

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MEME KANSERLİ OLGULARDA MDR1 GENİ C3435T,
T1236C, G2677T, A2956G POLİMORFİZİMLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Fadime MUTLU İÇDUYGU

TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Hale ŞAMLI

2009- AFYON

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MEME KANSERLİ OLGULARDA MDR1 GENİ C3435T,
T1236C, G2677T, A2956G POLİMORFİZİMLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Fadime MUTLU İÇDUYGU

TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Hale ŞAMLI

Bu tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından BAP 08.TIP.13
Proje numarası ile desteklenmiştir

2009- AFYON

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Tıbbi Genetik Anabilim Dalı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.
Tez Savunması Tarihi: 17/07/2009

Prof. Dr. Necat İMİRZALIOĞLU
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Jüri Başkanı

Doç. Dr. Gökhan AKBULUT
Afyon Kocatepe Üniversitesi

Doç. Dr. Hale ŞAMLI
Uludağ Üniversitesi
Raportör

ÖNSÖZ

Bu çalışmada meme kanserli olgularda MDR1 geni C3435T, T1236C, G2276T, A2956G polimorfizminin araştırılması hedeflenmiştir. Çalışmalar Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü laboratuvarlarında Doç. Dr. Hale Şamlı gözetiminde gerçekleştirilmiştir. Tezimin planlanması, deneysel çalışmalarının yürütülmesi ve yazımı sırasındaki katkıları ile birlikte yüksek lisans eğitimim boyunca benden her konuda destek, ilgi ve hoşgörüsünü esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerinden her daim yaralandığım hocam Sayın Doç. Dr. Hale Şamlı'ya, ayrıca eğitimim ve çalışmalarım süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım ve desteğini hep yanımda hissettiğim hocam Prof. Dr. Necat İMİRZALIOĞLU'na,

Çalışma grubunun oluşturulması ve örneklerin teminindeki katkılarından dolayı Uludağ Üniversitesi Onkoloji Anabilim Dalı çalışanlarına ve özellikle Prof. Dr. Türkan EVRENSEL'e çok teşekkür ederim. Çalışmalarına sağladığı değerli katkılarında dolayı Elçi Medikal mensubu Derya SUCU'ya, istatistiksel çalışmaların yapılmasında sağladığı yardımlardan dolayı Yrd. Doç. Dr. Nurhan DOĞAN'a

Her konuda ve her zaman yardımlarını ve desteklerini gördüğüm ve bilgilerini benimle paylaşan çalışma arkadaşlarım Arş. Grv. Asuman ÖZGÖZ ve Arş. Grv. Kuyaş HEKİMLER'e

Desteği, ilgisi, sabrı, hoşgörüsü ve hep yanımda olduğu için değerli eşim Yrd. Doç. Dr. Mehmet Galip İÇDUYGU'ya,

Üzerimdeki tüm emekleri ve sevgileri için değerli aileme,

Çalışma Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Komisyonu (BAPK) tarafından sağlanan desteklerle yürütülmüş olup, sağladığı desteklerden dolayı Afyon Kocatepe Üniversitesi ve BAPK çalışanlarına,

SONSUZ TESEKKÜR EDERİM

Fadime MUTLU İÇDUYGU

Afyon – 2009

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
Kabul ve Onay	i
Önsöz	ii
İçindekiler	iii
Simgeler ve Kısaltmalar	v
Şekiller	vi
Çizelgeler	vii
ÖZET	ix
SUMMARY	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Kanser	1
1.2. Meme Kanseri	2
1.2.1. Meme Anatomisi	2
1.2.2. Meme Kanseri Tipleri	3
1.2.2.1. In Situ Meme Kanserleri	4
1.2.2.2. Invaziv Meme Kanserleri	4
1.2.3. Meme Kanserinin Evrelendirilmesi	4
1.2.4. Meme Kanseri Epidemiyolojisi ve Risk Faktörleri	6
1.2.4.1. Yaş	7
1.2.4.2. Üreme ile İlgili Faktörler	8
1.2.4.3. Menapoz	8
1.2.4.4. İlk Menstruasyon Yaşı	9
1.2.4.5. Çocuk Sahibi Olma	9
1.2.4.6. Emzirme	9
1.2.4.7. Yaşam Şekli	10
1.2.4.8. Alkol	10
1.2.4.9. Beslenme Şekli	10
1.2.4.10. Obezite	10
1.2.4.11. Fiziksel Aktivite	11
1.2.4.12. Sigara Kullanımı	11
1.2.4.13. Hormonal Durum	11
1.2.4.14. Oral Kontraseptif Kullanımı	11
1.2.4.15. Hormon Replasman Tedavisi	12
1.2.4.16. Klinik Faktörler	12
1.2.4.17. Genetik Faktörler	12
1.2.5. Meme Kanseri Tedavisi	22
1.2.5.1. Ameliyat	22
1.2.5.2. Radyoterapi	23
1.2.5.3. Kemoterapi	23
1.2.5.4. Hormon Tedavisi	24
1.2.5.5. Hedefe odaklı ilaçlarla tedavi	24
1.2.5.6. Klinik Denemeler	25

1.2.6. Çoklu İlaç Direnci, MDR1 geni ve Meme Kanseri	25
1.2.7. MDR1 geninin Meme kanseri ve diğer hastalıklara yatkınlığındaki rolü	27
1.2.8. Çoklu İlaç Direnci ve ABC Transportörleri	28
1.2.8.1. ABC Transportörlerinin Genel Yapıları	30
1.2.8.2. İnsan MDR-ABC Transportörlerinin Bileşimi ve Membran Topolojisi	31
1.2.8.3. ABC Transportörlerindeki İşlemin Moleküler Mekanizması	32
1.2.8.4. ABCB1 (P- glikoprotein, MDR1) İnsan MDR-ABC transportörü	36
1.2.8.5. MDR1 geni polimorfizmi ve çeşitli populasyonlardaki dağılımı	40
2. GEREÇ VE YÖNTEM	41
2.1. Deney Kurgusu	41
2.1.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Belirlenmesi ve Kanların Alınması	42
2.1.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Malzeme, Tamponlar ve Cihazlar	42
2.1.2.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu	42
2.1.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ve Enzim Kesimi	43
2.1.2.3. Agaroz Jel Elektroforezi	45
2.1.2.4. Kullanılan Solüsyon ve Tamponların Hazırlanması	45
2.2. Analiz Yöntemleri	46
2.2.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu	46
2.2.2. DNA Miktarını Spektrofotometre ile Ölçülmesi	47
2.2.3. Tüm Polimorfizmler İçin Uygulanan PCR Reaksiyonu	47
2.2.4. Amplifikasyonun Kontrolü İçin Agaroz Jel Elektroforezi	48
2.2.5. G2677T Polimorfizmi İçin Enzim Kesimi	49
2.2.6. C3435T Polimorfizmi İçin Enzim Kesimi	49
2.2.7. T1236C Polimorfizmi İçin Enzim Kesimi	50
2.2.8. A2956G Polimorfizmi İçin Enzim Kesimi	50
2.2.9. Kesim Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi ile Değerlendirilmesi	51
2.2.10. G2677T polimorfizminin değerlendirilmesi	52
2.2.11. C3435T polimorfizminin değerlendirilmesi	52
2.2.12. T1236C polimorfizminin değerlendirilmesi	52
2.2.13. A2956G polimorfizminin değerlendirilmesi	53
2.2.14. İstatiksel Analiz	53
3. BULGULAR	54
4. TARTIŞMA	69
5. SONUÇ	78
KAYNAKLAR	79

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
BMI	: Vücut Kütle İndeksi
HRT	: Hormon Replasman Tedavisi
BRCA1	: Meme Kanseri Tip 1 Yatkınlık Proteini
BRCA2	: Meme Kanseri Tip 2 Yatkınlık Proteini
ER	: Östrojen Reseptörü
PR	: Progesteron Reseptörü
HER	: İnsan Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü
CHEK2	: Kontrol Noktası 2
P53	: Protein 53
PTEN	: Fosfatidil İnositil 3-Oksidaz Homolog
PJS	: Peutz-Jeghers Sendromu
STK 11	: Serin treonin kinaz 11
TMD	: Trans Membran Domain

ŞEKİLLER DİZİNİ

1.1. WHO Raporlarına Göre 2005 Yılındaki Türkiye'deki Temel Ölüm Sebepleri ve Yüzdeleri Piezoelektrik seramiğin SEM görüntüleri	1
1.2. WHO Raporlarına Göre Türkiye'de Kadınlarda Kanser Ölümüne Yol Açan İlk 10 Kanser Türü ve Yeni Kanser Vaka Sayıları	2
1.3. Meme Anatomisi	3
1.4. Meme kanseri için yaş spesifik insidans ve mortalite	8
1.5. Meme kanseri insidansını etkileyen genetik faktörler	13
1.6. ABC Transportörlerinin Filogenetik Ağacı	29
1.7. ABC Transportörlerinin Membran Topolojisi	31
1.8. ATP/Mg ⁺² ile bağlı HlyB-NBD dimerinin kristal yapısı	33
1.9. İnsan MDR1/Pgp nin nükleotid bağlı uzay doldurulmuş modeli	36
1.10. MDR1' in snp ler tarafından etkilenmiş amino asitlerini gösteren hipotetik iki boyutlu insan P-gp/MDR1' i	38
2.1. Uygulanan Yöntemlerin Akış Şeması	41
3.1. C3435T polimorfizmi PCR ürünü jel görüntüleri	56
3.2. C3435T polimorfizmi için MboI enzim kesimi sonrası jel görüntüleri	56
3.3. T1236C polimorfizmi PCR Ürünü Jel Görüntüleri	56
3.4. T1236C polimorfizmi için HaeIII enzim kesimi sonrası Jel Görüntüleri	57
3.5. G2677T polimorfizmi PCR Ürünü Jel Görüntüleri	57
3.6. G2677T polimorfizmi için XbaI enzim kesimi sonrası Jel Görüntüleri	58
3.7. A2956G polimorfizmi PCR Ürünü Jel Görüntüleri	58
3.8. A2956G polimorfizmi için NcoI enzim kesimi sonrası Jel Görüntüleri	58

ÇİZELGELER DİZİNİ

1.1. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından önerilen meme kanserinin histolojik sınıflandırılması	3
1.2. The American Joint Committee' nin Kanser Evrelendirme Sisteminde Kullanılan Kriterler	5
1.3. Meme Kanseri Risk Faktörleri	7
1.4. Meme kanseri oluşumunda yer alan tümör supressör genler, kromozom lokalizasyonları ve fonksiyonları	15
1.5. Meme kanserinde rol alan proto-onkogenlerin fonksiyonları ve kromozomal lokalizasyonları	20
1.6. Meme kanserinde rol alan DNA tamir genlerinin fonksiyonları ve kromozomal lokalizasyonları	20
1.7. Meme kanserinde rol alan karsinojen metabolizma genlerinin fonksiyonları ve kromozomal lokalizasyonları	21
1.8. MDR1 genindeki polimorfizmler, yer aldıkları ekzonlar, mRNA pozisyonları, yabanıl ve varyant alelleri, amino asit pozisyonları, oluşturdukları amino asit değişimleri ve fonksiyonları	39
2.1. PCR içeriği ve miktarları	48
2.2. PCR Şartları	48
2.3. G2677T Polimorfizmi için reaksiyon mix hazırlamada kullanılanlar ve miktarları	49
2.4. C3435T Polimorfizmi İçin Reaksiyon Mix Hazırlamada Kullanılanlar ve Miktarları	50
2.5. T1236C Polimorfizmi İçin Reaksiyon Mix Hazırlamada Kullanılanlar ve Miktarları	50
2.6. A2956G Polimorfizmi için reaksiyon mix hazırlamada kullanılanlar ve miktarları	51
3.1. Çalışmaya dahil edilen hastaların yaşları ve hastalık başlangıç yaşları	54
3.2. Hasta ve Kontrol Gruplarında C3435T Polimorfizmi için Genotip Dağılımı ve Değerlendirilmesi	60
3.3. C3435T Polimorfizmi Allel Sıklığının Hasta ve Kontrol Gruplarında Karşılaştırılması.	60
3.4. Hastalık Başlangıç Yaşı Aralıklarına Göre C3435T Polimorfizminin Genotip Dağılımı ve Değerlendirmesi	60
3.5. Hastalık Başlangıç Yaşı Aralıklarına Göre C3435T Polimorfizminin Allel Sıklıkları	61
3.6. Hasta ve Kontrol Gruplarında T1236C Polimorfizmi için Genotip Dağılımı ve Değerlendirilmesi	61
3.7. T1236C Polimorfizmi Allel Sıklığının Hasta ve Kontrol Gruplarında Karşılaştırılması	62
3.8. Hastalık Başlangıç Yaşı Aralıklarına Göre T1236C Polimorfizminin Genotip Dağılımı ve Değerlendirmesi	62
3.9. Hastalık Başlangıç Yaşı Aralıklarına Göre T1236C Polimorfizminin Allel Sıklıkları Karşılaştırılması	63
3.10. Hasta ve Kontrol Gruplarında G2677T Polimorfizmi için Genotip	

