına rağmen, literatürde Türk toplumuna ait bu konuda bir çalışma bulunmamıştır. Bizim çalışmamız Türk toplumunda yapılan ilk çalışmadır. Çalışmamız sonucunda FGFR2 rs2981582 polimorfizminin genotip dağılımı olgu grubunda, %19,4 (6/31) CC, %51,6 (16/31) CT, %29 (9/31) TT; kontrol grubunda, %26,7 (8/30) CC, %40 (12/30) CT, %33,3 (10/30) TT bulunmuştur. FGFR2 rs2981582 için meme kanserli hasta grubunda T allel frekansı %40,32 (25/62); kontrol grubunda %36,67 (22/60) olarak bulunmuştur. FGFR2 rs1219648 polimorfizminin genotip dağılımı olgu grubunda, %12,9 (4/31) AA, %58,1 (18/31) AG, %29 (9/31) GG; kontrol grubunda, %30 (9/30) AA, %33,3 (10/30) AG, %36,7 (11/30) GG bulunmuştur. FGFR2 rs1219648 için meme kanserli hasta grubunda G allel frekansı %43,55 (27/62); kontrol grubunda %36,67 (22/60) olarak bulunmuştur. Çalışmamıza göre FGFR2 rs2981582 ve rs1219648 bizim olgu grubumuzda meme kanseriyle asosiye görünmemektedir ( $p>0.05$ ). Bununla birlikte, FGFR2 rs1219648 için kontrol grubuna kıyasla (%33,3 AG; %36,67 G alleli) meme kanserli olgu grubunda yüksek frekansta %58,1 AG genotipi ve %43,55 G allel frekansı ve rs2981582 için kontrol grubuna kıyasla (%40 CT; %36,67 T alleli) meme kanserli olgu grubunda yüksek frekansta %51,6 CT genotipi ve %40,32 T allel frekansı gözlenmiş olup, bizim olgu grubumuzda FGFR2 rs2981582 CT genotipi ve T allel frekansının; rs1219648 AG genotipi ve G allel frekansının meme kanseriyle asosiye olduğu söylenebilir, bu sonuçların istatistiki olarak anlamlı bulunmaması çalışmaya dahil olan birey sayısının azlığına bağlanabilir.

Liang ve ark. 1049 meme kanserli, 1073 kanserli olmayan kontrol grubunda yaptıkları çalışmada, rs2981582 C/T, rs1219648 A/G ve rs2420946 C/T varyant genotiplerinin Çin populasyonunda yüksek meme kanseri riskiyle asosiye olduğunu

bulmuşlardır. Liang ve ark. rs2981582 C/T polimorfizmi için meme kanserli olgularda %43,57 (447/1026) CC genotipi, %44,83 (460/1026) CT genotipi, %11,6 (119/1026) TT genotipi bulmuş olup, %56,43 (579/1026) oranında T allel frekansı (TT+CT) saptamışlardır. Kontrol grubunda ise sırasıyla CC %50,09 (517/1028), CT %41,34 (439/1062), TT %8,57 (91/1062), T allel frekansı (TT+CT) %49,91 (530/1062) olarak bulunmuştur (Liang ve ark., 2008).

rs1219648 A/G polimorfizmi için meme kanseri olgularında %31,81 (327/1028) AA genotipi, % 50,29 (517/1028) AG genotipi, %17,90 (184/1028) GG genotipi bulunmuş olup, %68,19 (701/1028) oranında G allel frekansı (AG+GG) tespit etmişlerdir. Kontrol grubunda ise bu oran sırasıyla %37,01 (393/1062) AA, %48,96 (520/1062) AG, %14,03 (149/1062) GG ve %62,99 G allel frekansı (AG+GG) olarak bulunmuştur. Liang ve ark. çalışmasında FGFR2 rs2981582, yabanıl tip CC genotipiyle kıyasla, yüksek meme kanseri riskiyle asosiyasyon göstermiştir, aynı şekilde rs1219648 AA genotipiyle kıyasla AG genotipi ve GG genotipinde ve kombine AG/GG genotiplerinde anlamlı derecede artmış risk gözlenmiştir. Çalışılan üç SNP için en yaygın olan CAC haplotipine göre TGT haplotipi 1,27 kat artmış meme kanseri riskiyle asosiyasyon bulunmuştur. Artmış risk ER<sup>+</sup>/PR<sup>+</sup> ve premenopozal olgularda daha fazla saptanmıştır. (Liang J ve ark., 2008) Bizim çalışmamız FGFR2 rs2981582 için Liang ve ark., çalışmasıyla uyumlu bulunmazken; FGFR2 rs2981582 CT genotipi ve T allel frekansının; rs1219648 AG genotipinin ve G allel frekansının olgu grubunda daha yüksek bulunması itibariyle Liang ve ark. çalışmasıyla uyumludur.

Samson M. ve ark. 250 meme kanserli, 500 uygun yaştaki kontrolle yaptıkları çalışmada, CYP17 T34C ve FGFR2 C906T (rs2981582) polimorfizmlerinin Güney Hindistanlı kadınlarda meme kanseri riskiyle asosiyasyonunu araştırmışlardır. Bu çalışmada Samson ve ark. FGFR2 C906T polimorfizmi için, meme kanserli olgularda %50,8 (127/250) CC/CC, %14 (35/250) TT/TT, %35,2 (88/250) CC/TT, kontrollerde %52,2 (261/500) CC/CC, %12,6 (63/500) TT/TT, %35,2 (176/500) CC/TT genotipi bulmuşlardır. Bu çalışmada FGFR2 C906T (rs2981582), batıdaki (Hunter, Easton) verilerle zıt olarak meme kanseriyle asosiyasyon göstermemiştir. (Samson M ve ark., 2009). Bizim bulgularımız da direkt olarak rs2981582 TT

genotipinin meme kanseriyle asosiasyon göstermemesi açısından Samson ve ark. ile uyumludur.

Boyarskikh ve ark. Rusya Federasyonu, Batı Sibirya'dan 766 meme kanserli olgu ve 665 kontrol grubuyla yaptıkları çalışmada, Easton ve ark. çalışmasında en anlamlı asosiasyonu gösteren rs2981582 ve yine bu çalışmada meme kanseri riskiyle asosiye ve en güçlü LD gösteren iki SNP (rs7895676, rs3135718) çalışmışlardır. Bu üç SNP'ye ilave olarak Avrupa LD bloğuna komşu olan 3' ve 5' uçlardan dört SNP daha seçmişlerdir. Bu çalışmada Boyarskikh ve ark. rs2981582 için Avrupa ve Asya populasyonlarının gösterdiği frekansın ortasında bir frekans tespit etmişlerdir. Buna göre, rs2981582 için meme kanserlilerde %32,3 (247/766) C/C, %16,5 (126/766) T/T, %48,4 (371/766) C/T genotipi; kontrol grubunda % 42,7 (284/665) C/C, %10,7 (71/665) T/T, %41,1 (273/665) C/T genotipi tespit edilmiştir. Boyarskikh ve ark. çalışmalarında FGFR2 geni intron 2'deki LD bloğu içinde yer alan SNP'lerin Rusya Batı Sibirya'daki Rus bayanlarda meme kanseri riskiyle asosiye olduğunu göstermişler, rs2981582 ve rs3135718'in en fazla asosiasyonu gösterdiğini bildirmişlerdir. Bizim sonuçlarımız Boyarskikh ve ark. çalışmasıyla rs2981582 TT genotipi açısından uyum göstermemekle birlikte CT allelin meme kanserli olgularda kontrolden yüksek olması açısından uyumludur. Boyarskikh ve ark. FGFR2 geni intron 2'de lokalize gerçek sebep olan varyantı belirlemek için ileri fonksiyonel çalışmalara ihtiyaç olduğunu ve kompleks özelliklerin varyasyonlarının asıl neden varyantı belirlemek için Rusları da içeren farklı populasyonlarda çalışma yapılmasının faydalı olduğunu altını çizmişlerdir (Boyarskikh ve ark., 2009).

Raskin ve ark. 1529 meme kanserli olgu, 1528 kontrolle yaptıkları çalışmada Hunter ve ark. yaptığı GWA çalışmasında meme kanseri riskiyle asosiye olduğu belirlenen FGFR2 polimorfizmlerinin (rs11200014, rs2981579, rs1219648, rs2420946) İsrail populasyonunda farklı etnik gruplardaki asosiasyonunu değerlendirmişlerdir. Hunter ve ark.'nın meme kanseri riskiyle en fazla asosiasyon bildirdiği rs1219648 için, Raskin ve ark.'nın çalışmasında Aşkenazi Yahudilerinde meme kanserli olgularda %31,9 (233/729) AA, %20 (146/729) GG, %48 (350/729) AG; kontrol grubunda %36,5 AA (250/685), %13,9 (95/685) GG, %49,6 (340/685) AG genotipi tespit edilmiştir. Sefardi Yahudilerinde aynı SNP için meme kanserli olgularda %21,1 (70/332) AA, %31,9 (106/332) GG, %46,99 (156/332) AG; kontrol grubunda %28,4



(112/395) AA, %24 (97/335) GG, %46,8 (185/395) AG genotipi gözlenmiştir. Arap İsrailileri populasyonunda ise yine aynı SNP için meme kanserli olgularda %27 (91/337) AA, %23,7 (80/337) GG, %49,3 (166/337) AG; kontrol grubunda %32,3 (107/331) AA, %22,96 (76/331) GG, %44,7 (148/331) AG genotipi gözlenmiştir. Raskin ve ark.'nın çalışması, araştırılan dört SNP ile post-menopozal meme kanseri arasında asosiasyon bildirmiştir. Bu çalışma, Hunter ve ark. yaptığı GWA çalışmasındaki bu güçlü ve bağıntılı asosiasyonu doğrulamış ve sonuçları diğer populasyon gruplarına genişletmiştir. FGFR2 Aşkenazi ve Sefardi Yahudilerinde bir meme kanseri yatkınlık geni olarak belirtilmiş ve Arap populasyonunda az bir risk oluşturduğu gözlenmiştir (Raskin L ve ark., 2008). Bizim sonuçlarımız Raskin ve ark.'nın Aşkenazi ve Sefardi Yahudilerinde buldukları sonucun tersine rs1219648 AG genotipini ve G allel frekansını olgu grubunda daha yüksek bulmamız itibariyle Raskin ve ark. çalışmasından farklılık göstermekteyken, bu açıdan Arap-İsraili populasyonunda bulduklarıyla uyum göstermektedir.

Meme kanseri riski asosiasyonu sadece intronik sekanslarda sınırlandığından, meme kanseri gelişiminde FGFR2 katılımının muhtemel mekanizmaları FGFR2 ekspresyonu ve alternatif splicinginin değişken regülasyonudur. Birinci ve akla yatkın hipotez, FGFR2'nin intron 2 bölgesinde pek çok transkripsiyon bağlanma bölgesinin varlığına dayandırılmıştır. FGFR2'nin alternatif splicingle oluşan dokuz farklı izoformunun anormal ekspresyonunun sinyal transdüksiyonu aktive ettiği ve meme kanseri hücrelerinde transformasyona yol açtığı gösterilmiştir (Raskin ve ark., 2008). FGFR2 SNP'lerinin lokalize olduğu intron 2, yüksek derecede korunmuş bölgeler içermektedir, östrojen reseptörüyle ilişkili olduğu düşünülen bölgeleri de içine alan transkripsiyon faktörü bağlanma bölgeleri açısından yoğundur, bu da hormon statüsünün bu SNP'ler ve meme kanseri riski arasındaki asosiasyonu etkileyebileceğini akla getirmektedir (Carroll ve ark., 2006).

Yapılan bir meta-analiz rs1219648 ve rs2420946 için postmenopozal kadınlarda riskin anlamlı derecede yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Bununla birlikte, sadece Kawase ve ark. (Kawase ve ark., 2009) riskin her üç SNP için premenopozal kadınlarda olduğunu bildirmiştir. Aynı meta-analizde bu genetik faktörlerin ve etkilerinin meme kanseri riskinde hormon-spesifik etkisinin değerlendirilebilmesi için premenopozal populasyonda çalışmalar yapılması gerektiği belirtilmiştir (Zhang

ve ark., 2010). Bizim çalışmamızda meme kanseri hasta grubunda premenopozal birey sayısı 11 (%35,48) iken, postmenopozal birey sayısı 20 (%64,52)'dir. Premenopozal bireylerde FGFR2 geni genotiplerinin bulunma yüzdeleriyle, postmenopozal bireylerde FGFR2 geni genotiplerinin bulunma yüzdeleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). Bununla birlikte, rs2981582 TT genotipi bizim çalışmamızda premenopozal meme kanserli olgularda (%45,45), postmenopozal olgulardan (%20) daha yüksek frekansta bulunmuştur; aksine rs1219648 AG genotipi postmenopozal meme kanserli olgularda (%65), premenopozal olgulardan (%45,45) daha yüksek frekansta bulunmuştur, çalışmamız bu açıdan Raskin ve ark.'nın çalışmasıyla da uyum göstermektedir.

FGFR2 meme tümörlerinin %10-15'inde amplifiye ve overeksprese olur (Grose ve ark., 2005; Moffa ve ark., 2007), insanda memeye ait epitelyal hücreleri transforme edebilir (Moffa ve ark., 2007) ve FGFR2 sinyalinin inhibisyonu, meme tümör hücresi proliferasyonunu inhibe edebilir (Koziczak ve ark., 2004). FGFR2 en az bir muhtemel ER-bağlanma bölgesi içermektedir. Bu yüzden, MAPK sinyal transdüksiyon yolağındaki genomik varyasyonun hormon maruziyetiyle kombinasyonunun meme kanseri yatkınlığını etkileyebilmesi biyolojik olarak olasıdır. FGFR2, RAS, RAF, MEK ve ERK'yi içeren c-Myc, Elk1, c-Jun ve c-Fos gibi önemli kanser genlerinin düzenlenmesinden sorumlu olan MAPK sinyal yolağında görev alır. MAPK sinyal transdüksiyon, hücrel regülasyon için kritik bir yolaktır ve pek çok hücre tipinde östrojeni de içine alan pek çok maruziyetle uyarılabilir (Watters ve ark., 1997; Klinge ve ark., 2005). FGFR2 etkilerinin ER+ ve PR+ tümörlerde ER-, PR- tümörlere göre daha fazla ilişkili (Garcia-Closas M ve ark., 2008) olduğu ve FGFR2'nin farklı meme kanseri alt tiplerinde farklı eksprese olduğu bildirilmiştir (Nordgard ve ark., 2007). FGFR2'nin Oct-1/Runx2 ve C/EBP $\beta$ -bağlanma bölgeleri, meme kanseri etiyojisinde FGFR2 ekspresyonunun fonksiyonel ilişkisi için bir açıklama olabilir (Rebbeck ve ark., 2009).

Rebbeck ve ark. 1225 Avrupalı-Amerikan (EA=European-American) ve 584 Afrikalı-Amerikan (AA=African-American) kadına ait örneklerle yaptıkları populasyona dayalı olgu-kontrol çalışmasında, FGFR2 ve MAP3KI genleriyle, meme tümör karakteristikleri ve hormona maruz kalma ilişkisini araştırmışlardır. FGFR2 rs1219648 ve rs2981582 genotiplerinin meme kanseriyle sadece Avrupalı-

Amerikalarda ER+, PR+ ve Her2/Neu negatif (HER2-) tümörlerde anlamlı derecede asosiyeye olduğunu bulmuşlardır. Kombine hormon replasman tedavisiyle (CHRT), FGFR2 rs1219648 genotipleri ve Avrupalı-Amerikan kadınlardaki meme kanseri riski arasında etkileşim gözlemişlerdir (Rebbeck ve ark., 2009).

Rebbeck ve ark. yaptıkları çalışmada FGFR2 rs1219648 için G allel frekansını EA meme kanserli olgularda %47, kontrollerde %43 oranında bulmuşlardır. rs2981582 T allelini meme kanserli olgularda %47, kontrollerde %43 oranında bulmuşlardır. FGFR2 rs2981582 için T alleli Afrikalı-Amerikan meme kanserli olgularda %46, kontrollerde %52; rs1219648 için G allel frekansı meme kanserli olgularda %46, kontrollerde %52 olarak bulunmuştur. Bizim sonuçlarımız da rs2981582 için T alleli meme kanserli olgularda %40,32, kontrollerde %36,67; rs1219648 için G allel frekansı meme kanserli olgularda %43,55, kontrollerde %36,67 bulunması itibariyle, Rebbeck ve ark.'nın EA meme kanserli olgu sonuçlarıyla uyumludur.

Rebbeck ve ark. EA postmenopozal kadınlardaki sonuçların aksine AA postmenopozal kadınlarda FGFR2'nin etkisini gözlememişlerdir (Rebbeck ve ark., 2009).

Garcia-Closas ve ark. yaptıkları çalışmada üç basamaklı bir GWAS'ın son zamanlarda beş lokusta (FGFR2, TNRC9, MAP3K1,8q24, LSP1) tanımladığı SNP'lerle (Huijts ve ark., 2007) meme kanseri riskinin klinik olarak önemli tümör karakteristikleriyle olan asosiasyonunu 20 farklı çalışmadan 23039 invazif meme kanseri olgusu ve 26273 kontrolde değerlendirmişlerdir. Çalışmaya dahil edilen tüm olgu ve kontrol grubu Avrupa ve Asya orjinli olmuştur. FGFR2'deki rs2981582 östrojen reseptör pozitif (ER+) hastalıkla, östrojen reseptör negatif (ER-) hastalıktan daha güçlü asosiasyon göstermiştir ( $p < 0,001$ ). Yine bu SNP progesteron reseptör pozitif (PR+), düşük grade, nod pozitif tümörlerle de en fazla asosiasyon gösteren SNP olmuştur (sırasıyla  $p=10^{-5}$ ,  $p=10^{-8}$ ,  $p=0,013$ ) (Garcia-Closas ve ark., 2008).