Dağılımı ve Değerlendirilmesi	63
3.11. Hasta ve Kontrol Gruplarında G2677T Polimorfizmi için Genotip Dağılımı ve Değerlendirilmesi	64
3.12. Hastalık Başlangıç Yaşı Aralıklarına Göre G2677T Polimorfizminin Genotip Dağılımı ve Değerlendirilmesi	64
3.13. Hastalık Başlangıç Yaşı Aralıklarına Göre G2677T Polimorfizminin Allel Sıklıkları Karşılaştırılması	65
3.14. Hasta ve Kontrol Gruplarında A2956G Polimorfizmi için Genotip Dağılımı ve Değerlendirilmesi	65
3.15. Hasta Grupta C3435T ve G2677T Polimorfizmlerinin Birlikte Dağılımı	66
3.16. Kontrol Grubunda C3435T ve G2677T Polimorfizmlerinin Birlikte Dağılımı	66
3.17. Hasta grupta C3435T ve T1236C polimorfizminin birlikte değerlendirilmesi	66
3.18. Kontrol grupta C3435T ve T1236C polimorfizminin birlikte değerlendirilmesi	66
3.19. Hasta grupta G2677T ve T1236C polimorfizminin birlikte değerlendirilmesi	67
3.20. Kontrol Grubunda G2677T ve T1236C polimorfizminin birlikte değerlendirilmesi	67
3.21. Hasta ve Kontrol Grubunda G2677T, C3435T ve T1236C Polimorfizmlerinin Birlesik Genotip Değerlendirmesi	68
4.1. Farklı popülasyonlarda MDR1 geni C3435T polimorfizmi için CC, CT ve TT genotip sıklıkları	74
4.2. G2677T/A polimorfizmi için farklı popülasyonlardaki genotip sıklıkları	75
4.3. T1236C polimorfizmi için farklı popülasyonlardaki genotip sıklıkları	76

ÖZET

Kanser, vücuttaki hücrelerin değişmesine ve kontrolsüz şekilde üremelerine neden olan bir hastalıktır ve dünyadaki ölüm nedenleri arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Meme kanseri kadınlarda en sık rastlanan kanser türüdür. Meme kanseri tedavisindeki gelişmelere rağmen, bazı vakalarda meme kanserinin önemli tedavi seçeneklerinden biri olan kemoterapi başarısızlıkla sonuçlanmaktadır. Kanserde ve çeşitli hastalıklarda, tedavide kullanılan ilaçlara direnç gelişiminin yanı sıra bu hastalıklara yatkınlıkta da MDR1 geninin önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Buna ek olarak bu genin polimorfizmleri etnik gruplar arasında farklılık göstermekte ve etkileride yine bu gruplar arasında değişmektedir. Bu çalışmada MDR1 geni C3435T, T1236C, G2677T ve A2956G polimorfizmlerinin 35 meme kanserli ve 20 sağlıklı bireyden oluşan çalışma grubunda karşılaştırılarak, meme kanseri ile bu polimorfizmler arasında ilişki olup olmadığını ve bu polimorfizmlerin Türk popülasyonundaki sıklıklarını belirlemek amaçlanmıştır. Çalışmada öncelikle çalışma grubundaki bireylerden alınan kan örneklerinden DNA izolasyonu yapılmış ve bunu takiben PCR (Polymerase Chain Reaction)- RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) yöntemi kullanılarak hastaların bu polimorfizmler için genotipleri belirlenmiştir. İstatistiki yöntem olarak SSCP uygulanmış ve sonuçlar değerlendirilmiştir. Çalışma verilerine dayanarak hasta ve kontrol grubu arasında T1236C, G2677T ve A2956G polimorfizmleri açısından anlamlı bir fark gözlenmezken, C3435T polimorfizmi için hasta grupta TT genotip sıklığı anlamlı şekilde yüksek bulunmuş ve TT genotipinin meme kanserine yatkınlık oluşturabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: MDR1, Meme Kanseri, Polimorfizm,

SUMMARY

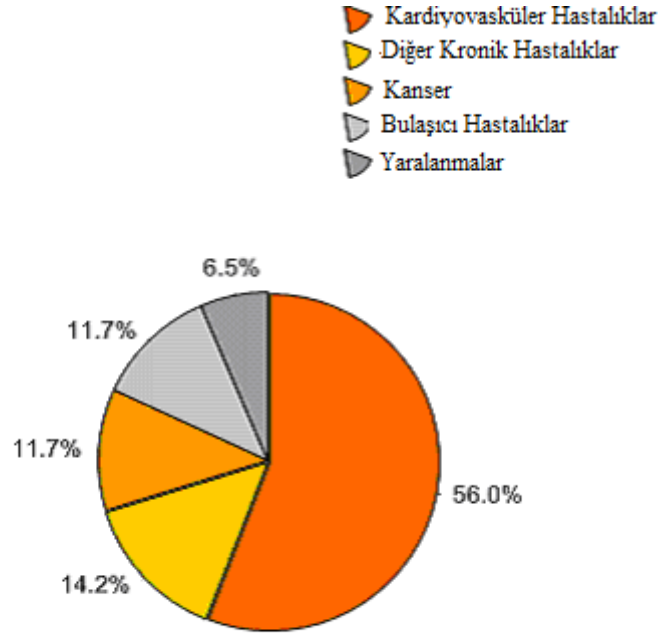
Cancer is a disease that causes changes and uncontrollable reproduction of cells in living bodies and it is on the top of the disease list that causes to death. Breast cancer is the most common cancer type for woman. Although some important steps were taken for breast cancer medication, chemotherapy which is the most important weapon for breast cancer treatment does not give successful results in some cases. It is considered that MDR1 gene has an important role on susceptibility to this disease and drug resistance developed against medicines used in cancer and some other diseases. In addition to that, polymorphisms of this gene shows differences among the ethnical groups and its effects changes among these groups. In this study, it is aimed to compare C3435T, T1236C, G2677T and A2956G polymorphism of MDR1 gene among a study group which consist of 35 patient with breast cancer and 20 healthy people and determine whether there is a relation between breast cancer and these polymorphisms. In addition, the incidence of these polymorphisms was determined for Turkish population. During the studies, DNA isolation was performed for collected blood samples and genotypes of study group for these polymorphisms were determined by using PCR (Polymerase Chain Reaction) - RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) method. SPSS program was utilized for statistical evaluation of experimental data. Results showed that there is no meaningful difference between patient and control group in terms of T1236C, G2677T and A2956G polymorphisms. But TT genotype incidence is significantly high for C3435T polymorphism in patient group and it can be responsible for susceptibility to breast cancer.

Keyword: MDR1, Breast Cancer, Polymorphism

1. GİRİŞ

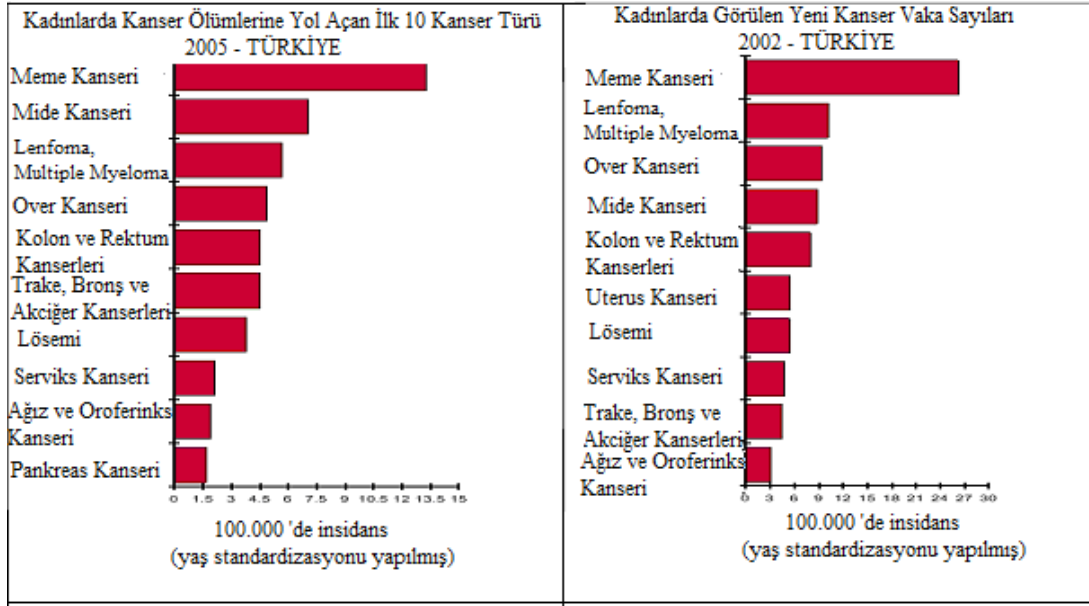
1.1. Kanser

Kanser vücuttaki hücrelerin değişmesine ve kontrolsüz şekilde üremelerine neden olan bir hastalıktır. Bir çok kanser türünde hücreler tümör adı verilen bir kitle oluşturur ve kanser tümörün köken aldığı vücut bölgesine göre isimlendirilir (1). Dünya sağlık örgütünün raporuna göre 2005 yılında Türkiye’ de kanserden yaklaşık 52 000 kişi ölmüştür ve bunların 37 000 i 70 yaş altındaki bireylerdir. Yine bu rapora göre kanser nedenli ölümlerde meme kanseri ilk sırada yer almaktadır. 2002 raporlarına göre de kadınlar arasında en sık görülen kanser türü meme kanseridir. Şekil 1.1 de WHO raporlarına göre 2005 yılında Türkiye’deki temel ölüm sebepleri ve yüzdeleri, şekil 1.2 de ise 2002-2005 yılları arasında kadınlarda kanser ölümlerine yol açan ilk 10 kanser türü ve yeni kanser vakaları verilmiştir (2).



Türkiye’deki Temel Ölüm Sebepleri 2005

Şekil 1.1. WHO Raporlarına Göre 2005 Yılındaki Türkiye’deki Temel Ölüm Sebepleri ve Yüzdeleri

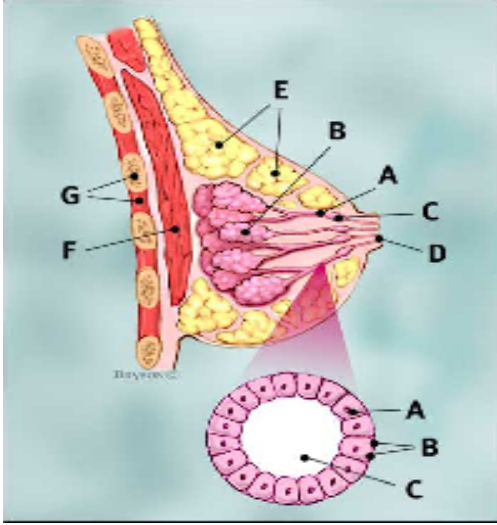


Şekil 1.2. WHO Raporlarına Göre Türkiye’de Kadınlarda Kanser Ölümüne Yol Açan İlk 10 Kanser Türü ve Yeni Kanser Vaka Sayıları

1.2. Meme Kanseri

1.2.1. Meme Anatomisi

Kadınlarda erişkin dönemde meme 4 temel yapıdan oluşmaktadır: lobüller ya da glandler olarak adlandırılan süt bezleri, duktlar olarak adlandırılan süt kanalları, yağ ve bağ doku. Lobüller birleşerek lob adı verilen daha büyük yapıları oluştururlar. Her bir memede meme başından memenin içine doğru yayılan ortalama 15-20 lob bulunmaktadır. Tüm meme kanserlerinin yarısı loblardan köken almaktadır. Meme lobları birbirlerine duktlarla bağlı olup duktlarda sütü meme ucuna taşımaktadır. Meme başında 6-10 adet geniş toplayıcı dukt yer almaktadır. (3) Şekil 1.3 de memenin anatomik yapısı görülmektedir (4).



Meme Profili:	Büyütme:
A Duktlar	A Normal dukt hücreleri
B Lobüller	B Temel membran
C Süt taşıyan duktaların genişlemiş bölümü	C lümen (duktların merkezi)
D Meme başı	
E Yağ	
F Pectoralis major kası	

Şekil 1.3. Meme Anatomisi

1.2.2. Meme Kanseri Tipleri

Memedeki kitlelelerin büyük bir kısmı benignidir (iyi huylu). Yani kanseröz olmayan, kontrolsüz şekilde büyüyüp yayılmayan ve hayatı tehdit etmeyen kitlelerdir. Meme kanseri lobüllerden (yaklaşık %20 oranında) ve duktardan (yaklaşık %80 oranında) yapılmış meme dokusunda başlar. Memenin geri kalan kısmı yağ, destek ve lenfatik dokudan yapılmıştır (5). Histolojik olarak meme kanserleri in situ ve invaziv kanserler olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. Günümüzde meme kanserinin histolojik sınıflandırılmasında en çok kullanılan Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından önerilen sınıflamadır (Tablo 1.1) (6, 7).

Tablo 1.1. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından önerilen meme kanserinin histolojik sınıflandırılması

In Situ Karsinom	
In Situ Duktal Karsinom	
In Situ Lobüller Karsinom	
Invaziv Karsinom	
Invaziv Duktal Karsinom	Invaziv Lobüller Karsinom
Tübüler Karsinom	Invaziv Kibriform Karsinom

Tablo 1.1. Devam: Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından önerilen meme kanserinin histolojik sınıflandırılması

Medüller Karsinom	Müsinöz Karsinom
Invaziv Papiller Karsinom	Invaziv Mikropapiller Karsinom
Apokrin Karsinom	Sekretuar (juvenil) Karsinom
Adenoid Kistik Karsinom	Metaplastik Karsinom
Nöroendokrin Karsinom	Enflamatuvar Karsinom

1.2.2.1. In Situ Meme Kanserleri

In situ meme kanserleri duktalarda (in situ duktal karsinoma) ya da lobüllerde (in situ lobüler karsinoma) hapsolmuştur. Bu aşamadaki kanserlerin hemen hemen hepsi iyileştirilebilir özelliindedir. Onkologların çoğu lobüler neoplazi olarak da bilinen in situ lobüler karsinomanın tam bir kanser olmadığına ama gelecekte artmış invaziv kanser gelişim riskinin bir göstergesi olduğuna inanırlar (5).

1.2.2.2. Invaziv Meme Kanserleri

Bir çok kanseröz meme tümörleri invaziv ya da işgalcidir. Bu kanserler lobüllerde ya da duktalarda başlayıp memenin diğer dokularına yayılan invaziv meme kanserleridir (5). Meme kanseri memenin dışına yayıldığında koltuk altındaki lenfatik nodüller, memenin diğer lenf nodları, kemik, karaciğer ve akciğer en sık görülen yayılım yerleridir (8).

1.2.3 Meme Kanserinin Evrelendirilmesi

Kanser için hastalığın hangi evrede olduğunun anlaşılmasını sağlayan iki ana sistem vardır. The American Joint Committee' nin kanser evrelendirme sisteminde:

- Tümör boyutu (T)
- Lenf nodu katılımı (N)
- Uzak metastaz varlığına (M)

dayanılarak sınıflandırma yapılır ve bu sistem klinikte yaygın şekilde kullanılır. T, N ve M belirlenerek hastalığın I, II, III ve IV aşamalarından hangisinde olduğu tayin edilir ki bu aşamalardan I en erken, IV ise en ileri aşamadır (9). Tablo 1.2 de The American Joint Committee' nin Kanser Evrelendirme Sisteminde Kullanılan Kriterler yer almaktadır (10).

Tablo 1.2. The American Joint Committee' nin Kanser Evrelendirme Sisteminde Kullanılan Kriterler

T kategori orijinal (primer) tümörü tanımlar.	
TX	Primer tümör değerlendirilememiştir
T0	Primer tümör varlığına dair kanıt gözlenememiştir.
Tis	Karsinoma in situ (komşu dokulara yayılmamış erken kanser aşaması)
T1-T4	Primer tümörün büyüklüğü ya da genişliği
N kategori kanserin komşu lenf nodlarına ulaşip ulaşmadığını tanımlar	
NX	Bölgesel lenf nodu değerlendirilememiştir
NO	Bölgesel lenf nodu katılımı yoktur (lenf nodlarında kanser bulunamamıştır)
N1-N3	Bölgesel lenf nodu katılımı mevcuttur (yayılım sayısı ya da genişliği)
M kategori uzak metastaz olup olmadığını tanımlar (kanserin vücudun diğer bölgelerine yayılımı).	
MX	Uzak metastaz değerlendirilememiştir
MO	Uzak netastaz yoktur (kanserin vücudun diğer bölgelerine yayılmamıştır)
M1	Uzak metastaz mevcuttur (kanserin vücudun diğer bölgelerine yayılmıştır)

Kanserin sınıflandırılmasında kullanılan ve SEER (Surveillance Epidemiology and End Results) sistemi olarak bilinen sınıflandırma sistemi ise daha çok halk sağlığı araştırmaları, planlamaları ve kanser kayıtlarının raporlandırılmasında kullanılır (11). Bu sisteme göre:

- Lokal tümörler meme ile sınırlı kanserlerdir.
- Bölgesel tümörler çevre dokulara ve lenf nodları etrafına yayılmıştır.
- Uzak mesafe kanserler uzak organlara yayılmıştır.

1.2.4. Meme Kanseri Epidemiyolojisi ve Risk Faktörleri

Meme kanseri kadınlar arasında görülen en yaygın kanser türüdür. Dünya genelinde her yıl teşhis edilen her dört yeni kanser vakasından birinin kadın meme kanseri olduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda 2002 yılında bildirilen yaklaşık 410.000 ölen vaka sayısı ile (toplam sayının %14 ü) global olarak kanser nedenli ölümler arasında meme kanseri ilk sırada yer almaktadır (12). Amerika’ da 2009 yılında yeni kadın meme kanseri vaka sayısı 192,370, meme kanseri nedenli ölüm sayısı ise 40,170 olarak bildirilmiştir (13). Meme kanseri riskini etkileyen en güçlü risk faktörleri yaş, aile öyküsü ve üreme ile ilgili faktörler olmakla beraber yaşam şekli ve hormonal faktörlerde meme kanseri ile bağlantılıdır. Tablo 1.3 de meme kanseri risk faktörleri yer almaktadır.

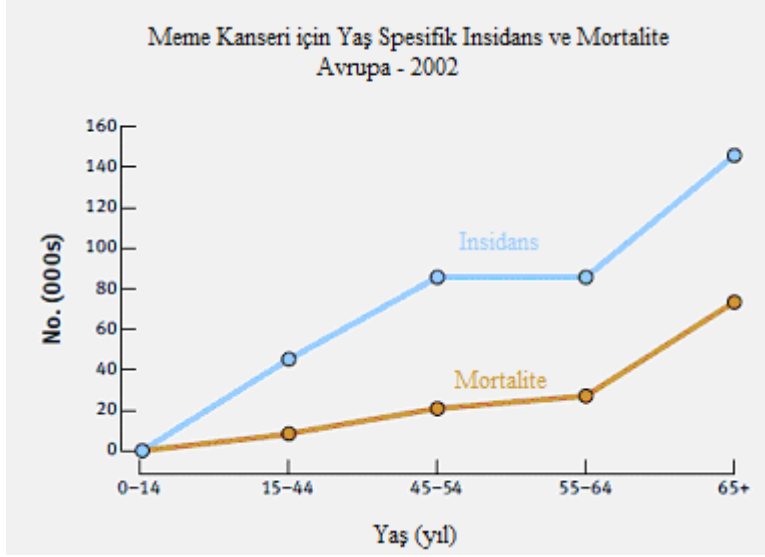
Tablo 1.3. Meme Kanseri Risk Faktörleri

Risk Faktörü	Bağıl Risk	Yüksek Risk Grubu
Yaş	>10	Yaşlılar
Üreme ile İlgili Faktörler		
İlk Mensturasyon Tarihi	3	11 yaşından önce olanlar
Menapoz Yaşı	2	54 yaşından sonra olanlar
İlk Hamilelik Yaşı	3	Hiç çocuk doğurmayan ya da ilk çocuk sahip olma yaşı 40 ve sonrası olanlar
Yaşam Şekli ile İlgili Faktörler		
Beslenme	1.5	Yüksek miktarda doymuş yağ alanlar
Postmenapozal Vücut Ağırlığı	2	Vücut kitle indeksi 35 ten büyük olanlar
Alkol	1.3	Fazla miktarda alanlar
Hormonal Durum		
Oral Kontraseptifler	1.24	Mevcut kullanımı olanlar
Hormon Replasman Terapi	1.35	10 yaş ve öncesinde tedavi alanlar
Radyasyon	3	10 yaş sonrası normal olmayan şekilde maruziyeti olanlar
Aile Öyküsü	≥ 2	Özellikle genç yaştaki birinci derece akrabalarda meme kanseri varlığı

1.2.4.1. Yaş

Meme kanseri gelişimi için yaş tek başına oldukça büyük bir risk faktörüdür. Meme kanseri insidansı, kanser tanısı konulduğunda kadınların yaklaşık %64'ünün

55 yaş üzerinde olduğunu gösteren yaşa bağlı belirgin bir eğri gösterir. (Şekil 1.4). (12, 14). Amerika’da meme kanseri gelişimi için tahmin edilen risk 60-79 yaş arası kadınlarda her 13 kadında 1, 40-59 yaş arası kadınlarda her 24 kadında 1 ve 39 yaş ve altı kadınlarda her 229 kadında 1 olarak belirlenmiştir (15).



Şekil 1.4 : Meme kanseri için yaş spesifik insidans ve mortalite

1.2.4.2. Üreme ile İlgili Faktörler

Meme kanseri riski ilk menstürasyonun erken yaşlarda olması, ilk hamileliğin ileri yaşlarda olması ve az sayıda çocuk sahibi olmakla artmaktadır (16).

1.2.4.3. Menapoz

Her ne kadar meme kanseri riski yaşın ilerlemesi ile birlikte artsa da menopozu takip eden yıllarda risk artış oranında belirgin bir düşme söz konusudur. Menapoz başlangıcındaki geciken her yıl meme kanseri riskinde %3 lük bir artış ile ilişkilendirilmektedir (17).

1.2.4.4. İlk Menstrasyon Yaşı

Menstrasyon başlangıcı için her bir yıllık gecikme hayatın daha sonraki dönemlerinde meme kanseri gelişim riskinde %5 lik bir azalma ile ilişkilendirilmektedir (18). Menstrasyon başlangıç yaşının 11 ya da daha erken olması meme kanseri için önemli bir risk faktörü olarak, 15 yaş ve sonrası olması önemli bir koruyucu faktör olarak düşünülmektedir (19).

1.2.4.5. Çocuk Sahibi Olma

En az bir çocuk sahibi olmak, doğumdan yaklaşık 5 yıl sonra pik yapan meme kanseri risk artışına neden olmakla beraber uzun dönemde meme kanseri gelişim riskinde düşme ile ilişkilendirilmektedir (20). Bu koruyucu etki sahip olunan çocuk sayısı ile birlikte artmaktadır. Her doğum meme kanseri bağıl riskini ortalama %7 oranında düşürmektedir (21). Meme kanseri riski ilk çocuk sahibi olma yaşı 20 yaşından önce olan kadınlarda 35 yaşından sonra olanlara oranla %30 daha düşük olduğu için doğum başına meme kanseri riskindeki düşüş genç yaşlarda ileri yaşlardakinden daha fazladır (22).

1.2.4.6. Emzirme

Emzirmenin meme kanseri riskini düşürmekteki rolüne uzun zamandan beri kuşku ile yaklaşılmaktadır. Bu konuda yapılan bir çalışma tam bir neticeye ulaşmamıştır (23). Buna rağmen oldukça geniş kapsamlı ortaklaşa yapılan bir çalışma her 12 aylık emzirmenin riski %14 oranında düşürdüğünü rapor etmiştir (21).

1.2.4.7. Yaşam Şekli

Beslenme şekli , obezite, alkol tüketimi ve tütün kullanımını içeren yaşam şekli ile ilişkili bazı faktörler meme kanseri riski ile ilişkilendirilmektedir (14).

1.2.4.8. Alkol

Alkol meme kanseri için beslenmeye dayalı en iyi tanımlanmış risk faktörüdür ve bir çok çalışmada bu görüşü desteklemektedir (24, 25). Bazı kohort çalışmaları alkol kullanıcılarında meme kanseri için yaklaşık % 30 luk bir risk artışı olduğunu ortaya koymuştur (26, 27).

1.2.4.9. Beslenme Şekli

Spesifik beslenme şekillerinin meme kanserine sebebiyet verip vermediği henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Et, süt ve süt ürünleri, yağ ve lifli gıdaların tüketimi ile meme kanseri arasında bağlantı olduğu düşünülmele birlikte eldeki verilerle kesin bir sonuca varılamamaktadır (14).