Liang ve ark. çalışmalarında ER ve PR durumu bilinen 813 meme kanserli olgudan 364 (%44,8) olgu hem ER hem de PR pozitifken, 292 (%33,9)'si her ikisi için de negatiftir. Postmenopozal ve yaşlı kadınlar, ER<sup>-</sup>/PR<sup>-</sup> meme kanseri hastası olmaya daha yatkın bulunmuştur. (Liang J ve ark., 2008)

Samson ve ark. çalışmasında C906T (rs2981582) polimorfizmi PR durumuyla anlamlı derecede asosiasyon göstermiş olup, bu durum Garcia-Glosas ve ark.

çalışmasıyla zıtlık göstermektedir. Bununla birlikte, C906T polimorfizmi ve ER durumu arasında asosiasyon bulunmamıştır (Samson M ve ark., 2009).

Çalışmamıza dahil olan meme kanseri hasta grubunda östrojen reseptör (ER) pozitif birey sayısı 20 (%64,52), östrojen reseptör (ER) negatif birey sayısı 11 (%35,48)'dir; progesteron reseptör (PR) pozitif birey sayısı 21 (%67,74), progesteron reseptör (PR) negatif birey sayısı 10 (%32,26); c-erb-B2 (HER-2/neu) pozitif birey sayısı 13 (%41,94), c-erb-B2 (HER-2/neu) negatif birey sayısı 18 (%58,1)'dir. Bizim çalışmamızda istatistiki olarak anlamlı olmamakla birlikte meme kanserli olgularda hem rs2981582 hem de rs1219648 için ER ve PR negatifliği (sırasıyla, TT genotipi %45,5; GG genotipi %36,36), pozitiflikten (sırasıyla, TT genotipi %20; GG genotipi %25) daha yüksek frekansta bulunmuş, c-erb-B2 (HER-2/neu) için herhangi bir asosiasyon saptanmamıştır.

Çalışmamızda meme kanseri hasta grubunda tümör büyüklüğü  $TB \leq 2$ cm olan birey sayısı 3 (%9,68),  $2\text{cm} < TB \leq 5$ cm olan birey sayısı 19 (%61,3),  $TB > 5$ cm olan birey sayısı ise 9 (%29)'dur. Tümör büyüklükleriyle FGFR2 geni genotiplerinin bulunma yüzdeleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Çalışmamızda tümör büyüklüğü  $2\text{cm} < TB \leq 5$ cm ve  $TB > 5$ cm olan meme kanserli olgularda rs2981582 için CT genotipi frekansı diğer genotiplerden yüksek olup sırasıyla %47,37 ve %66,67 olarak bulunmuştur,  $TB \leq 2$ cm olan olgularda bu oran %33,33'tür. rs1219648 için  $2\text{cm} < TB \leq 5$ cm ve  $TB > 5$ cm olan meme kanserli olgularda rs2981582 için AG genotipi frekansı diğer genotiplerden yüksek olup sırasıyla %63,6 ve %55,56 olarak bulunmuştur,  $TB \leq 2$ cm olan olgularda bu oran %33,33'tür.

Çalışmamızda meme kanseri hasta grubunda lenf nodu pozitif birey sayısı 22 (%70,97) iken, lenf nodu negatif birey sayısı 9 (%29,03)'dur. Çalışmamızda rs2981582 için lenf nodu pozitif olgularda TT genotip frekansı %31,82 iken lenf nodu negatif olgularda %22,22'dir; rs1219648 için lenf nodu pozitif olgularda GG genotip frekansı %36,36 iken lenf nodu negatif olgularda %11,11'dir. Literatürde yapılan diğer çalışmalarda meme kanserinde tümör büyüklükleri ve lenf nodu tutulumu ile FGFR2 polimorfizmleri asosiasyonunu bildiren çalışmaya rastlanmamıştır.

Kawase ve ark. 456 meme kanserli olgu ve 912 kontrolle yaptıkları çalışmada Easton ve ark. meme kanseri için anlamlı risk faktörü olarak bildirdiği rs2981582 ve Hunter

ve ark. meme kanseri riskiyle asosiasyon bildirdiği rs11200014, rs2981579, rs1219648, rs2420946 SNP'lerinin reproduktif ve çevresel risk faktörleri ile olan etkileşimini değerlendirmişlerdir. FGFR2 polimorfizmleri ile menarş yaşı ( $p=0,019$ ), parite ( $p=0,026$ ), ailevi meme kanseri öyküsü ( $p=0,003$ ) ile etkileşim bildirilirken, alkol, sigara kullanımı, BMI, düzenli egzersiz, menopoz yaşı, hormon kullanımı arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Kawase ve ark. çalışmasında Japon toplumunda meme kanseri riskiyle en fazla asosiasyon gösteren SNP %17,7 populasyon riskiyle rs2420946 olmuştur. Çalışmada rs1219648 için meme kanserli olgularda %37,1 (169/456) AA, %13,2 (60/456) GG, %49,8 (227/456) AG genotipi; kontrollerde % 43,4 (396/912) AA, %10,96 (100/912) GG, %45,6 (416/912) AG genotipi saptanmıştır. rs2981582 için meme kanserli olgularda %48,5 (221/456) CC, %9,2 (42/456) TT, %42,1 (192/456) CT genotipi; kontrollerde %55 (502/912) CC, %6,9 (63/912) TT, %38,1 (347/912) CT genotipi saptanmıştır (Kawase ve ark., 2009).

Kawase ve ark.'ın çalışmasında meme kanserinde FGFR2 polimorfizmleri ile ailevi meme kanseri öyküsü ( $p=0,003$ ) arasında etkileşim bildirilmiştir (Kawase ve ark., 2009). Bizim çalışmamızda meme kanseri hasta grubunda ailesinde meme kanseri öyküsü bulunan 8 (%25,81) birey mevcutken, bulunmayan 23 (%74,19) birey mevcuttur. Ailesinde meme kanseri öyküsü bulunan bireylerde FGFR2 geni genotiplerinin bulunma yüzdeleriyle, ailesinde meme kanseri bulunmayan bireylerde bu genotiplerinin bulunma yüzdeleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

Antoniou ve ark. tarafından gerçekleştirilen yoğun katılımlı, çok merkezli çalışmada 10358 BRCA1 ve/veya BRCA2 mutasyon taşıyıcısında yapılan çalışmada, GWA çalışmasında meme kanseri riskiyle asosiasyon bildirilen FGFR2 rs2981582, TNRC9 rs3803662 ve MAP3K1 rs889312 araştırılmıştır. Yapılan değerlendirme sonucunda; FGFR2 rs2981582, BRCA1 ve/veya BRCA2 mutasyon taşıyıcılarının kombine örneklerinde meme kanseri riskiyle asosiasyon göstermiştir. Bununla birlikte, BRCA1 ve BRCA2 taşıyıcıları ayrı ayrı analiz edildiğinde, BRCA1 taşıyıcılarında asosiasyon gözlenmezken, asosiasyon BRCA2 taşıyıcılarına sınırlanmıştır (Antoniou ve ark., 2008). İleri GWA çalışmalarında BRCA1/BRCA2-negatif yüksek-risk meme kanserini ve sporadik meme kanseri olgularını kontrol

kohortlarıyla karşılaştırma çalışmaları devam etmekte olup, bu çalışmalar da kuşkusuz yeni yatkınlık polimorfizmleri tanımlayacak, tanımlanan yatkınlık polimorfizmlerinin ilave ve sinerjistik muhtemel etkileri araştırılabilecektir (Turnbull ve Rahman 2008). Antoniou ve ark. çalışmasında olduğu gibi, FGFR2 SNP'leri gibi yaygın düşük penetranslı meme kanseri yatkınlık SNP'leri, yüksek, orta penetranslı risk allellerinin potansiyel modifiye edicileri olarak araştırılmalıdır.

B7-H4, son zamanlarda tanımlanan T-hücre aktivasyonu, sitokin sekresyonu ve sitotoksitenin gelişmesi için negatif etki gösterdiği bildirilmiş bir B7 ailesi üyesidir. (Sica ve ark., 2003; Choi ve ark., 2003). B7-H4'ün en profesyonel antijen sunucu hücreler tarafından eksprese edildiği hem flow sitometrik analizler, hem de doku immunohistokimyasal lokalizasyonla bulunmuştur (Prasad ve ark., 2003; Zang ve ark., 2003). Bununla birlikte, B7-H4 sadece aktif olan T lenfositlere bağlanıp dinlenme halindeki T lenfositlere bağlanmıyor gibi görünmektedir (Sica ve ark., 2003; Zang ve ark., 2003). İn vitro deneyler B7-H4'ün T-hücre aktivasyonunu büyük ölçüde IL-2 üretimini inhibe ederek bloke ettiğini (Sica ve ark., 2003; Zang ve ark., 2003) ve bölünme oranlarını azaltarak hücre siklusuna giren hem CD4<sup>+</sup> hem de CD8<sup>+</sup> T-hücrelerin sayısını sınırladığını göstermiştir (Zang ve ark., 2003). Aksine, anti-B7-H4 bloke eden antikorların T-hücre proliferasyonunu ve IL-2 sekresyonunu artırdığı gösterilmiştir (Prasad ve ark., 2003). İn vivo deneyler de, B7-H4'ün konakçı hücre-aracılı immünite inhibisyonundaki fonksiyonunu desteklemektedir (Sica ve ark., 2003). İmmünomodülatör fonksiyonlarına ek olarak B7-H4 proteininin meme karsinomu (Tringler ve ark., 2005), overyan karsinom (Choi ve ark., 2003; Simon ve ark., 2006), akciğer karsinomu (Choi ve ark., 2003) da içine alan pek çok malign tümörde overekspresse olduğu, normal dokularda ise çok az ekspresse olduğu ya da hiç ekspresse olmadığı bulunmuştur (Tringler ve ark., 2005; Sica ve ark., 2003; Choi ve ark., 2003) ve epitelyal transformasyonu ilerletmede rol oynayabilir. B7-H4'ün hemen hemen tüm meme duktal ve lobüler karsinomlarında yüksek derecede eksprese edildiği ve ekspresyon seviyesinin tümör grade ve stage'inden bağımsız olduğu bulunmuştur (Mugler ve ark., 2007).

Jiang ve ark. immunohistokimyasal metod kullanarak yaptıkları çalışmada, gastrik kanser örneklerinin %44,9'unda B7-H4 ekspresyonu gözlemlenmiştir. Çalışmalarında tek varyant (univariant) analizi, B7-H4 ekspresyonuyla yaş, cinsiyet,

histolojik tip, patolojik grade ve tümör boyutu arasında korelasyon göstermemiştir fakat B7-H4 ekspresyonu kanser invazivliği ve lenf nodu metastazıyla korele bulunmuştur. Daha düşük ekspresyonu olan hastaların ortalama yaşam süresi, daha yüksek ekspresyona sahip olanlardan 13 ay daha uzun olarak bulunmuştur. Jiang ve ark. çalışmalarında, gastrik kanser hücrelerindeki B7-H4 ekspresyonunun, hastaların kötü prognozuyla asosiy olduğunu bildirmişlerdir (Jiang ve ark., 2010).

Awadallah ve ark. pankreatik duktal adenokarsinomlu (PDA) hastalarda yaptıkları çalışmada, yeni bir kanser biomarkırı olarak tanımlanan B7-H4, ve p53 ekspresyonunu 36 PDA rezeksiyon örneğinde immunoperoksidaz yöntemiyle kıyaslamışlardır. 36 örneğin 33'ünde (%92) B7-H4 pozitifliği saptarlarken, 30'unda (%83) p53 pozitifliği saptamışlardır. Bu iki markırın PDA'nın tespiti için potansiyel diagnostik kullanım gösterdiğini bildirmişlerdir (Awadallah ve ark., 2008).

Krambeck ve ark. 259 renal hücre karsinomu (RCC) fresh frozen tümör örneğinde B7-H4 ekspresyonunu değerlendirmişlerdir. 153 RCC tümör örneği (%59,1) B7-H4 boyanması göstermiş ve tümör hücresi B7-H4 ekspresyonu, tümör nekrozu, artmış tümör büyüklüğü, tümör stage ve grade'i ile asosiasyon göstermiştir. B7-H4 ekspresse eden tümörleri olan hastaların RCC nedenli ölüm ihtimalinin üç kat daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Böylece B7-H4'ün, RCC hastalarında faydalı bir prognostik faktör olabileceği sonucuna varmışlardır (Krambeck ve ark., 2006).

Sen ve ark. çalışmalarını 70 hastanın hücre hattı ve tümör örneğinden küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde (NSCLC) gerçekleştirmişlerdir. Çalışılan altı hücre hattından bir tanesinde B7-H4 ekspresyonu gerçekleşmiş ve bu hücre hattında bir alternatif splicinge uğramış form keşfedilmiştir. Tümör örneklerinde B7-H4 ekspresyonu hem hücre membranı hem de stoplazmada gerçekleşmiş, örneklerin %43'ü B7-H4 ekspresyonu göstermiştir. B7-H4 ekspresse eden tümör dokularında T infiltre eden lenfoid hücreler (TILs) etmeyenlerden daha düşük seviyede bulunmuştur. B7-H4 ekspresyonu lenf nodu metastazı pozitif olgularda anlamlı derecede daha yaygın gözlenmiştir. Bu gözlemler B7-H4'ün NSCLC hastalarında immun disfonksiyonu ve tümör progresyonuna etki ettiğini akla getirmiştir. B7-H4'ün tanı ve terapide önemli olabileceği düşünülmüştür (Sun ve ark., 2006).

Mugler ve ark., meme patolojisinde B7-H4 ekspresyonu ve tümör T hücre infiltrasyonu korelasyonunu araştırmak üzere yaptıkları 140 hastada formalinle fiske

edilmiş çeşitli doku örnekleriyle yaptıkları çalışmada, B7-H4, CD3 ve CD8 için immunohistokimyasal boyama gerçekleştirilmiştir. B7-H4 pozitif hücrelerin boyanma yoğunluğu oranıyla CD3+ ve CD8+ TILs ( $p<0,05$ ) arasında ters bir asosiyasyon bulunmuştur. Çalışmada tüm ILC ve medüller karsinom olguları B7-H4 için pozitif bulunmuştur. Bu çalışmanın sonucu normal meme benign lezyonlar, potansiyel premalign lezyonlar ve in situ karsinomlarla kıyasla B7-H4'ün invazif meme kanserlerin çoğunda overekspresye olduğunu ve B7-H4 overekspresyonunun CD3+ ve CD8+ sitotoksik/supresör tümör infiltre eden T hücreleri (TILs)'nin infiltrasyonunu suprese ederek tümörleri immün denetimden korumak için bir rol oynayabileceği hipotezini doğrulamıştır (Mugler ve ark., 2007).

Salceda ve ark. meme, over doku ve hücre hattı örnekleriyle yaptıkları çalışmada tümör örneklerini çeşitli ticari kaynaklardan sağlamışlardır. İnsan kanserlerinde upregüle edilen genler için genomik ve moleküler biyoloji araçları kullanarak yaptıkları araştırma sırasında B7-H4 mRNA'sının seröz ovaryan kanserlerde ve meme kanserlerinin bir çoğunda overekspresye olurken, normal dokuların pek çok türünde çok az ekspresye olduğu veya hiç ekspresye olmadığını keşfetmişlerdir. B7-H4'e karşı bir monoklonal antikorla yapılan Western Blot, B7-H4 proteininin bu mRNA dağılımını yansıtmıştır. Bu veriyle uyumlu olarak, meme duktal adenokarsinomu ve seröz ovaryan kanserde yoğun hücre yüzeyi ve stoplazmik boyanma gözlenmiş, normal ovaryumda hiç boyanma gözlenmemiş, normal meme epitelyumunda düşük seviyede apikal boyanma gözlenmiştir (Salceda ve ark., 2005). Salceda ve ark. çalışmalarında bu bulguları immunohistokimyasal yöntemle de doğrulamışlardır. B7-H4 ekspresyonu seröz ovaryan kanserde gözlenirken, müsinöz veya düşük malignant potansiyelli kanserlerde gözlenmemiştir. Bu çalışmada B7-H4 mRNA'sı ve proteini farklı histolojik alt tiplerdeki meme kanserlerinin çoğunda overekspresyon gösterirken, normal meme dokusunda anlamlı derecede düşük seviyede B7-H4 tespit edilmiştir. B7-H4 mRNA ekspresyonu QPCR kullanılarak 190 mRNA örneğinde yapılan çalışmada duktal ve lobüler meme adenokarsinomlarının %100'ünde olmak üzere normal meme örneklerine oranla iki kat fazla overekspresyon gözlenmiştir. Papiller seröz adenokarsinomların %88'i olmak üzere normal ovaryan dokulardan iki kat daha fazla overekspresyon gösterirken, diğer ovaryan kanser alt tipleri yüksek B7-H4 ekspresyonu göstermemiştir. Yapılan bu



çalışmada 13 diğer kanser türü dokuları, normal komşu dokular gibi davranış göstermiş, uterus endometrial kanseri (%4) hariç diğerleri anlamlı bir B7-H4 mRNA ekspresyonu göstermemiştir. B7-H4'ün normal immun hücrelerde indüklenebilir bir ekspresyon göstermesine karşın, ovaryan ve meme kanser hücrelerinde doğal ekspresyon oluyor gözükmesindeki mekanizma ilgi çekicidir. Ovaryan ve meme kanserinin progresyonu boyunca, tümör epitelyal hücrelerinde aktive olan sinyal yollarının B7-H4 mRNA ve proteininin konstitütif ekspresyonuna yol açabileceği düşünülmüştür. Bu sinyallerin  $\beta$ -katenin, Ras veya Her2, EGF, HGF ve FGF reseptörleri gibi bu kanserlerin gelişimi ve progresyonunda rol oynayan sinyallerin katılımını da içerebileceği belirtilmiştir (Salceda ve ark., 2005; Aunoble ve ark., 2000; Wu ve ark., 2001).