1.2.4.10. Obezite

Obezite postmenapozal dönemdeki kadınlarda artmış meme kanseri ile birliktelik göstermektedir (28, 29). Özellikle 18 yaşından sonra alınan fazla kilolar BMI unitesi başına % 2 oranında meme kanseri riskinde artışa neden olmaktadır (30, 31). Buna rağmen son zamanlarda postmenapozal dönemdeki kadınlarda yapılan sekiz prospektif çalışmanın zenginleştirilmiş analizleri ile meme kanseri riskinin artan BMI ile birlikte arttığı fakat artan riskin serum östrojen konsantrasyonunun (obez kadınlarda serum östrojen seviyesi yükselmeye meyillidir, çünkü yağ dokusunda bulunan bir enzim olan aromataz aracılığı ile androjenler östrojene dönüşür) ayarlanmasıyla büyük ölçüde azaltılabileceği sonucuna varılmıştır (32).

1.2.4.11. Fiziksel Aktivite

Menapoz sonrası başlayan fiziksel aktivitenin meme kanseri riskini azalttığı düşünülmektedir (33). Menapoza giriş yaşı, fiziksel aktivitenin tipi ve yoğunluğuna bağlı olmaksızın fiziksel olarak aktif kadınlarda meme kanseri riski %20-40 oranında azaldığı rapor edilmektedir (34).

1.2.4.12. Sigara Kullanımı

Önemli araştırmalara rağmen tütün kullanımı ile meme kanseri arasındaki ilişki tartışmaya açıktır. 53 epidemiyolojik çalışmanın bireysel datalarının yeniden ve birlikte analizi ile tütün kullanımının meme kanseri gelişim riski üzerine etkisi olmadığı ya da çok az etkisi olduğu sonucuna varılmıştır (25).

Son yapılan prospektif bir çalışmaya göre aktif tütün kullanıcılarında (tütün kullanımına erken yaşlarda başlayanlarda, ilk hamileliğinden en az 5 yıl önce başlayanlarda, çok uzun süre kullananlarda ve çok yoğun kullananlarda) meme kanseri riski kullanmayanlara oranla artmıştır (35).

1.2.4.13. Hormonal Durum

Oral kontraseptif kullanımı ya da hormon replasman tedavisi gibi nedenlerle ekzojen hormonlara maruz kalanlarda meme kanseri riskinde artış olduğu düşünülmektedir (36, 37).

1.2.4.14. Oral Kontraseptif Kullanımı

Oral kontraseptifler özellikle uzun dönem kullanıcılarında meme kanseri riskinde küçük bir artışa neden olabilmektedirler. Yayınlanmış 54 çalışmanın meta-analizi ile kombine kontraseptif hap kullanıcılarında (östrojen ve progesteron içeren) bağıl riskin 1,24 olduğu belirlenmiştir. Kullanımın bırakılmasından 10 yıl ve daha fazla geçmesinden sonra riskte anlamlı bir fark gözlenmemiştir (bağıl risk 1,01) (36).

1.2.4.15. Hormon Replasman Tedavisi

HRT meme kanseri literatüründe tartışmaya açık bir konudur. Women's Health Initiative (WHI)'in 2002 de yaptığı kontrollü randomize çalışmanın yayınlanmasından önce, gözlemsel çalışmaların toplu analizleri mevcut HRT kullanıcılarında ya da kullanmayı 1-4 yıl önce bırakanlarda meme kanseri riskinin kullanım yılı başına % 2,3 oranında arttığını ortaya koymuştur (17). The WHI'in çalışması kombine östrojen/progesteron HRT kullanımının 5,2 yılın üzerinde olanlarda meme kanseri riskinde yaklaşık %26 oranında artış olduğunu doğrulamıştır (38). Yine HRT kullanımı üzerine son zamanlarda yapılan çalışmalar progesteron içeren preparatların uzun dönem kullanımının sadece östrojen içerenlere oranla daha zararlı olduğunu rapor etmişlerdir (39, 40).

1.2.4.16. Klinik Faktörler

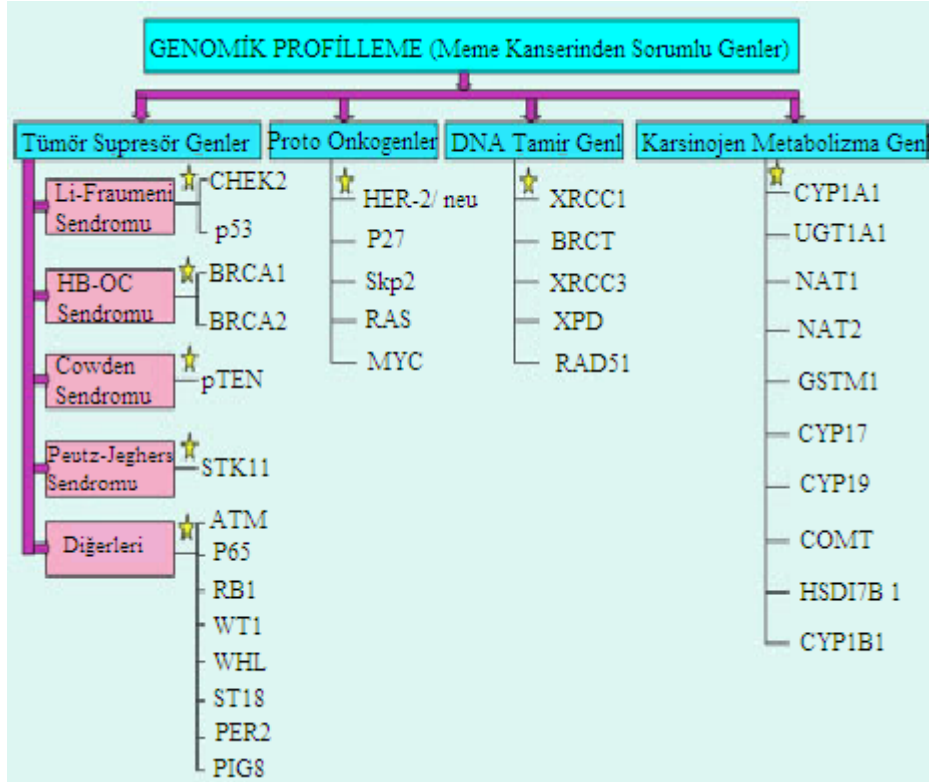
Meme dokusu dansitesinin yüksekliği (memedeki yağ dokusu ile ilişkili bir miktar glanduler dokunun mamografik göstergesi) meme kanseri gelişimi için güçlü bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir. Bir çok çalışmada yüksek meme dansitesine sahip kadınların meme kanseri riskinin düşük meme dansitesine sahip olanlara oranla 4-6 kat arttığı gözlenmiştir (41, 42).

1.2.4.17. Genetik Faktörler

Meme kanserinin tek bir hücrede başlayan bir seri genetik mutasyonel olaylardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Başlangıçtaki mutasyonel olay normal hücrelerin sayıca artmasını sağlayan hücresel proliferasyonun artmasına izin verir, bunu takip eden ek mutasyonel olaylar ise hiperplazi, displazi, karsinoma ve en nihayetinde metastatik hastalığın gelişmesine neden olur (43). Meme kanserinin yaklaşık %5-10'unun kalıtsal olduğu ve meme kanseri yatkınlık genleri olan BRCA1 ve BRCA2'nin kalıtsal meme kanserlerinin %21-40'ından sorumlu olduğu bilinmektedir. Geri kalan meme kanserleri sporadiktir ki bunların yaklaşık %70'i ER, PR ve /veya HER/neu pozitif olan metastatik meme tümörleridir (44). Kanser hücrelerinin

gelişimi ve davranışlarındaki geniş moleküler çeşitlilik genetik kompozisyona bağlıdır. Spesifik sinyal yollarındaki aktivite ve tümörlerin hücrel bileşenleri spesifik gen alt gruplarının ekspresyonuna karşılık gelen değişiklikleri yansıtmaktadır. Böyle gen gruplarının ekspresyonu tümör örnekleri arasında geniş ölçüde değişir ve genellikle mitotik indeksle iyi şekilde koreledir. İnterferon pathway I tarafından düzenlenen geniş bir gen grubunun ekspresyonu tümörler arasında önemli değişiklikler göstermektedir (45). Meme kanseri insidansını birbirinden bağımsız şekilde etkileyen bir çok farklı genetik faktör bulunmaktadır. (43) (Şekil 1.5). Bunlar dört kategoride sınıflandırılabilirler :

1. Tümör Supresör Genler
2. Proto-onkogenler
3. DNA Tamir Genleri
4. Karsinojen Metabolizma Genleri



Şekil 1.5. Meme kanseri insidansını etkileyen genetik faktörler

Meme Kanseri Oluşumunda Yer Alan Tümör Supressör Genler ve Oluşturdukları Sendromlar

Artmış meme kanseri riski ile bağlantılı bir çok gen vardır. En yaygın ailesel kanser sendromlarından bazıları meme kanseri riski ile ilişkilendirilmektedir (43).

Li Fraumeni Sendromu otozomal dominant olarak kalıtılır, yani kanser gelişim riskini artırmak için her hücrede genin değişmiş bir kopyasının olması yeterlidir. p53 ve CHECK2 genleri Li Fraumeni Sendromu ile ilişkilidir. Li Fraumeni Sendromu olan tüm ailelerin yarısından fazlasında p53 geninde kalıtılmış bir mutasyon bulunmaktadır. Meme kanserinde rol oynayan bir çok tümör supressör gen adayları rapor edilmiş fakat bunlardan sadece bir kaçısı bu statüde doğrulanmıştır. Meme kanserinde şimdiye kadar bulunan p53 tümör supressör genindeki değişimler en yaygın genetik değişikliklerdir ki, bu da hastalığın gelişiminde bu genin temel bir rol oynadığını akla getirmektedir. P53 hücre gelişiminde negatif düzenleyici rol oynar ve bu gendeki değişimler bu negatif düzenlemenin kaybına yol açarak hücre proliferasyonunun hızlanmasına neden olur (46).

DNA hasarına cevap için 22. kromozomun uzun kolunda lokalize olan CHECK2 proteini p53 geni tarafından üretilen tümör p53 proteininde içine alan bazı diğer proteinlerle etkileşime girer. Li Fraumeni Sendromu ile ilişkili p53'ün haricindeki gen kontrol noktası kinaz 2 (CHECK2) genidir ve aynı zamanda meme kanseri riskinin bayanlarda 2 ile 5 kat arasında, erkeklerde ise 10 kata kadar artmasından sorumludur (47).

Ailesel meme-over kanseri veya kalıtsal meme-over kanseri sendromu (HBOC) temelde BRCA gen ailesinden kaynaklanmaktadır. BRCA1 ve BRCA2 meme kanseri genetiğinde yer alan en gizemli iki gendir (48). BRCA1 ve BRCA2 genlerindeki kanser yatkınlık mutasyonları otozomal dominant olarak kalıtılmaktadır. Meme kanserinin çok rastlandığı ailelerin bağlantı analizlerine istinaden 1990'da 17q21 'de lokalize meme kanseri ile ilişkili bir gen rapor edilmiş ve BRCA1 olarak bilinen bu gen 1994'de temel olarak tanımlanmıştır (49). BRCA1 ve BRCA2 tümör supressör fonksiyonunun kaybı kalıtsal meme kanserine yatkınlığa (yaşam boyu risk yaklaşık %80) neden olmaktadır (50). BRCA1 mutasyonuna sahip bir kadının yaşam boyu meme kanseri geliştirme riski % 50-85

arasındadır (51). Meme kanseri oluşumunda yer alan tümör supressör genler, kromozom lokalizasyonları ve fonksiyonları Tablo 1.4 te verilmektedir (43).

Tablo 1.4. Meme kanseri oluşumunda yer alan tümör supressör genler, kromozom lokalizasyonları ve fonksiyonları

Sendrom	Kolonlanan Gen	Fonksiyonu	Kromozomal Lokasyonu
Li-Fraumeni sendromu	P53 CHEK2	Hücre döngü regülasyonu, apoptosis Hücre döngü kontrol noktası düzenleyici	17p13 22q12.1
HBOC sendromu	BRCA1 BRCA2	Genomik kararlılığın sağlanması, Rad51 proteini ile birlikte çift sarmaldaki kırıkların tamiri	17q21 13q12.3
Cowden sendromu	PTEN	Phosphoinositide 3-phosphatase protein tyrosine phosphatase	10q23.3
Peutz-Jeghers sendromu (PJS)	STK11	Vasküler endotelial büyüme faktör mekanizmasının düzenlenmesi (VEGF)	19p13.3
Diğerleri	ATM P65 RB1 WT1 VHL ST18 PER2 PIG8	DNA tamiri B-hücre 3 teki kappa light polypeptide gene enhancer 'ın nükleer faktörü Hücre döngüsünün negatif düzenleyicisi Dört-parmak motifi ve a proline/glutamine ce zengin DNA-binding domainler içeren transkripsiyon faktörlerini şifreler Elongin B, elongin C, ve cullin-2, içeren ve possesses ubiquitin ligase E3 aktivitesini sağlayan protein kompleksinin bir parçasını şifreler Zinc finger protein 387' yi şifreler Bu gruptaki genler circadian rhythms of locomotor aktivitesini, metabolizmasını ve davranışlarına ait bileşenleri şifreler Caspase 9 ve mitokondrial metodlarla apoptotik hücre ölümünü sağlayarak hücre büyümesini baskılar	11q22.3 11q13 13q14.2 13q14.2 3p26-p25 8q11.23 2q37.3 11q24

Cowden Sendromu yaşam boyu meme kanseri riskini %25-50, benign meme değişiklikleri riskini %65 artıran PTEN genindeki kalıtılan bir mutasyondan kaynaklanmaktadır. Bu gendeki mutasyon sporadik vakalarda yaygın değildir (52).

The Peutz-Jeghers syndrome (PJS) : PJS sendromlu ailelerde meme, uterus ve akciğer kanserinde artmış risk söz konusudur. PJS sendromlu kadınlarda yaşam boyu meme kanseri gelişim riski yaklaşık % 50 dir. PJS ile ilişkili gen 19p13.3 de lokalize

olan STK11 genidir (tümör supressör gen) ve bir serin kinazı kodlar (53). Ailesel vakaların yaklaşık %70 inde STK11 de mutasyonlar tespit edilmiştir. Sporadik meme kanserlerinde LKB1/STK11 in düşük ekspresyonu kuvvetli şekilde daha kısa hayatta kalma ile ilişkilidir (54).

Ataxia Telangiectasia Mutated (ATM) geni 11. kromozomda lokalizedir ve meme kanserinde içeren bir çok kanserde rol oynuyor olabileceği düşünülmektedir. ATM geninin normal rolü hücre bölünmesini kontrol etmektir. ATM protein kinazın çift zincir DNA kırıklarına cevapta önemli rolü vardır (55).

P65 proteini 65 kDa luk bir onkofetal proteindir ve farklı tipteki neoplazilerde eksprese edilen potansiyel non spesifik tümör markırı olduğu düşünülmektedir. P65 in değişmiş formu meme kanserine neden olabilen bazı hormonların artmış üretimi ile bağlantılıdır (56).

Retinoblastoma (Rb) geni 13q14 de lokalizedir ve bu bölgenin kaybının meme kanserinin ilerlemesinde payı olduğu düşünülmektedir (57, 58). Bu genden derive olan protein (105 kDa luk nükleer fosfoprotein) hücre döngüsü boyunca serin ve treonin rezidülerinden farklı şekillerde fosforile edilir (59). Hipofosforile Rb G1 fazında baskındır ve siklin bağımlı kinaz tarafından gerçekleştirilen fosforilasyon S fazına geçişe neden olur (60, 61). Kromozomal kayıpları içine alan yapısal anomaliler ve Rb geninin mutasyonu meme kanserlerinin yaklaşık %20-30 unda rapor edilmiştir. Rb ürününün önemli şekilde reseptör sayısının azalması (down regulation) aynı zamanda Rb promotörünün hipermetilasyonunun sonucu olarak da gerçekleşir. Aslında, bu Rb nin tümörlerde bir alelinin kaybı ve diğer alelinin hipermetilasyonu ile inaktive edilebileceğini göstermiştir. Watts ve arkadaşları Rb nin östrojenle düzenlenmesinin meme kanserinde önemli bir rolü olabileceğini düşünülmektedirler. Meme kanseri hücrelerinde östrojen tedavisi Rb nin fosforilasyonuna neden olmaktadır (tartışmalı şekilde antiöstrojenlerin de fosforilasyonu blokladığı düşünülmektedir (62, 63). Ayrıca sadece fosforilasyon değil aynı zamanda Rb mRNA sı ve protein seviyesinde östrojen bağımlı meme kanseri hücre hatlarında östrojen maruziyeti ile doğrudan artmaktadır (64). Ancak Rb eksikliği hormonal terapilerin anti-mitogenik etkisini etkin şekilde bastırmakta ve bu da tamoxifen terapisini takiben erken dönemde hastalığın nüks etmesi ile

ilişkilendirilmektedir. Bu yüzden, Rb yolundaki basamakların hem tümörojenik proliferasyon hem de terapotik cevap üzerinde güçlü etkisi mevcuttur (65).

Wilm's tümör 1 supressör geni (WT1) ilk olarak pluripotent embriyonik renal prekürsör hücreleri etkileyen bir böbrek malignensisi olan bazı sporadik Wilm's tümörü vakalarında mutasyona uğramış bir gen olarak tespit edilmiştir (66). WT1 in yüksek seviyesi meme kanseri ve lösemide zayıf prognozla ilişkilendirilmektedir (67, 68).

Von Hippel Lindau hastalığı (VHL) VHL geninin kalıtılmış bir mutasyonundan kaynaklanmaktadır ve vücudun çok sayıda kan damarları içeren bölgelerinde tümörlerin oluşumu ile karakterize bir hastalıktır. VHL tümör supressör geni VHL proteinini (pVHL) kodlar. Bu protein hücre döngüsünün ilerlemesini kontrol eder ve VHL hastalığı olanlarda mutanttır (69, 70). VHL anjiogenezin inhibe edilmesi sınırlandırılması ya da G0/yaşlanma döngüsündeki kontrollerle primer tümör oluşumunu kısıtlayabilir ama, bunun aksine metastazı da teşvik edebilir. Sourvinos ve arkadaşlarının çalışmaları VHL tümör supressör geninin meme karsinogenezinde yer almadığı şeklindeki yorumlara güçlü şekilde karşıdır (71).

Tümör oluşumunu baskılama geni 18 (suppression of tumorigenicity 18) (ST18, breast carcinoma, zinc-finger protein) 8q11 de yer almaktadır ve son zamanlarda meme kanseri tümör supressör geni olduğu belirlenmiştir. ST18 bir çinko parmaklı DNA bağlanma proteinini kodlar, potansiyel bir transkripsiyonel düzenleyici olduğu ve meme karsinomunda rolünün olabileceği düşünülmektedir (72).

PER2 nin tümör supresif etkisi hücre büyümesini inhibe etmesi, apoptozisin indüklemesi, koloni formasyonu ve gelişiminin engellemesi ile açıkça gösterilmiştir. PER2 nin kaybı bazı meme kanserleri ile ilişkilendirilmektedir. PER2 ekspresyonunun MCF-7meme kanseri hücrelerinde apoptozisi indüklediği gösterilmiştir. MCF-7 meme kanseri hücrelerinde PER2 ekspresyonu üzerine yapılan çalışmalar, PER2 ekspresyonu ile siklin D1 in ekspresyonunda önemli bir düşme olduğunu ve p53 seviyesinin yukarı yönde düzenlendiğini göstermektedir (73).

İnsan malignensilerinde PIG8 genindeki değişimler, p53 eksprese eden hücrelerde ekspresyonun arttığını göstermiştir ve PIG8 in meme karsinomunda p53

indüklemeli apoptoziste rol oynadığı için potansiyel bir tümör supressör rolü olduğu tahmin edilmektedir (74).

P70S6K P13/mTOR yolu tarafından düzenlenen bir serin/treonin kinazdır ve hücre döngüsünün gelişiminin ve hayatta kalma süresinin kontrolünde önemli rol oynamaktadır. Çalışmalar p70S6K nın fazla ekspresyonunun meme kanseri hastalarında agresif hastalık ve zayıf prognoza neden olabileceğini göstermiştir (75).

Muhtemelen şimdiye kadar bahsedilen bu genler dışında meme kanserine kalıtsal yatkınlık üzerine etkisi olan fakat henüz tespit edilemeyen başka genlerde bulunmaktadır (43).

Protoonkogenler

Proto-onkogenler hücre bölünmesini teşvik eden normal hücresel genler olmakla birlikte bu genlerin bir alelinin mutasyonu hücre proliferasyonunun artmasını aktive eder. Proto-onkogenlerin genetik dizilerindeki değişimler kontrolsüz hücre büyümesi ve nihayetinde tümör oluşumuna neden olur. Kontrolsüz hücre büyümesini indükleyen ve devamını sağlayan proto-onkogenlerin mutant formlarına onkogenler olarak adlandırılır (43).

İnsan epitelyal büyüme faktör reseptör-2 geni (HER-2/neu ya da erbB-2) proto-onkogenler arasında sayılır. Bu gen eğer fazla eksprese edilirse zayıf prognoza neden olur. 17q da lokalizedir ve 185 kDa luk transmembran tirozin kinaz büyüme faktör reseptörünü kodlar (76). HER2/neu proto-onkogeni meme kanserlerinin yaklaşık %20-30 unda amplifiye edilir ya da fazla eksprese edilir (77).

Meme bezlerindeki farklılaşmayı ve hücre büyümesini reseptörleri aracılığı ile stimüle eden östrojen , östrojen reseptörü (ER) ve progesteron reseptörü (PR) meme kanseri kliniğinde prognostik markır olarak kullanılmaktadır. Östrojen reseptörü negatif olan meme tümörlü hastalarda ER (-) prognoz östrojen reseptörü (+) olanlardan daha zayıftır (78). PR (-) olan meme tümörleri PR (+) olanlardan daha yüksek proliferasyon oranlarına sahiptir ve HER-2/neu ve EGFR gibi tümörojenik prognostik indikatörler için artmış ekspresyon göstermeye daha yatkındır (79). HJ Huang ve arkadaşları ER, PR ve tümör derecesinin HER-2/neu nin fazla ekspresyonu için bağımsız prediktörler olduklarını öne sürmektedirler. ER ve PR HER-2/neu ile negatif asosiyasyon gösterirken tümör derecesi pozitif asosiyasyon göstermektedir (80).

P27 ubiquitin-bağımlı proteolitik yolağın bir substratıdır. Agresif insan karsinomalarında yüksek p27 spesifik proteolitik aktivite gözlenmiştir. S-faz kinaz-ilişkili protein Skp2 cdk-inhibitor p27 nin ubiquitin aracılı parçalanması için gerekli bir proto-onkoproteindir. Skp2 fonksiyon ve ekspresyonundaki bir değişim meme tümörlerinin malignant bir davranış göstermesine ve meme kanseri için hastalıktan bağımsız zayıf yaşam süresine katkıda bulunabilir (81, 82). Aynı zamanda meme kanserinde p27 ekspresyonu ile skp2 fonksiyonu ve ekspresyonu ters orantılıdır. Uluslar arası meme kanseri çalışma grubu düşük p27 ve yüksek Skp2 seviyesinin diğer zayıf prognostik faktörlerle birliktelik gösterdiğini doğrulamış fakat tahmin amaçlı ya da prognostik bir değer olarak kullanılamayacağını ve bu yüzden nod negatif meme kanserler için p27 ve Skp2 nin rutin değerlendirmesinin yapılmasını önermemektedir (83).

Genetik ras mutasyonları meme kanserinde sık karşılaşılan mutasyonlar değildir fakat ras aracılığı ile sinyal iletimini sağlayan büyüme faktör reseptörlerinin fazla ekspresyonu ile patolojik olarak aktive ediliyor olabilirler (84). Her ne kadar ras ın mutant formlarının meme kanserinin çoğunluğu ile ilişkisi olmasa da fazlaca aktif olan ras ın meme kanseri gelişimini teşvik edebileceği yönündeki deneysel kanıtlar dikkate değer bulunmaktadır (85).

Non-transforme hücrelerde Myc aktive olur ve tümör hücrelerinde karsinogenetik prosese direkt olarak katkıda bulunan bir dizi hedef gene bağlanarak düzenlemeyi sağlayan Myc proteini fazla eksprese olur (86). Meme kanseri olgularının yaklaşık %50-100 ü artmış Myc protein seviyesine sahiptir (87). Deming ve arkadaşları meme kanseri biyopsilerinin meta analizini yaptıkları çalışmalarında c-myc gen amplifikasyonununun 3 kat ya da daha fazla arttığını rapor etmişlerdir (88). Meme kanserinde c-myc nin amplifikasyonu pozitif ya da negatif şekilde diğer genlerdeki değişimlerle korele olabilir (89). Meme kanserinde rol alan proto-onkogenlerin fonksiyonları ve kromozomal lokalizasyonları Tablo 1.5. te yer almaktadır (43).