Tringler ve ark. yaptıkları immunohistokimyasal çalışmada, primer meme kanserlerinin %95,4'ünde (173 örneğin 165'inde), metastatik meme kanserlerinin %97,6'sında (246 örneğin 240'ında) B7-H4 tespit etmişlerdir. B7-H4 boyanma yoğunluğunun invazif duktal ve lobüler karsinomlarda normal meme epitelyumundan çok fazla olduğunu belirtmişlerdir. Artan boyanma yoğunluğu, negatif PR durumuyla ( $p=0.014$ ) ve neoadjuvan kemoterapi hikayesiyle ( $p=0,004$ ) asosiasyon göstermiş, B7-H4 pozitif hücrelerin oranı negatif PR durumu ile ( $p=0,001$ ) ve negatif HER-2/neu ( $p=0,024$ ) durumuyla asosiasyon göstermiştir. Bununla birlikte, B7-H4 pozitif hücreler veya boyanma yoğunluğuyla tümör grade, stage ve diğer klinopatolojik değişkenler arasında istatistiki olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Tringler ve ark., 2005).

Literatürde B7-H4 geninin çeşitli kanserlerdeki overekspresyonunu bildiren patolojik çalışmalar olmasına rağmen ülkemizde meme kanserinde veya diğer kanserlerde B7-H4 ekspresyonu bildiren çalışma bildiğimiz kadarıyla bulunmamaktadır.

Bizim çalışmamızda Zhang ve ark.'da çalıştıkları B7-H4 geni rs10754339, rs10801935 ve rs3738414 SNP'lerinin meme kanseriyle asosiasyonunun değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmamızda B7-H4 rs10754339 polimorfizminin genotip dağılımı olgu grubunda, %77,4 (24/31) AA, %19,4 (6/31) AG, % 3,2 (1/31) GG; kontrol grubunda, %86,7 (26/30) AA, %10 (3/30) AG, %3,3 (1/30) GG bulunmuştur. B7-H4 rs10801935 polimorfizminin genotip dağılımı olgu grubunda, % 35,5 (11/31) AA, %51,6 (16/31) AC, %12,9 (4/31) CC; kontrol grubunda, %26,7

(8/30) AA, %43,3 (13/30) AC, %30 (9/30) CC bulunmuştur. B7-H4 rs3738414 polimorfizminin genotip dağılımı olgu grubunda, %9,7 (3/31) AA, %45,2 (14/31) AG, %45,2 (14/31) GG; kontrol grubunda %3,3 (1/30) AA, %20 (6/30) AG, %76,7 (23/30) GG bulunmuştur.

Zhang ve ark. çalışmasında istatistiki sonuçlar, rs10754339, rs10801935, rs3738414'deki genotip ve allel dağılımlarının istatistiki olarak anlamlı farklılıkları olduğunu göstermiştir. Zhang ve ark. çalışmalarında B7-H4'ün üç potansiyel fonksiyonel polimorfizmi olan rs10754339, rs10801935 ve rs3738414'ü seçmişler ve ilk kez bu SNP'lerin Han Çinli kadınlarındaki meme kanseri risk ve prognozundaki asosiasyonunu saptamışlardır (Zhang ve ark., 2009). Bu çalışma, bu konuyla ilgili literatürde de mevcut olan ilk ve tek çalışmadır. Bildiğimiz kadarıyla bizim çalışmamız da Zhang ve ark. sonra meme kanserinde B7-H4 geni polimorfizmlerini araştıran ikinci çalışmadır.

Zhang ve ark.'nın çalışmasının sonuçları, bu üç SNP'nin bazı allel, genotip ve haplotiplerinin meme kanseri risk ve prognozuyla asosiye olduğunu ortaya koymuştur. Bu sonuçlara göre rs10754339 için AG genotipi ve G alleli olan kadınların yüksek meme kanseri riski taşımalarının olası olması (OR=1,455, OR=1,325), rs10754339 G allelinin meme kanserinde riskli bir rol oynayabileceğini göstermektedir. 3'UTR gen ekspresyonunu pek çok farklı seviyede düzenleyebilir ve 3'UTR'nin cis-etkileyici elemanları stabilite, degradasyon ve mRNA'nın subselüler lokalizasyonunu düzenlemektedir (Mignone ve ark., 2002; Chen ve ark., 2006; Zhang ve ark., 2009). Bu yüzden ekzonik splicing enhansır (ESE=exonic splicing enhancer) üzerinde lokalize olmuş rs10754339 bu mekanizmayla mRNA üretimini düzenliyor olabilir ve G alleli artmış B7-H4 ekspresyonuyla asosiasyon gösteriyor olabilir ve böylece meme kanseri yatkınlığını etkiliyor olabilir. Ek olarak, çoğu doku ~2kb ve ~800kb olan iki tip B7-H4 transkripti içerir. Daha büyük olan majördür ve aralarındaki fark, küçük olanın 3'UTR'si kısmen splicinge uğramıştır (Choi ve ark., 2003). rs10754339, farklı tipte B7-H4 transkriptlerinin oluşumu ve ekspresyonunda rol oynuyor olabilir. Bizim çalışmamızda da istatistiki olarak anlamlı olmamakla birlikte ( $p>0.05$ ) Zhang ve ark. çalışmasıyla uyumlu olarak meme kanserli olgu grubunda rs10754339 AG genotipi (%19,4) ve G allel frekansı (%22,58), kontrol

grubundan (sırasıyla %10 ve %13,33) yüksek bulunmuştur. Bizim çalışmamız GG genotipi açısından asosiasyon göstermemiştir.

Rs10801935 için CC genotipi olan kadınların daha düşük meme kanseri riskine sahip olma durumunun muhtemel olması (OR=0,328), intron 1'deki rs10801935 CC genotipinin meme kanserinde koruyucu bir faktör olabileceğini göstermektedir (Zhang ve ark., 2009). Bilindiği gibi, insan gen ekspresyonu, intron sekanslarının özellikle de pek çok regülatör ve splicing kontrol elemanlarını içeren intron 1'in varlığıyla düzenlenen transkripsiyon kontrolüne ihtiyaç duyar (Gazave ve ark., 2007; Majewski ve Ott, 2002). İntronlarda oluşan mutasyonlar, splice bölgelerinin, splicing enhansırların (artırıcıların), silencerların (susturucuların) bozulması veya transkripsiyonel korunmaya sebep olan pre-mRNA sekonder yapısının değişmesi nedeniyle anormal splicingi indükleyebilirler (Baralle ve Baralle, 2005; Braddock ve ark., 1994; Balvay ve ark., 1993). Pre-mRNA sekonder yapısında değişim farzedilirse, rs10801935 B7-H4 translasyonel verimliliğini anormal splicinge neden olarak etkiliyor olabilir ve CC genotipi B7-H4 ekspresyonunu down-regüle ederek, meme kanseri riskini azaltıyor olabilir (Zhang ve ark., 2009). Bizim çalışmamızda Zhang ve ark. çalışmasıyla en fazla paralellik gösteren SNP rs10801935 olmuştur. İstatistiki olarak anlamlı olmamakla birlikte, meme kanserli olgu grubunda Zhang ve ark. çalışmasıyla uyumlu olarak AA ve AG genotip frekansı (sırasıyla %35,5, %51,6) kontrol grubundan (sırasıyla %26,7, %43,3) yüksek bulunmuş; CC genotipi frekansı ise meme kanserli olgu grubunda (%12,9) kontrol grubundan (%30) daha düşük bulunmuştur.

rs3738414'nin AA genotipi ve A allelinin, bu allellere sahip olan kadınların meme kanserine yakalanma riskinin daha az muhtemel olduğunu düşündürmesi (OR=0,412) rs3738414'ün A allelinin meme kanserinde potansiyel bir koruyucu etkisi olabileceğini göstermektedir (Zhang ve ark., 2009). Üzerinde regülatör faktörlerin DNA bağlanma bölgesi bulunan 5'UTR, post-transkripsiyonel modifikasyon ve translasyon etkinliğinde önemlidir (Mignone ve ark., 2002). Pupasview software (Ma ve ark., 2009) kullanarak, rs3738414'ün ESE üzerinde lokalize olduğu farzedilmiştir ve belkide rs3738414'ün mutasyonu protein bağlama paternini değiştirip, daha sonra da B7-H4 ekspresyonunu etkilemektedir. Sonuç olarak, rs3738414 A alleli B7-H4 ekspresyonunu azaltarak meme kanseri yatkınlığını

azaltıyor olabilir (Zhang ve ark., 2009). Bizim çalışmamızda rs3738414 için Zhang ve ark. çalışmasına tam ters olarak AA ve AG genotip frekansı meme kanserli olgu grubunda (sırasıyla %9,7, %45,2) kontrol grubundan (sırasıyla %3,3, %20) daha yüksek bulunmuştur. Yine GG genotipi frekansı Zhang ve ark. çalışmasına tam ters olarak meme kanseri olgu grubunda (%45,2) kontrol grubundan (%76,7) daha düşük frekansta bulunmuştur. Bu durum Türk toplumunun bu SNP açısından farklı bir pattern gösteriyor olabileceği varsayımıyla açıklanabilir. Bu durumu doğrulamak için hem farklı toplumlarda, hem de Türk toplumunda yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Zhang ve ark.'nın B7-H4 polimorfizmleri ve klinik özellikler arasındaki asosiyon analizine göre, rs10754339 GG genotipi lenf nodu metastazı ve PR durumuyla anlamlı derecede asosiye bulunurken, G alleli ve AG genotipi sırasıyla lenf nodu metastazı ve ER durumuyla asosiye bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise GG ve AG genotipi Zhang ve ark., uyumlu olarak sadece lenf nodu metastazı açısından asosiyon göstermiştir. Bununla birlikte Zhang ve ark. çalışmasında, diğer iki SNP'nin klinopatolojik özelliklerle bağlantısı olmadığı bulunmuştur (Zhang ve ark., 2009). Bizim çalışmamızda istatistiki olarak anlamlı olmamakla birlikte, rs10801935, ER ve PR pozitifliğiyle asosiyon göstermektedir; ER pozitif olgularda AA genotip frekansı (%45) ER negatif olgulardan (%18,2) yüksek bulunurken; yine PR pozitif olgularda AA genotip frekansı (%42,86), PR negatif olgulardan (%20) yüksek bulunmuştur. Ayrıca rs3738414 için GG genotipi PR, c-erb-B2 (HER-2/neu) ve lenf nodu tutulumu pozitif olgularda daha yüksek frekans göstermekle birlikte, bu durum istatistiki olarak anlamlı değildir ve GG genotipi bizim çalışmamızda olgu grubunda değil, kontrol grubunda yüksek frekansta bulunduğu için, anlamsız olarak düşünülmüştür. Lenf nodu tutulumu, ER ve PR durumu, meme kanserli olguların uzun-dönem survilerini tahmin etmede önemlidir. Lenf nodu metastazı pozitif olgular daha yüksek mortaliteye sahipken (Soerjomataram ve ark., 2008), steroid hormon reseptörleri, endokrin tedavisinin prediktif markerları olarak değerlidir (Rakha ve ark., 2007).

Çalışmamızda meme kanseri hasta grubunda B7-H4 rs10801935 için premenopozal olgularda AC genotipi frekansı (%36,36) postmenopozal olgulardaki frekanstan

(%60) düşük bulunmuştur. Zhang ve ark. çalışmasında bu durumla ilgili bilgi bulunmamaktadır.

Zhang ve ark. rs10754339'un, meme kanserinin prognozunu tahmin etmek için anlamlı olabileceğini düşünmüşlerdir. Zhang ve ark. ayrıca, B7-H4 geni ve meme kanseri assiasyonunu haplotip analiziyle de doğrulamışlardır. Sonuçlara göre, AAA haplotipi anlamlı derecede azalmış meme kanseri riski gösterirken, GAG haplotipi tam ters durum göstermiştir (OR=0,689, OR=1,511). Detaylandırılırsa, AAA haplotipi meme kanserinde koruyucu bir faktör olarak görünürken, GAG haplotipi bir risk faktörü olabilir. AAA ve GCG haplotiplerinin klinik özelliklerle korelasyonları bulunmuştur. Zhang ve ark.'na göre bu haplotipler meme kanseri olgularının sürvisinde değerli prognostik faktörler olabilir (Zhang ve ark., 2009).

Zhang ve ark.'nın 500 meme kanserli olgu ve 504 kontrolden oluşan çalışmasında B7-H4 geni polimorfizmlerinin Han Çinli kadınlarında bireysel meme kanseri riskini ve prognozunu etkileyebileceği gözlemlenmiş; çalışmaları, insan B7-H4 geninin meme kanserine katılımı için ilk bulgu sağlayan çalışma olmuştur (Zhang ve ark., 2009).

Çalışmamızda FGFR2 geni rs1219648, rs2981582 ve B7-H4 geni rs10754339, rs10801935 ve rs3738414 SNP'lerinin meme kanserindeki etki ve asosiasyonlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışma gruplarımızda ileriki çalışmalarda bu polimorfizmlerle birlikte, literatürdeki genome-wide asosiasyon çalışmalarında yer alan ve meme kanseriyle asosiasyonu bildirilen FGFR2, TNRC9, MAP3K1, 8q24, LSP1 gibi gen ve lokuslarda bulunan diğer SNP'lerin taranması, bu konuda değerli bilgiler elde edilmesine katkı sağlayabilecektir.

## 5. SONUÇ

FGFR2'deki genetik varyasyon popülasyon seviyesinde meme kanserine yatkınlığın önemli bir markerıdır fakat klinik faydası henüz incelenmemiştir. BRCA1, BRCA2, PTEN, p53'le bilinen yatkınlık allelleriyle muhtemelen CHECK2 ve FGFR2 polimorfizmleri diğer marker panelleriyle birlikte klinik olarak önceden tahmin değerine sahip olabilir ve yüksek penetranslı risk allellerinin potansiyel modifiye edicileri olarak araştırılmalıdır. B7-H4 geni farklı kanserlerde yüksek ekspresyon gösteren bir gen olmakla birlikte bu gen için yapılan tek bir polimorfizm çalışması bulunmaktadır ve bu çalışma da meme kanseri araştırmasıdır. Yapılan çalışma sonucu bu polimorfizmlerin meme kanseriyle ilgili etkileri olabileceği düşünülmüştür. B7-H4 geni polimorfizmlerinin meme kanseri dahil, yüksek ekspresyon görülen diğer kanser türlerinde de çalışılması gereklidir ve özellikle kadınlarda en fazla görülen kanser olması nedeniyle, bu polimorfizmlerin meme kanserindeki olası etkilerinin daha fazla çalışmayla desteklenmesi gerekmektedir. Bizim çalışmamız Türk toplumunda, meme kanserinde FGFR2 ve B7-H4 polimorfizmlerini değerlendiren ilk çalışmadır, bu polimorfizmlerin bizim toplumumuzdaki prevalansının ortaya konulması için daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

## ÖZET

### **Meme Kanserinde FGFR2 ve B7-H4 Geni Polimorfizmlerinin ve Etkilerinin Araştırılması**

Meme kanseri kadın sağlığı açısından çözülmesi gereken başlıca sorunlardan biridir. Ülkemizde kadınlarda görülen kanserlerin yaklaşık olarak 1/4'ünü meme kanserleri oluşturmaktadır.

FGFR2, RTK'ların FGFR ailesinin bir üyesidir. FGF-reseptörleri, hücre proliferasyonu, farklılaşma, migrasyon ve hücre homeostasinin korunması gibi pek çok hücrel prosenin kontrolünde önemli bir rol oynar. FGFR2, meme kanserinde amplifiye ve overekspresyon olmaktadır. FGFR2'nin alternatif splicinge uğramış izoformlarının anormal ekspresyonu sinyal transdüksiyonla meme kanseri hücrelerini transforme etmektedir. Son yıllarda, bazı yayınlar FGFR2 polimorfizminin meme kanseri riskindeki rolünü bildirmiştir. Asosiyasyon intron 2'yi kapsayan bağlantı dengesizliği (LD) bloğu içinde bulunan SNP'lerle sınırlanmıştır ve üç polimorfik varyant (rs1219648, rs2420946 ve rs2981582) bilimsel camiada araştırma odağı olmuştur. Yapılan çalışmalardan bazıları bu üç polimorfizmin meme kanseri riski geliştirmede risk faktörü olduğunu gösterirken, bazıları asosiyasyon bildirmemiştir.

B7-H4, T hücre aktivasyonuna ko-inhibitör sinyal sağlayan, T hücre proliferasyonunu, sitokin sekresyonunu, sitotoksitenin gelişimini kısıtlayabilen, B7 ailesinin son zamanlarda tanımlanmış bir üyesidir. B7-H4'ün hemen hemen tüm meme duktal ve lobüler karsinomlarında yüksek derecede ekspresyon edildiği belirlenmiştir. Yüksek seviyede B7-H4 overekspresyonu meme karsinogenezinde çok erken oluşuyor gibi görünmektedir. Yapılan bir çalışmada, B7-H4 geni UTR'lerinde ve intron 1'de üç polimorfizm (rs10754339, rs10801935 ve rs3738414) tespit edilmiş ve Çin'in kuzeydoğusundaki Han Çinlileri popülasyonunda B7-H4 polimorfizmleri ile meme kanseri riski arasında asosiyasyon saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda meme kanserli 31 kadın ve kanser tanısı bulunmayan benzer yaş aralığındaki 30 sağlıklı kadından oluşan kontrol grubunda FGFR2 geni rs1219648, rs2981582 SNP'leri dizi analizi, B7-H4 geni rs10754339, rs10801935 ve rs3738414 SNP'leri PCR-RFLP yöntemiyle çalışılarak, meme kanseriyle bu SNP'lerin asosiyasyonunun değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda istatistiki olarak anlamlı olmamakla birlikte FGFR2 heterozigot polimorfizmleri meme kanserli grupta, kontrol grubundan daha yüksek frekansta tespit edilmiş; B7-H4 rs10801935 polimorfizminin AA ve AG genotip dağılımları meme kanserli grupta daha yüksek frekansta bulunmuştur. B7-H4 rs3738414 polimorfizmi GG genotipi, önceki çalışmanın sonuçlarının tersine bizim çalışmamızda kontrol grubunda olgu grubundan daha yüksek frekansta bulunmuştur ve sonuç istatistiki olarak anlamlıdır. Sonuçlarımızın doğrulanması için Türk toplumunda bu konuda yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar Sözcükler:** FGFR2, B7-H4, Polimorfizm, Meme Kanseri



## SUMMARY

### **Investigating FGFR2 and B7-H4 Gene Polymorphisms and Their Effects in Breast Cancer**

Breast cancer is one of the problems needed to be solved in women health. In our country  $\frac{1}{4}$  of cancers in women is breast cancer.

FGFR2 is a member of the FGFR family of RTKs. FGF-receptors play an important role in the control of diverse cellular processes including cell proliferation, differentiation, migration, and maintenance of cellular homeostasis. FGFR2 is amplified and overexpressed in breast cancer. Abnormal expression of FGFR2 alternatively spliced isoforms transforms breast cancer cells by signal transduction. In recent years, some publications have reported the role of FGFR2 polymorphism in breast cancer risk. The association is restricted to SNPs in the linkage disequilibrium (LD) block covering intron 2 and three polymorphic variants (rs1219648, rs2420946, and rs2981582) have been the research focus in scientific community. Some of the studies performed showed that these three polymorphisms were risk factors for developing breast cancer risk, whereas the others showed no such association.

B7-H4 is a recently identified member of B7 family which provides co-inhibitor for T cell activation, restricts T cell proliferation, cytokine secretion and cytotoxicity development. B7-H4 is reported to be highly expressed in almost all breast ductal and lobular carcinomas. High levels of B7-H4 overexpression seems to occur early in breast carcinogenesis. In a study performed, three polymorphisms (rs10754339, rs10801935 ve rs3738414) in UTRs and intron 1 of B7-H4 gene were detected and in the northeast of China in Chinese Han population, an association was detected between B7-H4 polymorphisms and breast cancer risk.

In our study, FGFR2 gene rs1219648, rs2981582 SNPs were studied by sequence analysis and B7-H4 gene rs10754339, rs10801935 ve rs3738414 SNPs were studied by PCR-RFLP method in 31 women with breast cancer and in the control group including 30 women without cancer diagnosis in the similar age interval and association between these SNPs and breast cancer were aimed to be evaluated.

Although statistically not important, the frequency of FGFR2 heterozygous polymorphisms in the group with breast cancer were detected to be higher; B7-H4 rs10801935 polymorphism AA and AG genotype distributions were found in higher frequencies in the group with breast cancer. In contrast to the results of the previous study, in our study B7-H4 rs3738414 polymorphism GG genotype was found to be in higher frequency in the control group than the case group and the result was statistically significant.

In order to verify our results, new studies about this subject in Turkish population are needed to be performed.

**Keywords:** FGFR2, B7-H4, Polymorphism, Breast Cancer

## KAYNAKLAR

ADNANE J, GAUDRAY P, DIONNE CA, CRUMLEY G, JAYE M, SCHLESSINGER J, JEANTEUR P, BIRNBAUM D, THEILLET C. BEK and FLG are amplified in subsets of human breast cancers. *Oncogene* 1991; 6: 659-663.

AHMED M, RAHMAN N. ATM and breast cancer susceptibility. *Oncogene* 2006; 25: 5906– 5911.

ANGELE S, HALL J. The ATM gene and breast cancer: is it really a risk factor? *Mutat Res* 2000; 462: 167– 178.

ANTONIOU AC, SPURDLE AB, SINILNIKOVA OM, HEALEY S, POOLEY KA, SCHMUTZLER RK, VERSMOLD B, ENGEL C, MEINDL A, ARNOLD N, HOFMANN W, SUTTER C, NIEDERACHER D, DEISSLER H, CALDES T, KÄMPJÄRVI K, NEVANLINNA H, SIMARD J, BEESLEY J, CHEN X; KATHLEEN CUNINGHAM CONSORTIUM FOR RESEARCH INTO FAMILIAL BREAST CANCER, NEUHAUSEN SL, REBBECK TR, WAGNER T, LYNCH HT, ISAACS C, WEITZEL J, GANZ PA, DALY MB, TOMLINSON G, OLOPADE OI, BLUM JL, COUCH FJ, PETERLONGO P, MANOUKIAN S, BARILE M, RADICE P, SZABO CI, PEREIRA LH, GREENE MH, RENNERT G, LEJBKOWICZ F, BARNETT-GRINNESS O, ANDRULIS IL, OZCELIK H; OCGN, GERDES AM, CALIGO MA, LAITMAN Y, KAUFMAN B, MILGROM R, FRIEDMAN E; SWEDISH BRCA1 AND BRCA2 STUDY COLLABORATORS, DOMCHEK SM, NATHANSON KL, OSORIO A, LLORT G, MILNE RL, BENÍTEZ J, HAMANN U, HOGERVORST FB, MANDERS P, LIGTENBERG MJ, VAN DEN OUWELAND AM; DNA-HEBON COLLABORATORS, PEOCK S, COOK M, PLATTE R, EVANS DG, EELES R, PICHERT G, CHU C, ECCLES D, DAVIDSON R, DOUGLAS F; EMBRACE, GODWIN AK, BARJHOUX L, MAZOYER S, SOBOL H, BOURDON V, EISINGER F, CHOMPRET A, CAPOULADE C, BRESSAC-DE PAILLERETS B, LENOIR GM, GAUTHIER-VILLARS M, HOUDAYER C, STOPPA-LYONNET D; GEMO, CHENEVIX-TRENCH G, EASTON DF; CIMBA. Common breast cancer-predisposition alleles are associated with breast cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Am J Hum Genet* 2008;82(4):937-48.

ARMAN E, HAFFNER-KRAUSZ R, GORIVODSKY M AND LONAI P. Fgfr2 is required for limb outgrowth and lung-branching morphogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 11895-11899.

ARTAVANIS-TSAKONAS S, RAND MD AND LAKE RJ. Notch signaling. *Science* 1999; 284: 770-776.

AUNOBLE B, SANCHES R, DIDIER E, BIGNON YJ. Major oncogenes and tumor suppressor genes involved in epithelial ovarian cancer (review). *Int J Oncol* 2000;16(3):567-76.

AWADALLAH NS, SHROYER KR, LANGER DA, TORKKO KC, CHEN YK, BENTZ JS, PAPKOFF J, LIU W, NASH SR, SHAH RJ. Detection of B7-H4 and p53 in pancreatic cancer: potential role as a cytological diagnostic adjunct. *Pancreas*. 2008;36(2):200-6.

BALVAY L, LIBRI D, FISZMAN MY. Pre-mRNA secondary structure and the regulation of splicing. *Bioessays* 1993, 15(3):165-169.

BARALLE D, BARALLE M. Splicing in action: assessing disease causing sequence changes. *J Med Genet* 2005; 42(10):737-748.

BOGDANOVA N, FESHCHENKO S, SCHÜRMAN P, WALTES R, WIELAND B, HILLEMANN P, ROGOV YI, DAMMANN O, BREMER M, KARSTENS JH, SOHN C, VARON R, DÖRK T. Nijmegen breakage syndrome mutations and risk of breast cancer. *Int J Cancer* 2008; 122: 802– 806.

BOISMENU R and HAVRAN WL. Modulation of epithelial cell growth by intraepithelial  $\gamma\delta$ T cells. *Science* 1994; 266: 1253-1255.

BOYARSKIKH UA, ZARUBINA NA, BILTUEVA JA, SINKINA TV, VORONINA EN, LAZAREV AF, PETROVA VD, AULCHENKO YS, FILIPENKO ML. Association of FGFR2 gene polymorphisms with the risk of breast cancer in population of West Siberia. *Eur J Hum Genet* 2009;17(12):1688-91.

BRADBURY AR, OLOPADE OI. Genetic susceptibility to breast cancer. *Rev Endocr Metab Disord* 2007; 8: 255– 267.

BRADDOCK M, MUCKENTHALER M, WHITE MR, THORBURN AM, SOMMERVILLE J, KINGSMAN AJ, KINGSMAN SM. Intron-less RNA injected into the nucleus of *Xenopus* oocytes accesses a regulated translation control pathway. *Nucleic Acids Res* 1994, 22(24):5255-5264.

BRAUCHLE M, ANGERMEYER K, HUBNER G and WERNER S. Large induction of KGF expression by serum growth factors and proinflammatory cytokines. *Oncogene* 1994; 9: 3199-3204.

CANDI E, RUFINI A, TERRINONI A, GIAMBOI-MIRAGLIA A, LENA AM, MANTOVANI R, KNIGHT R, MELINO G. DeltaNp63 regulates thymic development through enhanced expression of FgfR2 and Jag2. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104(29): 11999-12004.

CARRENO BM, COLLINS M. The B7 family of ligands and its receptors: new pathways for costimulation and inhibition of immune responses. *Annu Rev Immunol* 2002; 20:29-53.

CARROLL JS, MEYER CA, SONG J, LI W, GEISTLINGER TR, ECKHOUTE J, BRODSKY AS, KEETON EK, FERTUCK KC, HALL GF, WANG Q, BEKIRANOV S, SEMENTCHENKO V, FOX EA, SILVER PA, GINGERAS TR,

LIU XS, BROWN M. Genome-wide analysis of estrogen receptor binding sites. *Nat Genet* 2006; 38:1289–1297.

CARSTENS RP, EATON JV, KRIGMAN HR, WALTHER PJ, GARCIA-BLANCO MA. Alternative splicing of FGFR2 in human prostate cancer. *Oncogene* 1997; 15: 3059-3065.

CARSTENS RP, WAGNER EJ AND GARCIA-BLANCO MA. An intronic splicing silencer causes skipping of the IIIb exon of Fgfr2 through involvement of polypyrimidine tract binding protein. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 7388-7400.

CHAFFER CL, DOPHEIDE B, SAVAGNER P, THOMPSON EW, WILLIAMS ED. Aberrant fibroblast growth factor receptor signaling in bladder and other cancers. *Differentiation* 2007; 75(9):831-42.

CHAMBERS CA, KUHNS MS, EGEN JG, ALLISON JP. CTLA-4-mediated inhibition in regulation of T cell responses: mechanisms and manipulation in tumor immunotherapy. *Annu Rev Immunol* 2001;19:565-94. Review.

CHAMORRO MN, SCHWARTZ DR, VONICA A, BRIVANLOU AH, CHO KR, VARMUS HE. FGF20 and DKK1 are transcriptional target of s-catenin, and FGF20 is implicated in cancer and development. *EMBO J* 2005; 24: 73-84.

CHAPOVAL AI, NI J, LAU JS, WILCOX RA, FLIES DB, LIU D, DONG H, SICA GL, ZHU G, TAMADA K, CHEN L. B7-H3: a costimulatory molecule for T cell activation and IFN-gamma production. *Nat Immunol* 2001;2(3):269-74.

CHEN JM, FÉREC C, COOPER DN. A systematic analysis of disease associated variants in the 3' regulatory regions of human protein-coding genes I: general principles and overview. *Hum Genet* 2006, 120(1):1-21.

CHEN L. Co-inhibitory molecules of the B7-CD28 family in the control of T-cell immunity. *Nature Rev Immunol* 2004; 4: 336–347.

CHENG L, JIANG J, GAO R, WEI S, NAN F, LI S, KONG B. B7-H4 expression promotes tumorigenesis in ovarian cancer . *Int J Gynecol Cancer* 2009;19(9):1481-6.

CHOI IH, ZHU G, SICA GL, STROME SE, CHEVILLE JC, LAU JS, ZHU Y, FLIES DB, TAMADA K, CHEN L. Genomic organization and expression analysis of B7-H4, an immune inhibitory molecule of the B7 family. *J Immunol* 2003;171:4650–4654.

CLEVERS H. Wnt/s-catenin signaling in development and disease. *Cell* 2006; 127: 469-480.

COLVIN JS, BOHNE BA, HARDING GW, MCEWEN DG, ORNITZ DM. Skeletal overgrowth and deafness in mice lacking fibroblast growth factor receptor 3. *Nat Genet* 1996;12:390–7.

COMPAAN DM, GONZALEZ LC, TOM I, LOYET KM, EATON D, HYMOWITZ SG. Attenuating lymphocyte activity: the crystal structure of the BTLA-HVEM complex. *J Biol Chem* 2005;280:39553–39561.

COX A, DUNNING AM, GARCIA-CLOSAS M, BALASUBRAMANIAN S, REED MW, POOLEY KA, SCOLLEN S, BAYNES C, PONDER BA, CHANOCK S, LISSOWSKA J, BRINTON L, PEPLONSKA B, SOUTHEY MC, HOPPER JL, MCCREDIE MR, GILES GG, FLETCHER O, JOHNSON N, DOS SANTOS SILVA I, GIBSON L, BOJESEN SE, NORDESTGAARD BG, AXELSSON CK, TORRES D, HAMANN U, JUSTENHOVEN C, BRAUCH H, CHANG-CLAUDE J, KROPP S, RISCH A, WANG-GOHRKE S, SCHÜRMAN P, BOGDANOVA N, DÖRK T, FAGERHOLM R, AALTONEN K, BLOMQVIST C, NEVANLINNA H, SEAL S, RENWICK A, STRATTON MR, RAHMAN N, SANGRAJRANG S, HUGHES D, ODEFREY F, BRENNAN P, SPURDLE AB, CHENEVIX-TRENCH G; KATHLEEN CUNNINGHAM FOUNDATION CONSORTIUM FOR RESEARCH INTO FAMILIAL BREAST CANCER, BEESLEY J, MANNERMAA A, HARTIKAINEN J, KATAJA V, KOSMA VM, COUCH FJ, OLSON JE, GOODE EL, BROEKS A, SCHMIDT MK, HOGERVORST FB, VAN'T VEER LJ, KANG D, YOO KY, NOH DY, AHN SH, WEDRÉN S, HALL P, LOW YL, LIU J, MILNE RL, RIBAS G, GONZALEZ-NEIRA A, BENITEZ J, SIGURDSON AJ, STREDRICK DL, ALEXANDER BH, STRUEWING JP, PHAROAH PD, EASTON DF; BREAST CANCER ASSOCIATION CONSORTIUM. A common coding variant in CASP8 is associated with breast cancer risk. *Nat Genet* 2007; 39: 352–358.

DAVIES H, HUNTER C, SMITH R, STEPHENS P, GREENMAN C, BIGNELL G, TEAGUE J, BUTLER A, EDKINS S, STEVENS C, PARKER A, O'MEARA S, AVIS T, BARTHORPE S, BRACKENBURY L, BUCK G, CLEMENTS J, COLE J, DICKS E, EDWARDS K, FORBES S, GORTON M, GRAY K, HALLIDAY K, HARRISON R, HILLS K, HINTON J, JONES D, KOSMIDOU V, LAMAN R, LUGG R, MENZIES A, PERRY J, PETTY R, RAINE K, SHEPHERD R, SMALL A, SOLOMON H, STEPHENS Y, TOFTS C, VARIAN J, WEBB A, WEST S, WIDAA S, YATES A, BRASSEUR F, COOPER CS, FLANAGAN AM, GREEN A, KNOWLES M, LEUNG SY, LOOIJENGA LH, MALKOWICZ B, PIEROTTI MA, TEH BT, YUEN ST, LAKHANI SR, EASTON DF, WEBER BL, GOLDSTRAW P, NICHOLSON AG, WOOSTER R, STRATTON MR, FUTREAL PA. Somatic mutations of the protein kinase gene family in human lung cancer. *Cancer Res* 2005; 65: 7591-7595.

DENG C, WYNSHAW-BORIS A, ZHOU F, KUO A, LEDER P. Fibroblast growth factor receptor 3 is a negative regulator of bone growth. *Cell* 1996;84:911–21.

DENG CX, WYNSHAW-BORIS A, SHEN MM, DAUGHERTY C, ORNITZ DM, LEDER P. Murine FGFR-1 is required for early postimplantation growth and axial organization. *Genes Dev* 1994;8:3045–57.