Tablo 1.5. Meme kanserinde rol alan proto-onkogenlerin fonksiyonları ve kromozomal lokalizasyonları

Proto-onkogenler	Fonksiyonları	Kromozomal Lokasyonu
HER2	Downstream signaling pathway'nin tyrosine kinase aracılığı ile aktivasyonunu hızlandıran proteini şifreler	17q21.1
P27	Sentromerik otoantijen (27 kDa)	11q13.1
Skp2	protein p45 le ilgili CDK2/cyclin A	5p13
Ras	Hücre içi iletişim ağını kontrol eder	11p15.5
Myc	Hücre döngüsünün ilerlemesi, Apoptosis, Hücre transformasyonu	8q24.21

DNA Tamir Genleri

DNA tamiri bir hücrenin genomunu kodlayan DNA molekülündeki hasarları belirleyerek tamir etmesi şeklinde açıklanan bir prosestir. DNA tamir enzimlerinin bozulmuş fonksiyonu DNA tamir genleri polimorfizmlerinin her ne kadar tutarsız olsa da meme kanseri ile ilişkili olduğu için kısmen ailesel riski açıklayabilir. (43)

XRCC1 geni (X-ray repair cross-complementing gene) baz eksizyon tamir yolağında rol alır. Bu gen DNA hasarı onarımında yer alan ve döngü kontrol noktası fonksiyonu olan proteinlere has BRCA1 C-terminal domain (BRCT) e sahiptir. XRCC1, XRCC3, ve XPD (ERCC2) DNA tamirinde görev alırlar. Bu genlerdeki polimorfizmler artmış meme kanseri riski ile ilişkilendirilmektedir (90-93). Meme kanserinde rol alan DNA tamir genlerinin fonksiyonları ve kromozomal lokalizasyonları tablo 1.6. da yer almaktadır. (43)

Tablo 1.6. Meme kanserinde rol alan DNA tamir genlerinin fonksiyonları ve kromozomal lokalizasyonları

DNA tamir genleri	Fonksiyonları	Kromozomal Lokasyonları
XRCC1	Tek zincir kırıklarının tamiri	19q13.2
BRCT	Hücre döngüsü kontrol noktalarında görev alır	17q21
XRCC3	Homolog rekombinasyon ve DNA tamiri	14q32.3
XPD	DNA hasarlarının tamiri	19q13.3
RAD 51	Homolog rekombinasyon ve DNA tamiri	15q15.1

Karsinojen metabolizma genleri

Karsinojen metabolizma genleri etkin şekilde potansiyel karsinojenlerin aktive edilmesinde ya da hücre içine alınmasında ve etkilerinin giderilmesinde ya da hücre dışına atılmasında rol oynayabilir (43).

CYP1A1 ve UGT1A1 genleri fazI ve fazII ilaç metabolizma enzimlerini kodlarlar. Kadınlarda bu genlerin ekspresyonları meme kanseri insidansı ile ilişkilendirilmektedir. Bazı ksenobiyotikler bu iki enzimin substratlarıdır (94). NAT1, NAT2, GSTM1 ya da GSTT1 metabolik genlerinin varyantları karsinojenlerin detoksifikasyon kapasitesinde bireysel farklılıklara neden olabilir. Meme kanserinde rol alan karsinojen metabolizma genlerinin fonksiyonları ve kromozomal lokalizasyonları tablo 1.7. de yer almaktadır (43).

Tablo 1.7. Meme kanserinde rol alan karsinojen metabolizma genlerinin fonksiyonları ve kromozomal lokalizasyonları

Karsinojen-Metabolizma Genleri	Fonksiyonları	Kromozomal Lokasyonları
CYP1A1	İlaç metabolizmasında ve kolesterol, steroid, ve diğer lipidlerin sentezinde görev alan enzimlerin, sitokrom P450 süper ailesinin bir üyesini şifreler	15q22–q24
UGT1A1	Steroid, bilirubin, hormon ve ilaç gibi küçük lipofilik molekülleri suda çözünebilir metabolitler tarafında ekstrakte edilebilir hale dönüştürür.	2q37
NAT1	Arylamine N-acetyltransferase enziminin kodlar	8p23.1–p21.3
NAT2	N-acetyltransferase 2 enzimini kodlar	8p22
GSTM1	Glutathione S-transferase M1 enzimini kodlar	1p13.3
CYP17	İlaç metabolizmasında ve kolesterol, steroid, ve diğer lipidlerin sentezinde görev alan enzimlerin sitokrom P450 süper ailesinin bir üyesini şifreler	10q24.3
CYP19	İlaç metabolizmasında ve kolesterol, steroid, ve diğer lipidlerin sentezinde görev alan enzimlerin sitokrom P450 süper ailesinin bir üyesini şifreler	15q21.1
COMT	catechol-O-methyltransferase enzimini kodlar	22q11.21
HSD17B 1	hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 1 enzimini kodlar	17q11–q21
CYP1B1	İlaç metabolizmasında ve kolesterol, steroid, ve diğer lipidlerin sentezinde görev alan enzimlerin sitokrom P450 süper ailesinin bir üyesini şifreler	2p21

1.2.5. Meme Kanseri Tedavisi

Meme kanseri tedavisi kanserin tipine, kanserin hangi aşamada olduğuna, kanser hücrelerinin hormonlara duyarlı olup olmadığına, kişinin genel sağlık durumuna ve tercihine bağlı olarak değişmektedir. Meme kanseri için bir çok tedavi seçeneği bulunmaktadır (95). Bunlar arasında :

Ameliyat

- Lumpektomi
- Mastektomi
- Tek lenf nodu çıkarımı
- Birden fazla lenf nodu çıkarımı

Radyasyoterapi

Kemoterapi

Hormon terapisi

Hedefe odaklı ilaçlarla tedavi

Klinik Denemeler

1.2.5.1. Ameliyat

Lumpektomi

Memeden sadece kanserli dokunun ve etrafını kuşatan bir kısım sağlam dokunun çıkarılmasıdır. Lumpektomi daha çok etrafını kuşatan sağlam dokudan kolayca ayrılabilen küçük tümörlerin çıkarılmasında tercih edilmektedir (95).

Mastektomi

Basit mastektomi lobüllerin, duktaların, meme başının, meme ucunun, yağ dokunun ve derinin yani tüm meme dokusunun çıkarılmasıdır. Radikal mastektomi ise meme dokusuna ek olarak göğüs duvarı altındaki kasların koltuk altına kadar uzanan lenf nodları ile birlikte alınmasıdır (95).

Tek lenf nodu çıkarımı

Lenf nodlarına yayılmış olan meme kanseri vücudun diğer bölgelerine de yayılabilir. Ameliyat esnasında kanserli bölgeden lenf drenajı yapan lenf nodunun hangisi olduğu belirlenerek o lenf nodu çıkarılır ve meme kanseri hücrelerinin varlığı araştırılır. Eğer çıkarılan lenf nodunda kanser bulunmamışsa, diğer lenf nodlarında kanser bulunma olasılığı çok az olduğu için kalan lenf nodlarının çıkarılmaları gerekmemektedir (95).

Birden fazla lenf nodu çıkarımı

Eğer kanserli bölgeden lenf drenajı yapan lenf nodunda kansere rastlanmışsa, koltuk altındaki lenf nodlarında çıkarılması gerekmektedir. Kanserlin lenf nodlarına yayılıp yayılmadığının anlaşılması uygulanacak tedavi şeklinin belirlenmesi açısından önemlidir (95).

1.2.5.2. Radyoterapi

Radyoterapide kanser hücrelerini öldürmek için X-ray ler gibi yüksek enerjili ışınlar kullanılmaktadır. Radyoterapi vücuda dışarıdan ışın veren makinelerle veya vücuda radyoaktif materyalin verilmesiyle yapılabilmektedir (brakiterapi) (95).

Dışarıdan vücuda ışın verme şeklindeki radyoterapi erken aşama meme kanserlerinde lumpektomi sonrası uygulanmaktadır. Fakat bu terapi şekli daha büyük meme kanserlerinde mastektomi sonrasında da önerilmektedir (95).

1.2.5.3. Kemoterapi

Kemoterapide kanser hücrelerini öldürmek için ilaçlar kullanılmaktadır. Eğer kanserlin nüks etme olasılığı ya da vücudun diğer bölgelerine yayılma olasılığı yüksekse kanserlin nüks olasılığını azaltmak için ameliyat sonrası kemoterapi önerilmekte ve bu tedavi şekli adjuvan sistemik kemoterapi olarak bilinmektedir. Kemoterapi yine büyük tümörlerde ameliyat öncesi tümör boyutunu küçültmek için de uygulanmaktadır ve neoadjuvan kemoterapi olarak adlandırılmaktadır. Vücudun diğer bölgelerine de yayılmış olan kanserlerde ise kanseri kontrol altına almak ve semptomları azaltmak için kullanılmaktadır (95).

1.2.5.4. Hormon Terapisi

Hormon terapisi, daha doğru bir tabirle hormon bloklama terapisi genellikle hormonlara duyarlı meme kanserlerinin tedavisinde kullanılmaktadır. Bu şekilde tedavi edilen kanserler bazen östrojen ya da progesteron reseptörü pozitif kanserler olarak da adlandırılmaktadır. Hormon terapisi ameliyat sonrasında ya da diğer tedavi yöntemleri sonrasında nüks ihtimalini azaltmak için kullanılabilir. Kanser eğer vücudun diğer bölgelerine de yayılmışsa kanseri küçültmek ya da sınırlamak için yine hormon terapisi uygulanabilir. Hormon terapisinde farklı etki mekanizmasına sahip ilaçlar mevcuttur (95).

Kanser hücrelerine tutunan hormonları bloklayan ilaçlar

Bu grupta yer alan Tamoxifen seçici östrojen reseptör modulatörü (SERM) olarak adlandırılmaktadır. Bu grup ilaçlar kanser hücrelerini öldürmek ya da tümör gelişimini yavaşlatmak için kanser hücreleri üzerindeki östrojen reseptörlerine tutunacak olan vücuttaki mevcut östrojeni bloke ederler. Tamoxifen hem premenapozal hem de postmenapozal dönemdeki kadınlarda kullanılabilir (95).

Menapoz sonrası östrojen yapımını durduran ilaçlar

Aromataz inhibitörleri olarak da adlandırılan bu ilaçlar vücuttaki androjenleri östrojene dönüştüren aromataz enzimini bloke ederler. Bu ilaçlar sadece postmenapozal dönemdeki kadınlarda etkilidir. Anastrozole (arimidex), letrozole (femara) ve exemestane (aromasin) aromataz inhibitörleri olarak kullanılan etken maddelerdir (95).

Yumurtalıklardaki hormon yapımını ilaçlarla ya da ameliyatla durdurmak

Premenapozal dönemdeki kadınlarda, ameliyat ya da ilaçlar yumurtalıklardaki hormon yapımını durdurabilir (95).

1.2.5.5. Hedefe Odaklı İlaçlar

Hedefe odaklı ilaçlar kanser hücrelerindeki spesifik bir anormalliği hedeflerler. Bu tedavide kullanılan ilaçlar ve etki mekanizmaları aşağıda sıralanmıştır (95).

Trastuzumab (Herceptin)

Trastuzumab bazı meme kanseri hücrelerinin büyümesine ve hayatta kalmasına yardımcı olan HER2 adındaki bir proteini hedefler. Eğer meme kanseri hücrelerinde fazla miktarda HER2 yapımı varsa trastuzumab bu proteini bloklayıp kanser hücrelerinin ölmesine sağlayabilir (95).

Bevacizumab (Avastin)

Bevacizumab kanser hücreleri etrafında yeni kan damarlarının oluşumunu indükleyen sinyalleri durdurması için dizayn edilen bir ilaçtır. Tümöre oksijen ve besin getiren yeni kan damarlarının oluşumu engellendiğinde kanser hücreleri ölür. Bevacizumab vücudun diğer bölgelerine yayılan meme kanserleri için uygun bir tedavi seçeneği olarak görülmektedir (95).

Lapatinib (Tykerb)

Lapatinib de HER2 proteinini hedefler ve ileri aşamadaki kanserlerin tedavisi için uygundur. Lapatinib trastuzumab kullanıp kanseri ilerlemeye devam eden kadınlarda ikinci bir seçenek olarak görülmektedir (95).

1.2.5.6. Klinik Denemeler

Klinik denemelerde, kanser tedavisinde yeni ve umut vaaden ilaçlar kullanılmaktadır. Bu ilaçların kanser tedavisindeki kullanımları çok eskiye dayanmadığı için mevcut kullanılan ilaçlara üstünlükleri ya da üstün olmadıkları tam olarak kanıtlanmamıştır. Meme kanseri tedavisindeki klinik denemeler arasında varolan ilaçların yeni kombinasyonları, meme kanserinin nüks etmesini önlemek için kemik yapımını artırıcı ilaçların kullanımı ve memenin küçük bir bölgesine kısa süreli fakat yüksek dozda radyasyon uygulaması yer almaktadır. (95)

1.2.6. Çoklu İlaç Direnci, MDR1 Geni ve Meme Kanseri

Hücrelerin çeşitli molekülleri sitoplazma dışına taşıyan bir mekanizmaya sahip olduğu on yıllardan beri bilinmektedir. Yıllar önce farkedilen organik katyon transportörleri bu mekanizmaya örnek verilebilir (96). İlaç direnci ise deneysel olarak ilk kez fare lösemik hücrelerinin 4-amino-N10-metil-pteroyilglutamik asite

karşı direnç kazandığının anlaşılmasıyla 1950 yılında tanımlanmıştır (97). Bir tür ilaçla tedavi edilen hücrelerin yapısal ve fonksiyonel olarak bir biri ile ilişkisi olmayan diğer ilaçların sitotoksik etkilerine karşı direnç geliştirmesi şeklinde açıklanan çoklu ilaç direnci sıklıkla MDR1 geni ekspresyonu ile yani MDR1 geni ürünü p- glikoprotein ile ilişkilendirilmektedir (98). 170 kD luk bir glikoprotein olan P- glikoprotein varlığının bir çok hücre hattında ilaç direnç derecesi ile birliktelik gösterdiğinin anlaşılmasını takiben hücre membran transportları ya da pompaları ile ilaç direnç fenotipi arasındaki ilk spesifik birliktelik 1970 lerin ortalarında hemstür hücre hatlarında gösterilmiştir (99). Bunu takip eden yıllarda yine bir çok hücre çeşidinin colchicine, vinblastine, doxorubicin, vinca alkaloidlere ve kemoterapide kullanılan ilaçlar olan etoposide, paclitaxel ve diğer küçük moleküllere dirençli olduğu bulunmuştur (100).

P-glikoprotein ilk kez 1979 da saflaştırılmıştır (101). 1982 yılında dirençli hücre hatlarından elde edilen DNA nın dirençli olmayan hücelere aktarıldığında proteinin ekspresyonu ile uyumlu şekilde onlarında direnç geliştirdiğinin gösterilmesi ile p- glikoproteinin ilaç direncindeki rolü güçlü bir kanıtla desteklenmiştir (102). 1985 de ise p-glikoproteini kodlayan MDR-1 geni klonlanmıştır (103).

Meme kanserinde dahil olduğu bir çok kanser türünün kemoterapötik ilaçlara karşı geliştirdiği direnç, yani çoklu ilaç direnci çeşitli kemoterapilerin başarısızlıkla sonuçlanmasının temel nedenidir ve çeşitli kan kanserlerinin, meme, yumurtalık, akciğer ve gastrointestinal kanserlerin mevcut olduğu hastaları etkileyebilir. Tümörler genellikle bazılarının ilaca duyarlı bazılarının dirençli olduğu malignant hücrelerin karışık populasyonlarından oluşmaktadır. Kemoterapi ilaca duyarlı hücreleri öldürürken dirençli olanları öldüremez. Geriye kalan dirençli hücreler büyümeye devam edeceği için tedavi başarısızlıkla sonuçlanır.

Tedaviye direnç tümör hücre membranlarındaki kemoterapötik ilaçları hücre içinden dışarı atan moleküler transportların varlığı ile birliktelik göstermektedir. Bu mekanizma tümör hücrelerinin nükleus ya da sitoplazma içindeki moleküler proseslerin ya da ilaçların toksik etkilerinden korunmalarını sağlar. Kanserde kemorezistansa neden olan en bilinen transportlardan biri ABC transportları ailesine ait P – glikoproteindir (100).

1.2.7. MDR1 geninin Meme kanseri ve diğer hastalıklara yatkınlıktaki rolü

P-gp/MDR1 fonksiyonundaki bazı değişiklikler, çeşitli doku ve organların toksik maddelere ve ksenobiyotiklere maruziyetini artıracak için P-gp fonksiyonunun bozulmasına yol açan MDR1 genindeki değişikliklere sahip kişilerin bazı hastalıklara yatkınlığının artacağı düşünülmektedir (104). Bu konuda yapılan çalışmalardan birinde MDR1 geninin yaygın haplotipleri ve ülseratif kolit hastalığı arasında güçlü bir ilişki saptanmıştır. Buna ek olarak ülseratif kolitli kişilerde düşük intestinal P-gp ekspresyonuna yol açan MDR1 geni C3435T polimorfizmine oldukça sık rastlanmıştır (105).

Yine kan-beyin bariyerinde yer alan ve toksinleri elimine eden P-gp/MDR1 in fonksiyonundaki bozulmaların bazı nörolojik hastalıkların gelişmesine katkıda bulunabileceği tahmin edilmektedir. Nitekim yapılan çalışmalardan biri erken dönem parkinson hastalarında, geç dönem parkinson hastaları ve kontrol grubuna kıyasla C3435T polimorfizmi için TT genotipini taşıyan bireylerin sayısı oldukça yüksek bulunmuştur (106). Bu konudaki diğer bir çalışmada ise erken dönem Parkinson hastalarında sağlıklı bireylere oranla C3435T polimorfizmi için TT genotipi sıklığı oldukça yüksek bulunmuş ve TT genotipinin kan-beyin bariyerinde düşük P-gp ekspresyonuna yol açtığı, bunda toksik maddelere maruziyetin artmasıyla nöronlarda hasara neden olduğu sonucuna varılmıştır (107,108).

Pediyatrik grup Crohn's hastalığında MDR1 geni polimorfizmlerinin araştırıldığı bir çalışmada, MDR1 genindeki değişikliklerin çocuklarda Crohn' s hastalığının klinik fenotipini etkilediği sonucuna varılmıştır (109). Crohn's hastalığı üzerine yapılan başka bir çalışmada ise MDR1 geni C3435T polimorfizmi ile bu hastalığa yatkınlık arasında bir ilişki bulunamamıştır (105).

MDR1 geni C3435T polimorfizmi ile yetişkin glioma hastalığına yatkınlık arasında bağlantı olup olmadığının araştırıldığı bir çalışmada, bu polimorfizmin diğer tip gliomalarla ilişkisi olmadığı, fakat erkeklerdeki glioblastoma gelişimi ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (110).

Macar çocuklarda akut lenfoblastik lösemi (ALL) yatkınlığı ve MDR1 geni nadir haplotipleri arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada bireysel polimorfizmlerin ve sık rastlanan haplotiplerin ALL' ye yatkınlıkta etkisinin olmadığı, bununla birlikte

C3435T polimorfizminin T allelini de içine alan nadir bir haplotipin artmış ALL riski ile birliktelik gösterdiği rapor edilmiştir (111). Başka bir çalışmada ise yine bu polimorfizm için TT genotipini taşıyanların yüksek ALL riskine sahip oldukları, buna ilaveten CC genotipine sahip olanların prognozlarının daha kötü olduğu yönünde veriler elde edilmiştir (112).

Japon popülasyonunda yapılan bir çalışmada gastrik kanser riskinin C3435T polimorfizmi için TT genotipini taşıyanlarda daha düşük olduğu rapor edilmiştir (113).

Türk popülasyonunda yapılan meme kanserinde MDR1 geni C3435T polimorfizminin araştırıldığı bir çalışmada meme kanserli grupta C alleli sıklığının sağlıklı gruba oranla anlamlı şekilde düşük olduğu bulunmuş ve C allelinin meme kanserine karşı koruyucu etkisi olduğu düşünülmüştür (114). İran popülasyonunda yapılan bir çalışmada ise bu polimorfizm ile meme kanseri yatkınlığı arasında bir birliktelik saptanmamıştır (115).

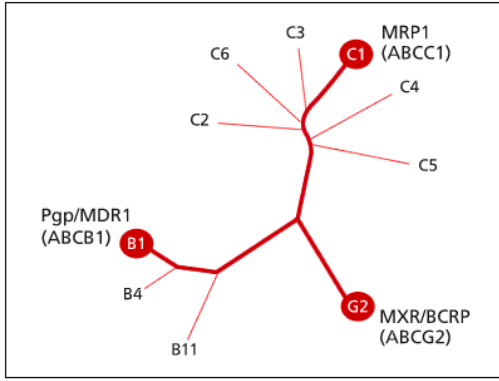
1.2.8. Çoklu İlaç Direnci ve ABC Transportırları

Çoklu ilaç direnci proteinleri, kanserde kemoterapiye direnç oluşturan zar proteinleri olarak keşfedilmiştir. 1970' lerin ortalarında klinik onkologlar bazı tümörlerin kalıtsal olarak tedaviye dirençli bir yapı gösterirken, diğerlerinin tedavi boyunca normalde oldukça etkili bazı kemoterapötik ajanlara karşı direnç geliştirdiğinin farkına varmışlardır. Buna ilaveten tümör tek bir kemoterapötik ajana direnç geliştirdiğinde birçok durumda bunun çoklu ilaç direnci ile sonuçlanmakta olduğu anlaşılmıştır. Son otuz yılda biyokimyagerler, moleküler biyologlar ve hücre biyologları bu fenomenin kanser hücrelerinden sitotoksik ajanları aktif olarak dışarı pompalayan plazma zar pompalarının ekspresyonundan kaynaklandığını açıkça ortaya koymuşlardır. Bu yüzden plazma zar pompalarının ekspresyonundaki artış ve/veya dirençli kanser hücrelerinin seçilimi bu zar transportırlarının birçok substratında içine alan çoklu ilaç direnci ile sonuçlanmaktadır.

Çoklu ilaç direnci proteinleri memelilerden prokaryotlara kadar tüm organizmalarda bulunan ATP binding cassette (ABC) ailesine aittir. ABC

transportırları büyük, zar bağımlı proteinler olup zarı kapsayan kısımlar ve sitoplazmik ATP bağlanma kısımları gibi karakteristik bölgelerden oluşmaktadır.

İnsanlarda üç ana tip çoklu ilaç direnci proteini bulunmaktadır. Bunlar arasında ABCB (ABCB1/MDR1/P-glikoprotein), ABCC (ABCC1/MRP1, ABCC2/MRP2, ABCC3–6, ve ABCC10–11), ve ABCG (ABCG2/MXR/BCRP) sayılabilir. ABC transportırlarının filogenetik ağacı Şekil 1.6’te gösterilmiştir (116).



Şekil 1.6. ABC Transportırlarının Filogenetik Ağacı (Kalın çizgilerin ucunda gösterilenler kanser çoklu ilaç direncinde rolü olduğu kesin olarak bilinen ABC transportırları)

Birçok deneysel ve klinik çalışma bu pompaların çok sayıda ilaç substratını tanıyabildiğini ortaya koymuştur. Bu pompaların tanıdığı substratlar, her ne kadar hidrofobik yapıda olsalar da bu pompalar amfipatik anyon ve katyonları da hücre dışına çıkarabilmektedirler. ABCC1 ve ABCG2 aileleri hem hidrofobik ilaçları hem de ilaç konjugatları gibi büyük anyonik bileşenleri tanıyıp pompalayabilirken, MDR1 tercihen hidrofobik molekülleri pompalayabilir. İşte bu üç ana MDR-ABC transportırlarının bir çok farklı substratı tanıyarak bunları hücre dışına çıkarması kanser hücrelerinde çoklu ilaç direnci gelişmesine neden olmaktadır. MDR-ABC transportırlarının fizyolojik rolleri canlı hücreleri ve organizmaları enerji kullanarak toksik ajanlara karşı korumaktır. Yani bu transportırlar kompleks hücre savunma mekanizmalarının parçalarıdır (117).

1.2.8.1. ABC Transportörlerinin Genel Yapıları

ABC proteinleri dizilenen her genomda bulunan ve çeşitli organizmalarda 30 ile 100 arasında üyesi olan geniş bir ailedir (117). ABC proteinleri adını 200-250 amino asit ünitesinden oluşan ve ATP ye bağlanarak onu hidrolize eden ABC bölgesinden almaktadır (118). ABC bölgesi (nükleotid bağlanma bölgesi (NBD) olarak da adlandırılır) NH₂ den COOH ucuna doğru çeşitli dizi motifleri muhafaza eder. Bunlar A loop, glisince zengin olan Walker A (P loop), glutamin barındıran Q loop, ABC ailesine spesifik ABC signature motifi (LSGGQ) (C loop şeklinde de adlandırılır), Walker B motifi, D-loop ve histidin barındıran His-switch (H-loop olarak da adlandırılır) dir. Walker A ve Walker B motifi tüm ATP kullanan proteinlerde bulunurken ABC signature motifi sadece ABC proteinlerinde bulunduğu için ABC proteinleri için ayırt edici motiftir (119, 120).