DE MOERLOOZE L, SPENCER-DENE B, REVEST J, HAJIHOSEINI M, ROSEWELL I, DICKSON C. An important role for the IIIb isoform of fibroblast

growth factor receptor 2 (FGFR2) in mesenchymal–epithelial signalling during mouse organogenesis. *Development* 2000;127:483–92.

DHALLUIN C, YAN KS, PLOTNIKOVA O, LEE KW, ZENG L, KUTI M, MUJTABA S, GOLDFARB MP, ZHOU MM. Structural basis of SNT PTB domain interactions with distinct neurotrophic receptors. *Mol Cell* 2000;6:921–9.

DIONNE CA, CRUMLEY G, BELLOT F, KAPLOW JM, SEARFOSS G, RUTA M, BURGESS WH, JAYE M, SCHLESSINGER J. Cloning and expression of two distinct high-affinity receptors cross-reacting with acidic and basic fibroblast growth factors. *EMBO J* 1990; 9: 2685-2692.

DONG H, STROME SE, SALOMAO DR, TAMURA H, HIRANO F, FLIES DB, ROCHE PC, LU J, ZHU G, TAMADA K, LENNON VA, CELIS E, CHEN L. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat Med* 2002; 8(8):793-800.

DONG H, ZHU G, TAMADA K, CHEN L. B7-H1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion. *Nat Med* 1999;5(12):1365-9.

DUFAULT MR, BETZ B, WAPPENSCHMIDT B, HOFMANN W, BANDICK K, GOLLA A, PIETSCHMANN A, NESTLE-KRÄMLING C, RHIEM K, HÜTTNER C, VON LINDERN C, DALL P, KIECHLE M, UNTCH M, JONAT W, MEINDL A, SCHERNECK S, NIEDERACHER D, SCHMUTZLER RK, ARNOLD N. Limited relevance of the CHEK2 gene in hereditary breast cancer. *Int J Cancer* 2004; 110: 320– 325.

EASTON DF, POOLEY KA, DUNNING AM, PHAROAH PD, THOMPSON D, BALLINGER DG, STRUEWING JP, MORRISON J, FIELD H, LUBEN R, WAREHAM N, AHMED S, HEALEY CS, BOWMAN R; SEARCH COLLABORATORS, MEYER KB, HAIMAN CA, KOLONEL LK, HENDERSON BE, LE MARCHAND L, BRENNAN P, SANGRAJRANG S, GABORIEAU V, ODEFREY F, SHEN CY, WU PE, WANG HC, ECCLES D, EVANS DG, PETO J, FLETCHER O, JOHNSON N, SEAL S, STRATTON MR, RAHMAN N, CHENEVIX-TRENCH G, BOJESEN SE, NORDESTGAARD BG, AXELSSON CK, GARCIA-CLOSAS M, BRINTON L, CHANOCK S, LISSOWSKA J, PEPLONSKA B, NEVANLINNA H, FAGERHOLM R, EEROLA H, KANG D, YOO KY, NOH DY, AHN SH, HUNTER DJ, HANKINSON SE, COX DG, HALL P, WEDREN S, LIU J, LOW YL, BOGDANOVA N, SCHÜRMAN P, DÖRK T, TOLLENAAR RA, JACOBI CE, DEVILEE P, KLIJN JG, SIGURDSON AJ, DOODY MM, ALEXANDER BH, ZHANG J, COX A, BROCK IW, MACPHERSON G, REED MW, COUCH FJ, GOODE EL, OLSON JE, MEIJERSHEIJBOER H, VAN DEN OUWELAND A, UITTERLINDEN A, RIVADENEIRA F, MILNE RL, RIBAS G, GONZALEZ-NEIRA A, BENITEZ J, HOPPER JL, MCCREDIE M, SOUTHEY M, GILES GG, SCHROEN C, JUSTENHOVEN C, BRAUCH H, HAMANN U, KO YD, SPURDLE AB, BEESLEY J, CHEN X; KCONFAB; AOCs MANAGEMENT GROUP, MANNERMAA A, KOSMA VM,

KATAJA V, HARTIKAINEN J, DAY NE, COX DR, PONDER BA. Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci. *Nature* 2007; 447: 1087–1093.

ELBASHIR SM, HARBORTH J, LENDECKEL W, YALCIN A, WEBER K, TUSCHL T. Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells. *Nature* 2001; 411: 494-498.

ESWARAKUMAR VP, LAX I, SCHLESSINGER J. Cellular signaling by fibroblast growth factor receptors. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2005 Apr;16(2):139-49.

ESWARAKUMAR VP, MONSONEGO-ORNAN E, PINES M, ANTONOPOULOU I, MORRISS-KAY GM, LONAI P. The IIIc alternative of Fgfr2 is a positive regulator of bone formation. *Development* 2002;129: 3783–93.

FALASCA M, LOGAN SK, LEHTO VP, BACCANTE G, LEMMON MA, SCHLESSINGER J. Activation of phospholipase C gamma by PI 3-kinase-induced PH domain-mediated membrane targeting. *EMBO J* 1998;17:414–22.

FINCH PW, RUBIN JS, MIKI T, RON D, AARONSON SA. Human KGF is FGF-related with properties of a paracrine effector of epithelial cells. *Science* 1989; 245: 752-755.

FIRE A, XU S, MONTGOMERY MK, KOSTAS SA, DRIVER SE, MELLO CC. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 1998; 391: 806-811.

FREEMAN GJ, LONG AJ, IWAI Y, BOURQUE K, CHERNOVA T, NISHIMURA H, FITZ LJ, MALENKOVICH N, OKAZAKI T, BYRNE MC, HORTON HF, FOUER L, CARTER L, LING V, BOWMAN MR, CARRENO BM, COLLINS M, WOOD CR, HONJO T. Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J Exp Med* 2000; 2,192(7):1027-34.

GARCIA-CLOSAS M, HALL P, NEVANLINNA H, POOLEY K, MORRISON J, RICHESSON DA, BOJESEN SE, NORDESTGAARD BG, AXELSSON CK, ARIAS JI, MILNE RL, RIBAS G, GONZÁLEZ-NEIRA A, BENÍTEZ J, ZAMORA P, BRAUCH H, JUSTENHOVEN C, HAMANN U, KO YD, BRUENING T, HAAS S, DÖRK T, SCHÜRMAN P, HILLEMANN S, BOGDANOVA N, BREMER M, KARSTENS JH, FAGERHOLM R, AALTONEN K, AITTO MÄKI K, VON SMITTEN K, BLOMQUIST C, MANNERMAA A, UUSITUPA M, ESKELINEN M, TENGSTRÖM M, KOSMA VM, KATAJA V, CHENEVIX-TRENCH G, SPURDLE AB, BEESLEY J, CHEN X; AUSTRALIAN OVARIAN CANCER MANAGEMENT GROUP; KATHLEEN CUNINGHAM FOUNDATION CONSORTIUM FOR RESEARCH INTO FAMILIAL BREAST CANCER, DEVILEE P, VAN ASPEREN CJ, JACOBI CE, TOLLENAAR RA, HUIJTS PE, KLIJN JG, CHANG-CLAUDE J, KROPP S, SLANGER T, FLESCH-JANYS D, MUTSCHELKNAUSS E, SALAZAR R, WANG-GOHRKE S, COUCH F, GOODE



EL, OLSON JE, VACHON C, FREDERICKSEN ZS, GILES GG, BAGLIETTO L, SEVERI G, HOPPER JL, ENGLISH DR, SOUTHEY MC, HAIMAN CA, HENDERSON BE, KOLONEL LN, LE MARCHAND L, STRAM DO, HUNTER DJ, HANKINSON SE, COX DG, TAMIMI R, KRAFT P, SHERMAN ME, CHANOCK SJ, LISSOWSKA J, BRINTON LA, PEPLONSKA B, KLIJN JG, HOONING MJ, MEIJERS-HEIJBOER H, COLLEE JM, VAN DEN OUWELAND A, UITTERLINDEN AG, LIU J, LIN LY, YUQING L, HUMPHREYS K, CZENE K, COX A, BALASUBRAMANIAN SP, CROSS SS, REED MW, BLOWS F, DRIVER K, DUNNING A, TYRER J, PONDER BA, SANGRAJRANG S, BRENNAN P, MCKAY J, ODEFREY F, GABRIEAU V, SIGURDSON A, DOODY M, STRUEWING JP, ALEXANDER B, EASTON DF, PHAROAH PD. Heterogeneity of breast cancer associations with five susceptibility loci by clinical and pathological characteristics. *Plos Genet* 2008 25;4(4):e1000054.

GAZAVE E, MARQUÉS-BONET T, FERNANDO O, CHARLESWORTH B, NAVARRO A. Patterns and rates of intron divergence between humans and chimpanzees. *Genome Biol* 2007, 8(2):R21.

GEARY J, SASIENIP, HOULSTON R, IZATT L, EELES R, PAYNE SJ, FISHER S, HODGSON SV. Gene-related cancer spectrum in families with hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC). *Fam Cancer* 2008; 7: 163– 172.

GIRARDI M, OPPENHEIM DE, STEELE CR, LEWIS JM, GLUSAC E, FILLER R, HOBBY P, SUTTON B, TIGELAAR RE, HAYDAY AC. Regulation of cutaneous malignancy by gammadelta T cells. *Science* 2001; 294: 605-609.

GIVOL D, ESWARAKUMAR VP, LONAI P. Molecular and cellular biology of FGF signaling. In: Epstein CJ, Erickson RP, Wynshaw-Boris A, editors. *Inborn errors of development – the molecular basis of clinical disorders of morphogenesis*. Oxford: Oxford University Press; 2003. p. 367–79.

GOLD B, KIRCHHOFF T, STEFANOV S, LAUTENBERGER J, VIALE A, GARBER J, FRIEDMAN E, NAROD S, OLSHEN AB, GREGERSEN P, KOSARIN K, OLSH A, BERGERON J, ELLIS NA, KLEIN RJ, CLARK AG, NORTON L, DEAN M, BOYD J, OFFIT K. Genome-wide association study provides evidence for a breast cancer risk locus at 6q22.33. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 4340– 4345.

GONZALEZ LC, LOYET KM, CALEMINE-FENAUX J, CHAUHAN V, WRANIK B, OUYANG W, EATON DL. A coreceptor interaction between the CD28 and TNF receptor family members B and T lymphocyte attenuator and herpesvirus entry mediator. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:1116–1121.

GOSPODAROWICZ D. Localisation of a fibroblast growth factor and its effect alone and with hydrocortisone on 3T3 cell growth. *Nature* 1974;249:123–7.

GRIMBACHER B, HUTLOFF A, SCHLESIER M, GLOCKER E, WARNATZ K, DRÄGER R, EIBEL H, FISCHER B, SCHÄFFER AA, MAGES HW, KROCZEK

RA, PETER HH. Homozygous loss of ICOS is associated with adult-onset common variable immunodeficiency. *Nat Immunol* 2003;4(3):261-8.

GROSE R, DICKSON C. Fibroblast growth factor signaling in tumorigenesis. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005;16(2):179-86.

GROSE R, FANTL V, WERNER S, CHIONI AM, JAROSZ M, RUDLING R, CROSS B, HART IR, DICKSON C. The role of fibroblast growth factor receptor 2b in skin homeostasis and cancer development. *EMBO J* 2007; 26: 1268-1278.

GUÉNARD F, LABRIE Y, OUELLETTE G, BEUPARLANT CJ, BESSETTE P, CHIQUETTE J, LAFRAMBOISE R, LÉPINE J, LESPÉRANCE B, PICHETTE R, PLANTE M, DUROCHER F. Germline mutations in the breast cancer susceptibility gene PTEN are rare in high-risk non-BRCA1/2 French Canadian breast cancer families. *Fam Cancer* 2007; 6: 483– 490.

HEARLE N, SCHUMACHER V, MENKO FH, OLSCHWANG S, BOARDMAN LA, GILLE JJ, KELLER JJ, WESTERMAN AM, SCOTT RJ, LIM W, TRIMBATH JD, GIARDIELLO FM, GRUBER SB, OFFERHAUS GJ, DE ROOIJ FW, WILSON JH, HANSMANN A, MÖSLEIN G, ROYER-POKORA B, VOGEL T, PHILLIPS RK, SPIGELMAN AD, HOULSTON RS. Frequency and spectrum of cancers in the Peutz – Jeghers syndrome. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 3209– 3215.

HEIKKINEN K, RAPAKKO K, KARPPINEN SM, ERKKO H, KNUUTILA S, LUNDÁN T, MANNERMAA A, BØRRESEN-DALE AL, BORG A, BARKARDOTTIR RB, PETRINI J, WINQVIST R. RAD50 and NBS1 are breast cancer susceptibility genes associated with genomic instability. *Carcinogenesis* 2006; 27: 1593– 1599.

HEISKANEN M, KONONEN J, BÄRLUND M, TORHORST J, SAUTER G, KALLIONIEMI A, KALLIONIEMI O. CGH cDNA and tissue microarray analyses implicate FGFR2 amplification in a small subset of breast tumors. *Anal Cell Pathol* 2001; 22: 229–234.

HOUSLEY RM, MORRIS CF, BOYLE W, RING B, BILTZ R, TARPLEY JE, AUKERMAN SL, DEVINE PL, WHITEHEAD RH, PIERCE GF. Keratinocyte growth factor induces proliferation of hepatocytes and epithelial cells throughout the rat gastrointestinal tract. *J Clin Invest* 1994; 94: 1764-1777.

HOWLETT NG. Fanconi anemia: Fanconi anemia, breast and embryonal cancer risk revisited. *Eur J Hum Genet* 2007; 15: 715–717.

<http://www.cancer.gov/cancertopics/types/breast> Erişim:17.04.2010

<http://www.ctf.edu.tr/stek/pdfs/54/5402.pdf> Erişim:17.04.2010

[http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Location/View?g=ENSG00000066468](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Location/View?g=ENSG00000066468)  
Erişim:15.06.09

[http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Location/View?g=ENSG00000134258;r=1:117686209-117753556;t=ENST00000369458](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Location/View?g=ENSG00000134258;r=1:117686209-117753556;t=ENST00000369458) Erişim:17.04.2010-b7-h4

<http://www.gata.edu.tr/dahilibilimler/ichastaliklari/files/kitaplar/108.pdf>  
Erişim:17.04.2010

<http://www.kanser.org/toplum/mkanseri.php> Erişim:17.04.2010

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/608162> Erişim:17.04.2010

[http://www.saglik.gov.tr/extras/birimler/ksdb/meme\\_kanseri.pdf](http://www.saglik.gov.tr/extras/birimler/ksdb/meme_kanseri.pdf) Erişim:17.04.2010

HUBBARD SR. Autoinhibitory mechanisms in receptor tyrosine kinases. *Front Biosci* 2002;7: d330-340

HUIJTS PE, VREESWIJK MP, KROEZE-JANSEMA KH, JACOBI CE, SEYNAEVE C, KROL-WARMERDAM EM, WIJERS-KOSTER PM, BLOM JC, POOLEY KA, KLIJN JG, TOLLENAAR RA, DEVILEE P, VAN ASPEREN CJ. Clinical correlates of low-risk variants in FGFR2, TNRC9, MAP3K1, LSP1 and 8q24 in a Dutch cohort of incident breast cancer cases. *Breast Cancer Res* 2007; 9: R78.

HUNTER DJ, KRAFT P, JACOBS KB, COX DG, YEAGER M, HANKINSON SE, WACHOLDER S, WANG Z, WELCH R, HUTCHINSON A, WANG J, YU K, CHATTERJEE N, ORR N, WILLETT WC, COLDITZ GA, ZIEGLER RG, BERG CD, BUYS SS, MCCARTY CA, FEIGELSON HS, CALLE EE, THUN MJ, HAYES RB, TUCKER M, GERHARD DS, FRAUMENI JF JR, HOOVER RN, THOMAS G, CHANOCK SJ. A genome-wide association study identifies alleles in FGFR2 associated with risk of sporadic postmenopausal breast cancer. *Nat Genet* 2007; 39: 870– 874.

HUTLOFF A, DITTRICH AM, BEIER KC, ELJASCHEWITSCH B, KRAFT R, ANAGNOSTOPOULOS I, KROCZEK RA. ICOS is an inducible T-cell co-stimulator structurally and functionally related to CD28. *Nature* 1999; 397: 263–266.

HUNTER T. Signaling—2000 and beyond. *Cell* 2000;100:113–27.

IRESON CR and KELLAND LR. Discovery and development of anticancer aptamers. *Mol Cancer Ther* 2006; 5: 2957-2962.

IWAI Y, ISHIDA M, TANAKA Y, OKAZAKI T, HONJO T, MINATO N. Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 17,99(19):12293-7.

JABS EW, LI X, SCOTT AF, MEYERS G, CHEN W, ECCLES M, MAO JI, CHARNAS LR, JACKSON CE, JAYE M. Jackson-Weiss and Crouzon syndromes

are allelic with mutations in fibroblast growth factor receptor 2. *Nat Genet* 1994; 8: 275-279.

JAMESON J, UGARTE K, CHEN N, YACHI P, FUCHS E, BOISMENU R, HAVRAN WL. A role for skin gammadelta T cells in wound repair. *Science* 2002; 296: 747-749.

JANG JH, SHIN KH AND PARK JG. Mutations in FGFR2 and FGFR3 genes associated with human gastric and colorectal cancers. *Cancer Res* 2001; 61: 3541-3543.

JIANG J, ZHU Y, WU C, SHEN Y, WEI W, CHEN L, ZHENG X, SUN J, LU B, ZHANG X. Tumor expression of B7-H4 predicts poor survival of patients suffering from gastric cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2010. [Epub ahead of print]

KATOH M. Cancer genomics and genetics of FGFR2 (Review). *Int J Oncol*. 2008;33(2):233-237.

KATOH M. Dysregulation of stem cell signaling network due to germline mutation, SNP, Helicobacter pylori infection, epigenetic change, and genetic alteration in gastric cancer. *Cancer Biol Ther* 2007; 6: 832-839.

KATOH M. Epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer. *Int J Oncol* 2005; 27: 1677-1683.

KATOH M. WNT and FGF gene clusters. *Int J Oncol* 2002; 21: 1269-1273.

KATOH M, HATTORI Y, SASAKI H, TANAKA M, SUGANO K, YAZAKI Y, SUGIMURA T, TERADA M. K-sam gene encodes secreted as well as transmembrane receptor tyrosine kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 2960-2964.

KATOH M, KATOH M. Cross-talk of WNT and FGF signaling pathways at GSK3s to regulate  $\beta$ -catenin and SNAIL signaling cascades. *Cancer Biol Ther* 2006; 5: 1059-1064.

KATOH Y, KATOH M. FGFR2-related pathogenesis and FGFR2-targeted therapeutics (Review). *Int J Mol Med*. 2009 Mar;23(3):307-11.

KATOH M, KATOH M. FGFR2 and WDR11 are neighboring oncogene and tumor suppressor gene on human chromosome 10q26. *Int J Oncol* 2003; 22: 1155-1159.

KATOH Y, KATOH M. Hedgehog signaling, epithelial-to-mesenchymal transition, and miRNA. *Int J Mol Med* 2008; 22: 271-275.

KATOH M, KATOH M. Integrative genomic analyses on HES/HEY family. *Int J Oncol* 2007; 31: 461-466.

KATOH M, KATOH M. Notch signaling in gastrointestinal tract. *Int J Oncol* 2007; 30: 247-251.

KATOH M, TERADA M. Oncogenes and tumor suppressor genes. In: *Gastric Cancer*. Nishi M, et al (eds). Springer-Verlag, Tokyo, pp196-208, 1993.

KATOH M, KATOH M. WNT signaling pathway and stem cell signaling network. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 4042-4045.

KAURAH P, MACMILLAN A, BOYD N, SENZ J, DE LUCA A, CHUN N, SURIANO G, ZAOR S, VAN MANEN L, GILPIN C, NIKKEL S, CONNOLLY-WILSON M, WEISSMAN S, RUBINSTEIN WS, SEBOLD C, GREENSTEIN R, STROOP J, YIM D, PANZINI B, MCKINNON W, GREENBLATT M, WIRTZFELD D, FONTAINE D, COIT D, YOON S, CHUNG D, LAUWERS G, PIZZUTI A, VACCARO C, REDAL MA, OLIVEIRA C, TISCHKOWITZ M, OLSCHWANG S, GALLINGER S, LYNCH H, GREEN J, FORD J, PHAROAH P, FERNANDEZ B, HUNTSMAN D. Founder and recurrent CDH1 mutations in families with hereditary diffuse gastric cancer. *JAMA* 2007; 297: 2360– 2372.

KAWASE T, MATSUO K, SUZUKI T, HIRAKI A, WATANABE M, IWATA H, TANAKA H, TAJIMA K. FGFR2 intronic polymorphisms interact with reproductive risk factors of breast cancer: results of a case control study in Japan. *Int J Cancer* 2009;125(8):1946-52.

KLINGE CM, BLANKENSHIP KA, RISINGER KE, BHATNAGAR S, NOISIN EL, SUMANASEKERA WK, ZHAO L, BREY DM, KEYNTON RS. Resveratrol and estradiol rapidly activate MAPK signaling through estrogen receptors alpha and beta in endothelial cells. *J Biol Chem* 2005;280(9):7460-8.

KORMAN AJ, PEGGS KS, ALLISON JP. Checkpoint blockade in cancer immunotherapy. *Adv Immunol* 2006; 90: 297–339.

KOUHARA H, HADARI YR, SPIVAK-KROIZMAN T, SCHILLING J, BARSAGI D, LAX I, SCHLESSINGER J. A lipid-anchored Grb2-binding protein that links FGFreceptor activation to the Ras/MAPK signaling pathway. *Cell* 1997;89:693–702.

KOZICZAK M, HOLBRO T, HYNES NE. Blocking of FGFR signaling inhibits breast cancer cell proliferation through downregulation of D-type cyclins. *Oncogene*. 2004;23(20):3501-8.

KRAMBECK AE, THOMPSON RH, DONG H, LOHSE CM, PARK ES, KUNTZ SM, LEIBOVICH BC, BLUTE ML, CHEVILLE JC, KWON ED. B7-H4 expression in renal cell carcinoma and tumor vasculature: associations with cancer progression and survival. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(27):10391–10396.

KRYCZEK I, WEI S, ZHU G, MYERS L, MOTTRAM P, CHENG P, CHEN L, COUKOS G, ZOU W. Relationship between B7-H4, regulatory T cells, and patient outcome in human ovarian carcinoma. *Cancer Res* 2007;67:8900–8905.

KRYCZEK I, WEI S, ZOU L, ZHU G, MOTTRAM P, XU H, CHEN L, ZOU W. Cutting edge: induction of B7-H4 on APCs through IL-10: novel suppressive mode for regulatory T cells. *J Immunol* 2006;177:40–44.

KRYCZEK I, ZOU L, RODRIGUEZ P, ZHU G, WEI S, MOTTRAM P, BRUMLIK M, CHENG P, CURIEL T, MYERS L, LACKNER A, ALVAREZ X, OCHOA A, CHEN L, ZOU W. B7-H4 expression identifies a novel suppressive macrophage population in human ovarian carcinoma. *J Exp Med* 2006;203:871–881.

LATCHMAN Y, WOOD CR, CHERNOVA T, CHAUDHARY D, BORDE M, CHERNOVA I, IWAI Y, LONG AJ, BROWN JA, NUNES R, GREENFIELD EA, BOURQUE K, BOUSSIOTIS VA, CARTER LL, CARRENO BM, MALENKOVICH N, NISHIMURA H, OKAZAKI T, HONJO T, SHARPE AH, FREEMAN GJ. PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. *Nat Immunol* 2001;2(3):261-8.

LAX I, WONG A, LAMOTHE B, LEE A, FROST A, HAWES J, SCHLESSINGER J. The docking protein FRS2alpha controls a MAP kinase-mediated negative feedback mechanism for signaling by FGF receptors. *Mol Cell* 2002;10:709–19.

LEE FS, LANE TF, KUO A, SHACKLEFORD GM, LEDER P. Insertional mutagenesis identifies a member of the Wnt gene family as a candidate oncogene in the mammary epithelium of int-2/Fgf-3 transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 2268-2272.

LEE HK, CHOI YS, PARK YA and JEONG S. Modulation of oncogenic transcription and alternative splicing by beta-catenin and an RNA aptamer in colon cancer cells. *Cancer Res* 2006; 66: 10560-10566.

LEE MJ, DEDHAR S, KALLURI R and THOMPSON EW. The epithelial-mesenchymal transition: new insights in signaling, development, and disease. *J Cell Biol* 2006; 172: 973-981.

LEW ED, BAE JH, ROHMANN E, WOLLNIK B, SCHLESSINGER J. Structural basis for reduced FGFR2 activity in LADD syndrome: Implications for FGFR autoinhibition and activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104(50):19802-7.

LI S, CHRISTENSEN C, KISELYOV VV, KØHLER LB, BOCK E, BEREZIN V. Fibroblast growth factor-derived peptides: functional agonists of the fibroblast growth factor receptor. *J Neurochem* 2008; 104: 667-682.

LIANG J, CHEN P, HU Z, ZHOU X, CHEN L, LI M, WANG Y, TANG J, WANG H, SHEN H. Genetic variants in fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2)

contribute to susceptibility of breast cancer in Chinese women. *Carcinogenesis* 2008;29(12):2341-6.

LIANG Z, WU H, REDDY S, ZHU A, WANG S, BLEVINS D, YOON Y, ZHANG Y, SHIM H. Blockade of invasion and metastasis of breast cancer cells via targeting CXCR4 with an artificial microRNA. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 363:542-546.

LU J, IZVOLSKY KI, QIAN J AND CARDOSO WV. Identification of FGF10 targets in the embryonic lung epithelium during bud morphogenesis. *J Biol Chem* 2005; 280: 4834-4841.

MA H, HU Z, WANG H, JIN G, WANG Y, SUN W, CHEN D, TIAN T, JIN L, WEI Q, LU D, HUANG W, SHEN H. ERCC6/CSB gene polymorphisms and lung cancer risk. *Cancer Lett* 2009; 273(1):172-176.

MAJEWSKI J, OTT J. Distribution and characterization of regulatory elements in the human genome. *Genome Res* 2002,12(12):1827-1836.

MASCIARI S, LARSSON N, SENZ J, BOYD N, KAURAH P, KANDEL MJ, HARRIS LN, PINHEIRO HC, TROUSSARD A, MIRON P, TUNG N, OLIVEIRA C, COLLINS L, SCHNITT S, GARBER JE, HUNTSMAN D. Germline E-cadherin mutations in familial lobular breast cancer. *J Med Genet* 2007; 44: 726– 731.

MATHEWS DH, TURNER DH, ZUKER M. RNA secondary structure prediction. *Curr Protoc Nucleic Acid Chem* 2007, Chapter 11(Unit11):12.

MATSUBARA A, KAN M, FENG S AND MCKEEHAN WL. Inhibition of growth of malignant rat prostate tumor cells by restoration of FGFR2. *Cancer Res* 1998; 58: 1509-1514.

MCGRATH M, LEE IM, BURING J, HUNTER DJ and DE VIVO I. Novel breast cancer risk alleles and endometrial cancer risk. *Int J Cancer* 2008; 123: 2961-2964.

MEINDL A. Comprehensive analysis of 989 patients with breast or ovarian cancer provides BRCA1 and BRCA2 mutation profiles and frequencies for the German population. *Int J Cancer* 2002; 97:472– 480.

MEYER KB, MAIA AT, O'REILLY M, TESCHENDORFF AE, CHIN SF, CALDAS C, PONDER BA. Allele-specific upregulation of FGFR2 increases susceptibility to breast cancer. *PLoS Biol* 2008; 6: e108.

MIGNONE F, GISSI C, LIUNI S, PESOLE G. Untranslated regions of mRNAs. *Genome Biol* 2002, 3(3):REVIEWS0004.

MIKI T, BOTTARO DP, FLEMING TP, SMITH CL, BURGESS WH, CHAN AM, AARONSON SA. Determination of ligand-binding specificity by alternative splicing: two distinct growth factor receptors encoded by a single gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:246–50.

MIKI T, FLEMING TP, BOTTARO DP, RUBIN JS, RON D, AARONSON SA. Expression cDNA cloning of the KGF receptor by creation of a transforming autocrine loop. *Science* 1991; 251: 72-75.

MIYATAKE T, TRINGLER B, LIU W, LIU SH, PAPERKOFF J, ENOMOTO T, TORIKO KC, DEHN DL, SWISHER A, SHROYER KR. B7-H4 (DD-O110) is overexpressed in high risk uterine endometrioid adenocarcinomas and inversely correlated with tumor T-cell infiltration. *Gynecol Oncol* 2007;106:119-127.

MOFFA AB, ETHIER SP. Differential signal transduction of alternatively spliced FGFR2 variants expressed in human mammary epithelial cells. *J Cell Physiol* 2007 Mar;210(3):720-31.

MOFFA AB, TANNHEIMER SL AND ETHIER SP. Transforming potential of alternatively spliced variants of FGFR2 in human mammary epithelial cells. *Mol Cancer Res* 2004; 2: 643-652.

MOHAMMADI M, DIONNE CA, LI W, LIN, SPIVAK T, HONEGGER AM, JAYE M, SCHLESSINGER J. Point mutation in FGF receptor eliminates phosphatidylinositol hydrolysis without affecting mitogenesis. *Nature* 1992;358:681-4.

MOHAMMADI M, FROUM S, HAMBY JM, SCHROEDER MC, PANEK RL, LU GH, ELISEENKOVA AV, GREEN D, SCHLESSINGER J, HUBBARD SR. Crystal structure of an angiogenesis inhibitor bound to the FGF receptor tyrosine kinase domain. *EMBO J* 1998;17:5896-904.

MOHAMMADI M, HONEGGER AM, ROTIN D, FISCHER R, BELLOT F, LI W, DIONNE CA, JAYE M, RUBINSTEIN M, SCHLESSINGER J. A tyrosine phosphorylated carboxy-terminal peptide of the fibroblast growth factor receptor (Flg) is a binding site for the SH2 domain of phospholipase C-gamma 1. *Mol Cell Biol* 1991;11:5068-78.

MOHAMMADI M, MCMAHON G, SUN L, TANG C, HIRTH P, YEH BK, HUBBARD SR, SCHLESSINGER J. Structures of the tyrosine kinase domain of fibroblast growth factor receptor in complex with inhibitors. *Science* 1997;276:955-60.

MOHAMMADI M, SCHLESSINGER J, HUBBARD SR. Structure of the FGF receptor tyrosine kinase domain reveals a novel autoinhibitory mechanism. *Cell* 1996; 86: 577-587.

MOON RT, KOHN AD, DE FERRARI GV AND KAYKAS A. WNT and s-catenin signalling: diseases and therapies. *Nat Rev Genet* 2004; 5: 691-701.



MUGLER KC, SINGH M, TRINGLER B, TORKKO KC, LIU W, PAPKOFF J, SHROYER KR. B7-H4 expression in a range of breast pathology: correlation with tumor T-cell infiltration. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2007;15(4):363-70.

NATHANSON KL, WOOSTER R, WEBER BL. Breast cancer genetics: what we know and what we need. *Nat Med* 2001; 7: 552– 556.

NEVANLINNA H, BARTEK J. The CHEK2 gene and inherited breast cancer susceptibility. *Oncogene* 2006; 25: 5912–5919.

NISHIMURA H, NOSE M, HIAI H, MINATO N, HONJO T. Development of lupus-like autoimmune diseases by disruption of the PD-1 gene encoding an ITIM motif-carrying immunoreceptor. *Immunity* 1999; 11(2):141-51.

NIWA Y, MASAMIZU Y, LIU T, NAKAYAMA R, DENG CX, KAGEYAMA R. The initiation and propagation of Hes7 oscillation are cooperatively regulated by Fgf and notch signaling in the somite segmentation clock. *Dev Cell* 2007; 13: 298-304.

NORDGARD SH, JOHANSEN FE, ALNAES GI, NAUME B, BØRRESEN-DALE AL, KRISTENSEN VN. Genes harbouring susceptibility SNPs are differentially expressed in the breast cancer subtypes. *Breast Cancer Res* 2007;9(6):113.

NUSSE R. Wnts and Hedgehogs: lipid-modified proteins and similarities in signaling mechanisms at the cell surface. *Development* 2003; 130: 5297-5305.

NYENG P, NORGAARD GA, KOBBERUP S AND JENSEN J. FGF10 signaling controls stomach morphogenesis. *Dev Biol* 2007; 303: 295-310.

O'DONOVAN MC, NORTON N, WILLIAMS H, PEIRCE T, MOSKVINA V, NIKOLOV I, HAMSHERE M, CARROLL L, GEORGIEVA L, DWYER S, HOLMANS P, MARCHINI JL, SPENCER CC, HOWIE B, LEUNG HT, GIEGLING I, HARTMANN AM, MÖLLER HJ, MORRIS DW, SHI Y, FENG G, HOFFMANN P, PROPPING P, VASILESCU C, MAIER W, RIETSCHEL M, ZAMMIT S, SCHUMACHER J, QUINN EM, SCHULZE TG, IWATA N, IKEDA M, DARVASI A, SHIFMAN S, HE L, DUAN J, SANDERS AR, LEVINSON DF, ADOLFSSON R, OSBY U, TERENIUS L, JÖNSSON EG, CICHON S, NÖTHEN MM, GILL M, CORVIN AP, RUJESCU D, GEJMAN PV, KIROV G, CRADDOCK N, WILLIAMS NM, OWEN MJ; MOLECULAR GENETICS OF SCHIZOPHRENIA COLLABORATION. Analysis of 10 independent samples provides evidence for association between schizophrenia and a SNP flanking FGFR2. *Mol Psychiatry* 2009;14(1):30-6.

OFFIT K, GARBER JE. Time to check CHEK2 in families with breast cancer? *J Clin Oncol* 2008; 26: 519– 520.

OLSEN SK, IBRAHIMI OA, RAUCCI A, ZHANG F, ELISEENKOVA AV, YAYON A, BASILICO C, LINHARDT RJ, SCHLESSINGER J, MOHAMMADI M. Insights into the molecular basis for fibroblast growth factor receptor

autoinhibition and ligand-binding promiscuity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:935–40.

ONG SH, GUY GR, HADARI YR, LAKS S, GOTOH N, SCHLESSINGER J, LAX I. FRS2 proteins recruit intracellular signaling pathways by binding to diverse targets on fibroblast growth factor and nerve growth factor receptors. *Mol Cell Biol* 2000;20:979–89.

ORNITZ DM, ITOH N. Fibroblast growth factors. *Genome Biol* 2001;2:3005 [Reviews].

ORNITZ DM, XU J, COLVIN JS, MCEWEN DG, MACARTHUR CA, COULIER F, GAO G, GOLDFARB M. Receptor specificity of the FGF family. *J Biol Chem* 1996; 271: 15292-15297.

ORR-URTREGER A, BEDFORD MT, BURAKOVA T, ARMAN E, ZIMMER Y, YAYON A, GIVOL D, LONAI P. Developmental localization of the splicing alternatives of fibroblast growth factor receptor-2 (FGFR2). *Dev Biol* 1993;158:475–86.

OSORIO A, RODRIGUEZ-LÓPEZ R, DIEZ O, DE LA HOYA M, IGNACIO MARTINEZ J, VEGA A, ESTEBAN-CARDEÑOSA E, ALONSO C, CALDÉS T, BENITEZ J. The breast cancer low-penetrance allele 1100delC in the CHEK2 gene is not present in Spanish familial breast cancer population. *Int J Cancer* 2004; 108: 54– 56.

ÖZMEN V, FİDANER C, AKSAZ E, BAYOL Ü, DEDE İ, GÖKER E, GÜLLÜOĞLU B M, İŞIKDOĞAN A, TOPAL U, UHRİ M, UTKAN Z, ZENGİN N, TUNCER M. Türkiye’de Meme Kanseri Erken Tanı ve Tarama Programlarının Hazırlanması “Sağlık Bakanlığı Meme Kanseri Erken Tanı ve Tarama Alt Kurulu Raporu” *Meme Sağlığı Dergisi* 2009 Cilt: 5 Sayı: 3:125-134

PARKIN DM, BRAY F, FERLAY J, PISANI P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin.* 2005; 55: 74-108.

PARTANEN J, SCHWARTZ L, ROSSANT J. Opposite phenotypes of hypomorphic and Y766 phosphorylation site mutations reveal a function for Fgfr1 in anteroposterior patterning of mouse embryos. *Genes Dev* 1998;12:2332–44.

PASSOS-BUENO MR, WILCOX WR, JABS EW, SERTIÉ AL, ALONSO LG, KITO H. Clinical spectrum of fibroblast growth factor receptor mutations. *Hum Mutat* 1999; 14: 115-125.

PAZNEKAS WA, CUNNINGHAM ML, HOWARD TD, KORF BR, LIPSON MH, GRIX AW, FEINGOLD M, GOLDBERG R, BOROCHOWITZ Z, ALECK K, MULLIKEN J, YIN M, JABS EW. Genetic heterogeneity of Saethre-Chozen syndrome, due to TWIST and FGFR mutations. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 1370-1380.

PLOTNIKOV AN, HUBBARD SR, SCHLESSINGER J, MOHAMMADI M. Crystal structures of two FGF–FGFR complexes reveal the determinants of ligand–receptor specificity. *Cell* 2000;101:413–24.

PLOTNIKOV AN, SCHLESSINGER J, HUBBARD SR, MOHAMMADI M. Structural basis for FGF receptor dimerization and activation. *Cell* 1999;98:641–50.

POLLOCK PM, GARTSIDE MG, DEJEZA LC, POWELL MA, MALLON MA, DAVIES H, MOHAMMADI M, FUTREAL PA, STRATTON MR, TRENT JM, GOODFELLOW PJ. Frequent activating FGFR2 mutations in endometrial carcinomas parallel germline mutations associated with craniosynostosis and skeletal dysplasia syndromes. *Oncogene* 2007; 26: 7158-7162.

PRASAD DV, RICHARDS S, MAI XM, DONG C. B7S1, a novel B7 family member that negatively regulates T cell activation. *Immunity* 2003;18:863–873.

RADTKE F AND RAJ K. The role of Notch in tumorigenesis. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 765-767.

RAHMAN N, SEAL S, THOMPSON D, KELLY P, RENWICK A, ELLIOTT A, REID S, SPANOVA K, BARFOOT R, CHAGTAI T, JAYATILAKE H, MCGUFFOG L, HANKS S, EVANS DG, ECCLES D; BREAST CANCER SUSCEPTIBILITY COLLABORATION (UK), EASTON DF, STRATTON MR. PALB2, which encodes a BRCA2-interacting protein, is a breast cancer susceptibility gene. *Nat Genet* 2007; 39: 165– 167.

RAKHA EA, EL-SAYED ME, GREEN AR, PAISH EC, POWE DG, GEE J, NICHOLSON RI, LEE AH, ROBERTSON JF, ELLIS IO. Biologic and clinical characteristics of breast cancer with single hormone receptor positive phenotype. *J Clin Oncol* 2007, 25(30):4772-4778.

RASKIN L, PINCHEV M, ARAD C, LEJBKOWICZ F, TAMIR A, RENNERT HS, RENNERT G, GRUBER SB. FGFR2 is a breast cancer susceptibility gene in Jewish and Arab Israeli populations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008;17(5):1060-5.

RAUCCI A, BELLOSTA P, GRASSI R, BASILICO C, MANSUKHANI A. Osteoblast proliferation or differentiation is regulated by relative strengths of opposing signaling pathways. *J Cell Physiol* 2008; 215: 442-451.

REARDON W, WINTER RM, RUTLAND P, PULLEYN LJ, JONES BM, MALCOLM S. Mutations in the fibroblast growth factor receptor 2 gene cause Crouzon syndrome. *Nat Genet* 1994; 8: 98-103.

REBBECK TR, DEMICHELE A, TRAN TV, PANOSSIAN S, BUNIN GR, TROXEL AB, STROM BL. Hormone-dependent effects of FGFR2 and MAP3K1 in breast cancer susceptibility in a population-based sample of post-menopausal

African-American and European-American women. *Carcinogenesis* 2009;30(2):269-74.

REICHERT JM, ROSENSWEIG CJ, FADEN LB and DEWITZ MC. Monoclonal antibody successes in the clinic. *Nat Biotechnol* 2005; 23: 1073-1078.

REVEST JM, SPENCER-DENE B, KERR K, DE MOERLOOZE L, ROSEWELL I, DICKSON C. Fibroblast growth factor receptor 2-IIIb acts upstream of Shh and Fgf4 and is required for limb bud maintenance but not for the induction of Fgf8, Fgf10, Msx1, or Bmp4. *Dev Biol* 2001; 231: 47-62.

RENWICK A, THOMPSON D, SEAL S, KELLY P, CHAGTAI T, AHMED M, NORTH B, JAYATILAKE H, BARFOOT R, SPANOVA K, MCGUFFOG L, EVANS DG, ECCLES D; BREAST CANCER SUSCEPTIBILITY COLLABORATION (UK), EASTON DF, STRATTON MR, RAHMAN N. ATM mutations that cause ataxia-telangiectasia are breast cancer susceptibility alleles. *Nat Genet* 2006; 38: 873– 875.

RICOL D, CAPPELLEN D, EL MARJOU A, GIL-DIEZ-DE-MEDINA S, GIRAULT JM, YOSHIDA T, FERRY G, TUCKER G, POUPON MF, CHOPIN D, THIERY JP, RADVANYI F. Tumour suppressive properties of FGFR2b in human bladder cancer. *Oncogene* 1999; 18:7234-7243.

RIPPERGER T, GADZICKI D, MEINDL A, SCHLEGELBERGER B. Breast cancer susceptibility: current knowledge and implications for genetic counselling. *Eur J Hum Genet.* 2009 Jun;17(6):722-31. Epub 2008 Dec 17. Review.

RISINGER JI, BARRETT JC, WATSON P, LYNCH HT, BOYD J. Molecular genetic evidence of the occurrence of breast cancer as an integral tumor in patients with the hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma syndrome. *Cancer* 1996; 77: 1836– 1843.

ROBSON M, OFFIT K. Clinical practice. Management of an inherited predisposition to breast cancer. *N Engl J Med* 2007; 357: 154– 162.

SAMSON M, RAMA R, SWAMINATHAN R, SRIDEVI V, NANCY KN, RAJKUMAR T. CYP17 (T34C), CYP19 (Trp39Arg), and FGFR2 (C906T) polymorphisms and the risk of breast cancer in south Indian women. *Asian Pac J Cancer Prev* 2009;10(1):111-4.

SALCEDA S, TANG T, KMET M, MUNTEANU A, GHOSH M, MACINA R, LIU W, PILKINGTON G, PAPKOFF J. The immunomodulatory protein B7-H4 is overexpressed in breast and ovarian cancers and promotes epithelial cell transformation. *Exp Cell Res* 2005;306:128–141.

SALOMON B, BLUESTONE JA. Complexities of CD28/B7: CTLA-4 costimulatory pathways in autoimmunity and transplantation. *Annu Rev Immunol* 2001;19:225-52.

SCHLESSINGER J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell* 2000;103:211–25.

SCHLESSINGER J., LEMMON M. A. SH2 and PTB Domains in Tyrosine Kinase Signaling. *Sci. STKE* 2003, re12 (2003).

SCHLESSINGER J, PLOTNIKOV AN, IBRAHIMI OA, ELISEENKOVA AV, YEH BK, YAYON A, LINHARDT RJ, MOHAMMADI M. Crystal structure of a ternary FGF–FGFR– heparin complex reveals a dual role for heparin in FGFR binding and dimerization. *Mol Cell* 2000;6:743–50.

SEAL S, THOMPSON D, RENWICK A, ELLIOTT A, KELLY P, BARFOOT R, CHAGTAI T, JAYATILAKE H, AHMED M, SPANOVA K, NORTH B, MCGUFFOG L, EVANS DG, ECCLES D; BREAST CANCER SUSCEPTIBILITY COLLABORATION (UK), EASTON DF, STRATTON MR, RAHMAN N. Truncating mutations in the Fanconi anemia J gene BRIP1 are low-penetrance breast cancer susceptibility alleles. *Nat Genet* 2006; 38: 1239– 1241.

SEDY JR, GAVRIELI M, POTTER KG, HURCHLA MA, LINDSLEY RC, HILDNER K, SCHEU S, PFEFFER K, WARE CF, MURPHY TL, MURPHY KM. B and T lymphocyte attenuator regulates T cell activation through interaction with herpesvirus entry mediator. *Nat Immunol* 2005;6:90–98.

SHACKLEFORD GM, MACARTHUR CA, KWAN HC AND VARMUS HE. Mouse mammary tumor virus infection accelerates mammary carcinogenesis in Wnt-1 transgenic mice by insertional activation of int-2/Fgf-3 and Hst/Fgf-4. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 740-744.

SHARIF S, MORAN A, HUSON SM, IDDENDEN R, SHENTON A, HOWARD E, EVANS DG. Women with neurofibromatosis 1 are at a moderately increased risk of developing breast cancer and should be considered for early screening. *J Med Genet* 2007; 44: 481–484.

SHARPE AH, FREEMAN GJ. The B7–CD28 superfamily. *Nature Rev Immunol* 2002; 2: 116–126.

SHIN T, KENNEDY G, GORSKI K, TSUCHIYA H, KOSEKI H, AZUMA M, YAGITA H, CHEN L, POWELL J, PARDOLL DM, HOUSSEAU F. Cooperative B7-1/2 (CD80/CD86) and B7-DC (PD-L2) costimulation of CD4 T cells independent of the PD-1 receptor. *J Exp Med*, 2003; 7,198(1):31-8.

SHOOK D and KELLER R. Mechanisms, mechanics and function of epithelial-mesenchymal transitions in early development. *Mech Dev* 2003; 120: 1351-1383.

SICA GL, CHOI IH, ZHU G, TAMADA K, WANG SD, TAMURA H, CHAPOVAL AI, FLIES DB, BAJORATH J, CHEN L. B7-H4, a molecule of the B7 family, negatively regulates T cell immunity. *Immunity* 2003;18(6):849-61.

SIMON I, ZHUO S, CORRAL L, DIAMANDIS EP, SARNO MJ, WOLFERT RL, KIM NW. B7-h4 is a novel membrane-bound protein and a candidate serum and tissue biomarker for ovarian cancer. *Cancer Res* 2006 Feb 1;66(3):1570-5.

SOERJOMATARAM I, LOUWMAN MW, RIBOT JG, ROUKEMA JA, COEBERGH JW. An overview of prognostic factors for long-term survivors of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2008, 107(3):309-330.

STACEY SN, MANOLESCU A, SULEM P, RAFNAR T, GUDMUNDSSON J, GUDJONSSON SA, MASSON G, JAKOBSDOTTIR M, THORLACIUS S, HELGASON A, ABEN KK, STROBBE LJ, ALBERS-AKKERS MT, SWINKELS DW, HENDERSON BE, KOLONEL LN, LE MARCHAND L, MILLASTRE E, ANDRES R, GODINO J, GARCIA-PRATS MD, POLO E, TRES A, MOUY M, SAEMUNDSDOTTIR J, BACKMAN VM, GUDMUNDSSON L, KRISTJANSSON K, BERGTHORSSON JT, KOSTIC J, FRIGGE ML, GELLER F, GUDBJARTSSON D, SIGURDSSON H, JONSDOTTIR T, HRAFNKELSSON J, JOHANNSSON J, SVEINSSON T, MYRDAL G, GRIMSSON HN, JONSSON T, VON HOLST S, WERELIUS B, MARGOLIN S, LINDBLOM A, MAYORDOMO JI, HAIMAN CA, KIEMENEY LA, JOHANNSSON OT, GULCHER JR, THORSTEINSDOTTIR U, KONG A, STEFANSSON K. Common variants on chromosomes 2q35 and 16q12 confer susceptibility to estrogen receptor-positive breast cancer. *Nat Genet* 2007; 39: 865– 869.

STRATTON MR, RAHMAN N. The emerging landscape of breast cancer susceptibility. *Nat Genet* 2008; 40: 17–22.

SUH WK, WANG S, DUNCAN GS, MIYAZAKI Y, CATES E, WALKER T, GAJEWSKA BU, DEENICK E, DAWICKI W, OKADA H, WAKEHAM A, ITIE A, WATTS TH, OHASHI PS, JORDANA M, YOSHIDA H, MAK TW. Generation and characterization of B7-H4 / B7S1 / B7x-deficient mice. *Mol Cell Biol* 2006;26:6403–6411.

SUN Y, WANG Y, ZHAO J, GU M, GISCOMBE R, LEFVERT AK, WANG X. B7-H3 and B7-H4 expression in non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer* 2006;53(2):143-51.

TAMUR H, DONG H, ZHU G, SICA GL, FLIES DB, TAMADA K, CHEN L. B7-H1 costimulation preferentially enhances CD28-independent T-helper cell function. *Blood* 2001; 97: 1809–1816.

THIERY JP. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression. *Nat Rev Cancer* 2002;2: 442-454.

TONG KI, KOBAYASHI A, KATSUOKA F and YAMAMOTO M. Two-site substrate recognition model for the Keap1-Nrf2 system: a hinge and latch mechanism. *Biol Chem* 2006; 387: 1311-1320.

TRINGLER B, LIU W, CORRAL L, TORKKO KC, ENOMOTO T, DAVIDSON S, LUCIA MS, HEINZ DE, PAPKOFF J, SHROYER KR. B7-H4 overexpression in ovarian tumors. *Gynecol Oncol* 2006;100(1):44-52.

TRINGLER B, ZHUO S, PILKINGTON G, TORKKO KC, SINGH M, LUCIA MS, HEINZ DE, PAPKOFF J, SHROYER KR. B7-h4 is highly expressed in ductal and lobular breast cancer. *Clin Cancer Res* 2005;11:1842–1848.

TSENG SY, OTSUJÌ M, GORSKI K, HUANG X, SLANSKY JE, PAI SI, SHALABI A, SHIN T, PARDOLL DM, TSUCHIYA H. B7-DC, a new dendritic cell molecule with potent costimulatory properties for T cells. *J Exp Med* 2001; 193: 839–846.

TURNBULL C, RAHMAN N. Genetic predisposition to breast cancer: past, present, and future. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2008; 9:321– 345.

ULRICH H. DNA and RNA aptamers as modulators of protein function. *Med Chem* 2005; 1: 199-208.

VASEN HF, MORREAU H, NORTIER JW. Is breast cancer part of the tumor spectrum of hereditary nonpolyposis colorectal cancer? *Am J Hum Genet* 2001; 68: 1533– 1535.

WAHL MB, DENG C, LEWANDOSKI M AND POURQUIE O. Fgf signaling acts upstream of the Notch and Wnt signaling pathways to control segmentation clock oscillations in mouse somitogenesis. *Development* 2007; 134: 4033-4041.

WALSH T, KING MC. Ten genes for inherited breast cancer. *Cancer Cell* 2007; 11: 103– 105.

WANG S, BAJORATH J, FLIES DB, DONG H, HONJO T, CHEN L. Molecular modeling and functional mapping of B7-H1 and B7-DC uncouple costimulatory function from PD-1 interaction. *J Exp Med* 2003; 197: 1083–1091.

WANG S, CHEN L. T lymphocyte co-signaling pathways of the B7-CD28 family. *Cell Mol Immunol* 2004;1(1):37-42. Review

WANG W. Emergence of a DNA-damage response network consisting of Fanconi anaemia and BRCA proteins. *Nat Rev Genet* 2007; 8: 735– 748.

WATTERS JJ, CAMPBELL JS, CUNNINGHAM MJ, KREBS EG, DORSA DM. Rapid membrane effects of steroids in neuroblastoma cells: effects of estrogen on mitogen activated protein kinase signalling cascade and c-fos immediate early gene transcription. *Endocrinology* 1997;138(9):4030-3.

WATSON P, VASEN HF, MECKLIN JP, BERNSTEIN I, AARNIO M, JÄRVINEN HJ, MYRHØJ T, SUNDE L, WIJNEN JT, LYNCH HT. The risk of extra-colonic, extra endometrial cancer in the Lynch syndrome. *Int J Cancer* 2008; 123: 444– 449.

WEINSTEIN M, XU X, OHYAMA K, DENG CX. FGFR-3 and FGFR-4 function cooperatively to direct alveogenesis in the murine lung. *Development* 1998;125:3615–23.

WEISCHER M, BOJESEN SE, ELLERVİK C, TYBJAERG-HANSEN A, NORDESTGAARD BG. CHEK2\*1100delC genotyping for clinical assessment of breast cancer risk: meta-analyses of 26 000 patient cases and 27 000 controls. *J Clin Oncol* 2008; 26: 542– 548.

WILKIE AO. Bad bones, absent smell, selfish testes: the pleiotropic consequences of human FGF receptor mutations. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2005;16:187–203.

WILLEMS PJ. Susceptibility genes in breast cancer: more is less? *Clin Genet* 2007; 72: 493– 496.

WONG A, LAMOTHE B, LEE A, SCHLESSINGER J, LAX I, LI A. FRS2 alpha attenuates FGF receptor signaling by Grb2-mediated recruitment of the ubiquitin ligase Cbl. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:6684–9.

WOOSTER R, WEBER BL. Breast and ovarian cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 2339– 2347.

WU R, ZHAI Y, FEARON ER, CHO KR. Diverse mechanisms of beta-catenin deregulation in ovarian endometrioid adenocarcinomas. *Cancer Res* 2001;61(22):8247-55.

XU X, WEINSTEIN M, LI C, NASKI M, COHEN RI, ORNITZ DM, LEDER P, DENG C. Fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2)-mediated reciprocal regulation loop between FGF8 and FGF10 is essential for limb induction. *Development* 1998;125:753–65.

YAMAGUCHI TP, HARPAL K, HENKEMEYER M, ROSSANT J. fgfr-1 is required for embryonic growth and mesodermal patterning during mouse gastrulation. *Genes Dev* 1994;8:3032–44.

YI KH, CHEN L. Fine tuning the immune response through B7-H3 and B7-H4. *Immunol Rev* 2009;229(1):145-51.

YAO Y, WANG X, JIN K, ZHU J, WANG Y, XIONG S, MAO Y, ZHOU L. B7-H4 is preferentially expressed in non-dividing brain tumor cells and in a subset of brain tumor stem-like cells. *J Neurooncol* 2008;89:121–129.

YAYON A, ZIMMER Y, SHEN GH, AVIVI A, YARDEN Y, GIVOL D. A confined variable region confers ligand specificity on fibroblast growth factor receptors: implications for the origin of the immunoglobulin fold. *EMBO J* 1992;11:1885–90.

ZANG X, LOKE P, KIM J, MURPHY K, WAITZ R, ALLISON JP. B7x: a widely expressed B7 family member that inhibits T cell activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100: 10388–10392.



ZANG X, THOMPSON RH, AL-AHMADIE HA, SERIO AM, REUTER VE, EASTHAM JA, SCARDINO PT, SHARMA P, ALLISON JP. B7-H3 and B7x are highly expressed in human prostate cancer and associated with disease spread and poor outcome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:19458–19463.

ZHANG X, IBRAHIMI OA, OLSEN SK, UMEMORI H, MOHAMMADI M, ORNITZ DM. Receptor specificity of the FGF family. The complete mammalian FGF family. *J Biol Chem* 2006; 281:15694-15700.

ZHANG J, QIU LX, WANG ZH, LEAW SJ, WANG BY, WANG JL, CAO ZG, GAO JL, HU XC. Current evidence on the relationship between three polymorphisms in the FGFR2 gene and breast cancer risk: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat* 2010 Mar 19.[Epub ahead of print]

ZHANG J, ZHANG M, JIANG W, WANG L, FU Z, LI D, PANG D, LI D. B7-H4 gene polymorphisms are associated with sporadic breast cancer in a Chinese Han population. *BMC Cancer* 2009 11;9:394.

ZOU W, CHEN L. Inhibitory B7-family molecules in the tumour microenvironment. *Nat Rev Immunol* 2008; 8(6):467-77.

## ÖZGEÇMİŞ

**1. Adı Soyadı** : Asuman ÖZGÖZ

**2. Doğum Tarihi** : 24 Nisan 1978

**3. Öğrenim Durumu:**

1) Akşehir Yıldırım İlkokulu

2) Afyon Kocatepe Anadolu Lisesi

3) Dumlupınar Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü

4) Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD. Yüksek Lisans.

5) Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD. Doktora (Devam ediyor-Tez Aşaması).

**4. Görevi:** Araştırma Görevlisi

**5. Yüksek Lisans Tezi:**

“Mesane Kanseri Tanılı Olgularda p53 Geni Mutasyon Analizi” (2005, Afyonkarahisar)

**Danışman:** Prof. Dr. Mustafa SOLAK

**6. Katıldığı Kongre ve Sempozyumlar:**

1) VIII. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi. 14-17 Ekim 2003, Adana.

2) VI. Ulusal Prenatal Tanı ve Tıbbi Genetik Kongresi. 21-24 Nisan 2004, Antalya.

3) IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi. 24-27 Kasım 2005, Manisa.

4) II. Ege Genetik Sempozyumu, Afyonkarahisar, 24 Kasım, 2006

5) II. Ulusal Moleküler Tıp Kongresi, İstanbul, 24-26 Mart, 2007

6) III. Ege Genetik Sempozyumu, Denizli, 1 Aralık 2007.

7) VIII. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi. 06-09 Mayıs 2008, Çanakkale.

8) IV. Ege Genetik Sempozyumu, Kuşadası, 21 Kasım 2008.

**7. Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler:**

- 1) Solak M, Şamlı H, Fıstık T, Yüksel E, Özgöz A. “Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında Yapılan Sitogenetik Çalışmalar.” VI. Ulusal Prenatal Tanı ve Tıbbi Genetik Kongresi, Poster No: KLP18, 21-24 Nisan 2004, Antalya.
- 2) Solak M, Şamlı H, Özgöz A, Yılmaz M., Fenkci V., Cevrioğlu S. “Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalının ilk prenatal tanı sonuçları.” VI. Ulusal Prenatal Tanı ve Tıbbi Genetik Kongresi, Poster No: PP07, 21-24 Nisan 2004, Antalya
- 3) Şamlı H, Solak M, Fenkci V, Yılmaz M, Cevrioğlu S, Özgöz A. “Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Prenatal Tanı Sonuçları.” Fetal Tıp; Prenatal Tanı 2005. 30 Nisan- 2 Mayıs 2005, Antalya
- 4) Özgöz A, Şamlı H, Solak M, Aktepe F, Yörükoğlu K. “Mesane Kanseri Tanılı Olgularda p53 Geni Mutasyon Analizi.” IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi, Poster No:AG19, 24-27 Kasım 2005, Manisa.
- 5) Şamlı, H., Emmiler, M., Koçoğulları, C.U., Özgöz, A., Solak, M., Çekirdekçi, A. “Genetic Polymorphism In Deep Vein Thrombosis.” *II. Congress Of Molecular Medicine*, Poster No: 079, 24-26 March, 2007, İstanbul.
- 6) Yiğit, Ü., Bükülmez A., Şamlı, H., Köken, R., Özgöz, A., Solak, M. “Investigating Factor V Leiden, Prothrombin Mutations And Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Polymorphisms In Newborns.” *II. Congress Of Molecular Medicine*, Poster No: 082, 24-26 March, 2007, İstanbul.
- 7) H. Şamlı, N. İmirzalioglu, G. Köken, G. Ceylaner, S. Ceylaner, A. Özgöz. “Tekrarlayan Gebelik Kayıplarında Faktör V, Protrombin ve Metilentetrahydrofolat Redüktaz Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi.” VIII. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi. Poster No:PS-004, 06-09 Mayıs 2008, Çanakkale.
- 8) F. Mutlu İçduygu, H. Şamlı, K. Hekimler, A. Özgöz, Y. Sıvacı, N. İmirzalioglu. “5p Delesyon Sendromu Olan Bir Olgunun Değerlendirilmesi.”

VIII. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi. Poster No:PS-178, 06-09 Mayıs 2008, Çanakkale.

- 9) H. Şamlı, A. Özgöz, F. Mutlu İçduygu, K. Hekimler, Y. Sivacı, N. İmirzalıoğlu “Mozaik Ring 18 Olan Bir Olgunun Değerlendirilmesi.” VIII. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi. Poster No:PS-193, 06-09 Mayıs 2008, Çanakkale.
- 10) A. Özgöz, H. Şamlı, F. Mutlu İçduygu, K. Hekimler, N. İmirzalıoğlu. “45,XX,t(13q14q) Karyotipi Olan Bir Olgunun Değerlendirilmesi.” VIII. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi. Poster No:PS-151, 06-09 Mayıs 2008, Çanakkale.
- 11) Soysal Y, Yilmazer M, Özgöz A, Aslan A, Çağlayan S, Sivaci Y, İmirzalıoğlu N. 47,XY,+mar[8] / 46,XY[92] Karyotipi Saptanan, Spina Bifida ve meningomyelose fetal anomalili olgu sunumu. 4. Ege Genetik Sempozyumu, 21 Kasım, Kuşadası , 2008
- 12) A. Cetişli, M. Kulaç, F. Mutlu İçduygu, A. Özgöz, K. Hekimler, N. İmirzalıoğlu. “Behçet Hastalarında MEFV Geni Mutasyon Frekansının Değerlendirilmesi.” XI. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi. 28-31 Ekim 2009, Bodrum.
- 13) S. Demir, A. Özgöz, F. Mutlu İçduygu, K. Hekimler, T. Köken, N. İmirzalıoğlu. “Investigation of the relationship between visfatin gene polymorphism and diabetic nephropathy.” Clinical Genetics 2010; 78 (Suppl. 1): 112-133. 9. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi. Poster No:X50, 01-05 Aralık 2010, İstanbul.

#### **8. Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler:**

- 1) Şamlı H., Solak M., Şamlı M.M., Özgöz A. “The Evaluation of an Infertile Family with Y Chromosome Microdeletion.” European Journal of Human Genetics Conference 2004. Poster No: P0104, 12-15 June 2004, Munich, Germany.
- 2) Solak M., Şamlı H., Şamlı M.M., Özgöz A. “Y Chromosome Microdeletion Analysis in Infertile Men.” European Human Genetics Conference 2005. 7-10 May 2005, Prague, Czech Republic.

- 3) Ozgoz, A., H. Samli, M. Solak, F. Aktepe, K. Yorukoglu, "p53 gene mutation analysis in bladder cancer." *European Journal of Human Genetics Conference*, Poster No: P0584, 6-9 May, Amsterdam, The Netherlands, 2006.
- 4) Şamlı, H., Emmiler, M., Koçoğulları, C.U., Özgöz, A., Solak, M., Çekirdekçi, A. "Genetic Polymorphism In Deep Vein Thrombosis." *European Journal of Human Genetics Conference*, Poster No: P0824, 16-19 June, Nice, France, 2007.
- 5) Yiğit, Ü., Bükülmez A., Şamlı, H., Köken, R., Özgöz, A., Solak, M. "Investigating Factor V Leiden, Prothrombin Mutations And Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Polymorphisms In Newborns." *European Journal of Human Genetics Conference*, Poster No: P0878, 16-19 June, Nice, France, 2007.
- 6) H. Samli, N. Imirzalioglu, G. Koken, A. Ozgoz, G. Ceylaner, S. Ceylaner. "Investigating Factor V (G1691A), Prothrombin (G20210A) and Methylenetetrahydrofolate reductase (C677T) gene polymorphisms in recurrent pregnancy loss" *European Journal of Human Genetics Conference*, Poster No: P05.061, 31 May-3 June, Barcelona, Spain, 2008.
- 7) A. Ozbinar, H. Samli, S. Cetin, T. Fistik, A. Ozgoz, M. Solak, T. Aydemir, F. Ozer. "The investigation of dermatoglyphic samples in patients with Parkinson." *European Journal of Human Genetics Conference*, Poster No: P07.038, 31 May-3 June, Barcelona, Spain, 2008.
- 8) Mutlu İçduygu F., Şamlı H., Hekimler K., Özgöz A., Sivaci Y., Imirzalioglu N.. "Evaluation of a case with 5p deletion syndrome" *European Journal of Human Genetics Conference*, Poster No: P03.160, 23 - 26 May, Vienna, Austria, 2009.
- 9) Şamlı H., Özgöz A, Mutlu İçduygu F., Hekimler K., İmirzalioglu N., Sivacı Y.. "A Case with Mosaic Ring Chromosome 18" *European Journal of Human Genetics Conference*, Poster No: P03.112, 23 - 26 May, Vienna, Austria, 2009.
- 10) Samli H., Mutlu Icduygu F., Ozgoz A., Akbulut G., Hekimler K., Imirzalioglu N. "Acute Abdomen Reasoned Surgery Frequency and MEFV

Mutations in the Patients with FMF“ European Journal of Human Genetics Conference, Poster No: P13.14, 23 - 26 May, Vienna, Austria, 2009.

### 9. Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler:

- 1) Samli H., Samli M., Ozgoz A., Solak M., “Y Chromosome Microdeletion in a Case with Klinefelter’s Syndrome.” Archives Of Andrology, 52(6):427-31, (2006)
- 2) Onrat ST, Emmiler M, Sivaci Y, Söylemez Z, Özgöz A, İmirzalıoğlu N. A patient with ascending aortic dilatation, similar to phenotypes of connective tissue disorders. Genet Mol Res. 8(2):426-34, (2009)
- 3) Samli H, İçduygu FM, Özgöz A, Akbulut G, Hekimler K, İmirzalıoğlu N. Surgery for acute abdomen and MEFV mutations in patients with FMF. Acta Reumatol Port. 34(3):520-4, (2009) Jul-Sep.

### 10. Ulusal Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler:

- 1) Özgöz A., Şamlı H, Solak M., Aktepe F., Aydın Özgür M., Yörükoğlu K. “Mesane Kanseri Tanılı Olgularda p53 Geni Mutasyon Analizi” Kocatepe Tıp Dergisi, 6(3):41-45, (2005).
- 2) Aydın Özgür M., Şamlı H, Özgöz A., Solak M., Dilek H. “Meme Karsinomlarında Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Enzim Kesimi ile p53 Gen Mutasyonlarının Araştırılması ve Dokuda İmmunohistokimyasal Olarak p53 Proteininin Gösterilmesi. ” *Kocatepe Tıp Dergisi*, 7: 17-22, (2006).
- 3) Özbınar, A., H. Şamlı, S. Çetin, T. Fıstık, A. Özgöz, M. Solak, T. Aydemir, F. Özer. “Parkinson Hastalarında Dermatogliflik Örneklerin İncelenmesi.” *Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 8(3):18-22, (2007).
- 4) Şamlı H., A. Özgöz, G. Köken, F. Kırşahin, M. Yılmaz, S. Cevrioğlu, V. Fenkci, T. Fıstık, M. Solak.”Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Laboratuvarında Prenatal Tanı Analizleri.” *Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 8(3):1-6, (2007).
- 5) Şamlı H., İmirzalıoğlu N., Özgöz A., Köken G., Ceylaner S., Ceylaner G., Tekrarlayan Gebelik Kayıplarında Trombofilik Mutasyonları. Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst, 19(5):255-64, (2009).

### 11. Katıldığı kurslar:

- 1) Serbest Radikaller, DNA Hasarı, DNA Onarımı ve Hastalıklarla İlişkisi. Teorik Kurs. Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 24-28 Ocak 2005, İzmir.

### 12. Projelerde yaptığı görevler:

- 1) Oligoastenoteratozoospermik Erkeklerde PCR ile Y kromozomu Mikrodelesyonu Taraması ve Periferik Kandan Kromozom Analizi, KOCATEPE ÜNİV. BİLİMSEL ARAŞTIRMA VAKFI Projesi, **Araştırmacı**, 2003.
- 2) Derin Ven Trombozu Olan Olgularda Faktör V, Protrombin, MTHFR Gen Mutasyon Taraması, KOCATEPE ÜNİV. BİLİMSEL ARAŞTIRMA VAKFI Projesi, **Araştırmacı**, 2005.
- 3) Tekrarlayan Gebelik Kayıplarında Faktör V (G1691A), Protrombin (G20210A), Methylenetetrahydrofolate Reductase (C677T) Gen Polimorfizmlerinin Restriction Fragment Length Polymorphism Yöntemi İle İncelenmesi, KOCATEPE ÜNİV. BİLİMSEL ARAŞTIRMA VAKFI Projesi, **Araştırmacı**, 2006.
- 4) İnmemiş testis tanısı konmuş çocukların Y-kromozom mikrodelesyonu, MTHFR gen polimorfizmleri ve kromozom düzensizlikleri açısından değerlendirilmesi, KOCATEPE ÜNİV. BİLİMSEL ARAŞTIRMA VAKFI Projesi, **Araştırmacı**, devam ediyor.
- 5) Visfatin geni polimorfizmlerinin diabetik nefropati ile ilişkisinin araştırılması, KOCATEPE ÜNİV. BİLİMSEL ARAŞTIRMA VAKFI Projesi, **Araştırmacı**, devam ediyor.
- 6) Meme kanserinde FGFR2 ve B7-H4 geni polimorfizmlerinin ve Etkilerinin Araştırılması, KOCATEPE ÜNİV. BİLİMSEL ARAŞTIRMA VAKFI Projesi, **Araştırmacı**, devam ediyor.

### 12. Bilimsel Kuruluşlara Üyelikler:

- 1) Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Derneği
- 2) Ulusal Tıbbi Genetik Derneği

- 1) **Yabancı Dil: İngilizce-ÜDS Sağlık Bilimleri: 90 (2006 Ekim).**