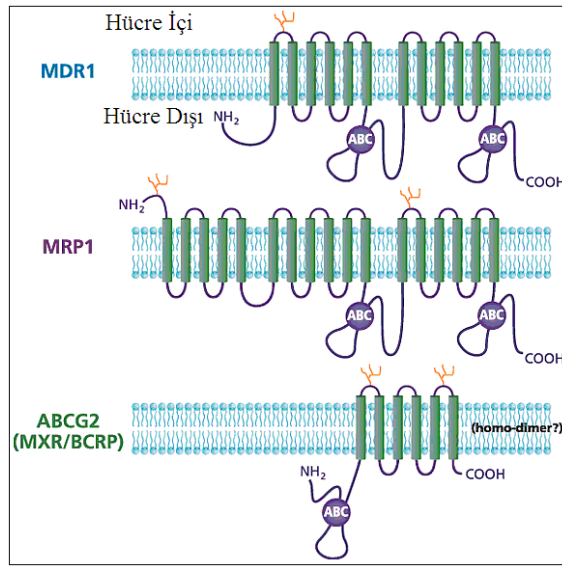
ABC proteinleri aynı zamanda transmembran domeynlerden (TMD) oluşur ki bu domeynler çoğu zaman membranın bir yanından diğer yanına uzanan 6 halkadan oluşmaktadır. Çoğu prokaryotlarda ABC ve transmembran domeynleri genelde aynı operon içindeki farklı genler tarafından kodlanırken, bazı durumlarda tek bir gen ABC ünitesine bitişik TMD içermektedir. Bakterilerde bu proteinler ya önemli komponentlerin hücre içine alınmasından, ya da bazı materyalleri hücreden veya membranın dış yüzüne gömülü lipitlerden dışarı çıkarılmasından sorumludurlar. Ökaryotlardaki aktif ABC transportörlerinin çoğu molekülleri sitozolden hücre dışına veya endoplazmik retikulum, peroksizom gibi hücre organellerine taşımaktadırlar (117).

Tüm MDR-ABC transportörlerinde taşınacak olan substratla ilişkiye giren bölgeler TMD' lerin içinde yer almaktadır. Taşınacak olan substratla kompleks reaksiyonun gerçekleşmesini sağlayabilmek için 12 adet membranı boydan boya geçen halka gerekmektedir. Kavramsal olarak hücre içine yüksek affinite gösteren ve buraya bağlı olan taşınacak substratlar düşük affinite gösterdikleri hücre dışına atılırlar. Buna rağmen son zamanlarda yapılan yapısal çalışmaların hepsi MDR-ABC proteinlerinin transmembran bölgesi içinde oldukça büyük ilaçları bağlayan bir paket olduğunu göstermiştir (121-124). Substrat bağlayan bölge olan TMD ve katalitik bölge olan ABC üniteleri arasında molekül içi sinyalleri taşıyan moleküler

bağlayıcılar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. MDR/ABC transporturlarının temel katalitik ve aktif transport özelliklerini ortaya koyan, bu molekülün ekspresyonunu ve bu işi yaparkenki izolasyon/yeniden yapılanma sistemlerini araştıran birçok çalışma bulunmaktadır. Buna rağmen tam bağlanma bölgesini ve transport prosesinin termodinamiğini ve enerjik değişimleri tahmin etmek oldukça zordur. Taşınan moleküllerin çoğu zarlar içinde korunan hidrofobik moleküllerdir. Bu substratlar hem sitoplazmada hemde ekstraselüler sıvı fazında minimum çözünürlüğe sahiptirler (117).

1.2.8.2. İnsan MDR-ABC Transporturlarının Bileşimi ve Membran Topolojisi

Genel görüşe göre tüm fonksiyonel aktif ABC transporturları minimum 2 ABC ünitesi ve 2 TMD ünitesi içermektedir. Genelde bu dört element tek polipeptid zincirinde mevcuttur ve MDR1/Pgp/ABCB1 proteinleri gibi ful transporturlar olarak adlandırılmaktadır. Buna karşın half transporturlar örneğin ABCG ailesinin üyeleri tek bir ABC ve tek bir TMD ünitesine sahiptir. Half transporturların fonksiyonel bir ABC transporturu oluşturmak için homodimerler ya da heterodimerler olarak şekillenmeleri gerekmektedir. ABC transporturlarının membran topolojisi Şekil 1.7 'da verilmiştir (116).



Şekil 1.7. ABC Transporturlarının Membran Topolojisi

İnsan genomu 48 bazı kaynaklara göre 49 ABC proteini kodlamaktadır. Bunların aminoasit dizisi bu proteinlerin A'dan G'ye 7 alt grupta toplanabileceğini ortaya koymuştur.

ABC (ATP-binding cassette) Taşıyıcı Süperailisi:

- ABCA-----
- ABCB-----ABCB1: MDR1
- ABCC-----MRP ailesi, CFTR
- ABCD
- ABCE
- ABCF
- ABCG-----ABCG2:BCRP

Bireysel üyeler karşılaştırıldığında ATP ünitelerinin dizi özgünlük/benzerliğinin TMD ünitelerinkinden daha yüksek olduğu saptanmıştır. Buna rağmen her bir alt ünite tipik ve farklı membran topolojileri ile karakterizedir.

Kısaca ABCA alt ailesinin üyeleri domeyn düzenlenmesi TMD1-ABC1-TMD2-ABC2 olan ful transportırlardır. Bu ailedeki TMD'ler bir çok glikolizasyon bölgesi oldukça büyük ilmekler içerir. ABCB alt ailesi domeyn düzeni TMD1-ABC1-TMD2-ABC2 şeklinde olan (MDR1/Pgp/ABCB'yi içeren) 3 ful transportırdan ve 7 TMD-ABC tip half transportırdan oluşur (117). ABCC alt ailesinin 12 üyesinin membran topolojisi bir NH2 terminal uzama bölgesi içerir (125). ABCD alt ailesi domeyn düzenlenmesi TMD-ABC şeklinde olan 4 half transportır içerir. ABCE ve ABCF ailesinin üyeleri membran transport prosesinde yer almazlar ve transmembran domeynleri yoktur. ABCG alt ailesindeki 5 half transportır ters domeyn düzenlenmesi (ABC-TMD) gösterir (117).

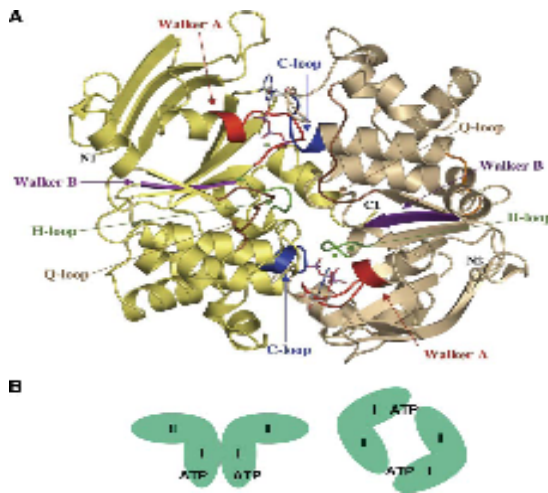
1.2.8.3. ABC Transportırlarındaki İşlemin Moleküler Mekanizması

ABC Katlanması

ABC transportırlarındaki işlemin moleküler mekanizmasının anlaşılması için sadece bakteri ABC transportırları üzerinde yapılan yüksek rezolüsyonlu çalışmalar

mevcuttur. Bu yüzden insan ABC proteinlerindeki transport mekanizması bu datalar ve modellere dayalı olarak tartışılmaktadır (117). Bazı bakteriyel ABC proteinlerinde ABC üniteleri ayrı proteinler olarak eksprese edilirler ve ilk yapısal bilgiler böyle sistemlerden elde edilmiştir. ABC ünitesinin ilk kez yapısal olarak yüksek rezolüsyonda aydınlatılması 1998’de RbsA ve HisP de yapılmıştır (126,127). HisP yapısı 1.5 Å’luk rezolüsyonla çözümlenmiştir ve tipik L şekilli (iki loblu) ABC katlanmasına sahip ABC monomerini temsil eder. O zamandan beri bir çok ABC ünitesinin yapısı aydınlatılmıştır (117).

Yapılan çalışmalardan elde edilen verilerle ABC domeyninin özel bir katlanmaya sahip olduğu anlaşılmaktadır. Çünkü sadece ABC-ATP az’larda ikincil yapısal elementlerin tüm karakteristikleri özel bir şekilde bir araya gelmektedir. ABC yapısı 3 alt domeyne bölünebilir. F1 – tip ATP binding kor, 5 adet paralel ve 1 tane antiparalel β levhasından oluşmaktadır. Bu alt domeyn walker A motifi (P-loop), Q loop (γ fosfat bağlayıcı), walker B motif ve his-switch içermektedir. ABC spesifik α - alt domeyn 4 α heliksinden oluşmakta ve aile spesifik ABC signature (LSGGQ) motifini içerirken antiparalel β alt domeyni riboz/adenin uyumu ve etkileşiminden sorumlu elementleri içermektedir. F1-tip kor ve ABC spesifik β alt domeyni geniş lobu oluştururken (L şekilli yapının uzun kolunu), α - alt domeyni daha küçük lobunu (L şekilli yapının kısa kolu) oluşturmaktadır. ATP/Mg⁺² ile bağlı HlyB-NBD dimerinin kristal yapısı Şekil. 1.8 ‘de verilmektedir (128).



Şekil 1.8. ATP/Mg⁺² ile bağlı HlyB-NBD dimerinin kristal yapısı

ABC ünitesinin yapısıyla ilgili ilk çalışmalar ABC ünitesinin 4 monomerden oluştuğunu ortaya koymaktadır ve bu çalışmalar ışığında bilim adamları iki ABC ünitesinin sırt sırta geldiği bir dimer yapısı önermiştir (127). Fakat bu yapı iki monomerin etkileşiminde enerji açısından sakıncalı bir durum oluşturmaktadır. Çünkü iki katalitik bölgenin yan yana geldiği durumda aktif bölgelerin fonksiyonlarının düzenlenmesi oldukça zordur. Fakat iki fonksiyonel ABC alt ünitesinin baş-kuyruk yerleşimi ile dimerize olduğu ve bu şekilde etkileştikleri model şimdiye kadar yapılan çalışmalarla oldukça ikna edici şekilde doğrulanmıştır. Bu yapıda iki ABC domeyni karşılıklı iki katalitik merkez oluşturacak şekilde birbirlerinin aktif bölgelerini tamamlamaktadırlar. Karşılıklı her bir katalitik bölgenin yerleşiminde bir alt ünitenin walker A dizisi ile karşı alt ünitenin ABC signature motifi yer almakta ve bu motiflerin direkt olarak ATP bağlanması ve hidrolizinde yer aldığı bilinmektedir. Bu yapı ilk olarak Rad50cd (bir nontransportırbakteriyel ABC-ATP az) da tanımlanmış ve daha sonra benzer yapı bakteriyel transportırların ABC yapısında da bulunmuştur (128-132).

ATP Bağlanması ve Hidrolizinin Moleküler Mekanizması

Çalışmalardan elde edilen veriler doğrultusunda modellenen ABC yapısına bağlı olarak ABC transportırları tarafından yapılan ATP hidrolizi için moleküler mekanizma öne sürülmüştür. Bu mekanizmaya göre bir ATP bağlanması boyunca 1. ABC ünitesindeki walker A segmentinin rezidüleri ATP'nin üç fosfat grubunu koordine ederken, adenin halkası komşu büyük hacimli rezidü ile etkileşime girmektedir. Aynı ABC ünitesinde Q loop ve walker B glutamat dönüşümlü olarak ATP hidrolizinde yer alan su molekülü ile etkileşime girerler. İkinci ABC ünitesinde de signature bölgesinin rezidüleri yine fosfat grupları ve ATP'nin riboz kısmının koordinasyonunda yer alırken, ek bir alanin katalitik su molekülü ile etkileşime girmektedir. ATP hidrolizi boyunca bazı minör intramoleküler değişimlerle birlikte pre hidrolitik durumdan Mg-ADP bağlı post hidrolitik duruma geçilmektedir. Q loop ve signature bölgesi büyük hareketler, yerdeğişmeler sergilemekte ve signature segmentinin (LSGGQ) hareketi ABC spesifik α alt domeynin rotasyonu ile sağlanmaktadır. Signature motif ve γ fosfat arasındaki etkileşim ise nükleotid sandviç dimerine ek işbirlikçi stabilizasyon sağlamaktadır. ATP'nin γ fosfat'la birlikte ABC ünitelerinden birinin walker A, walker B motifi ve Q loop'ları ile karşı

ABC ünitesinin LSGGQ signature motifi arasında birleşme sağlayan moleküler bir yapıştırıcı oldukları düşünülebilir. Hidrolizden sonra ADP walker A motifine bağlı kalırken ayrılan fosfat anyonları signature bölgesine bağlı kalmaktadır (133,134).

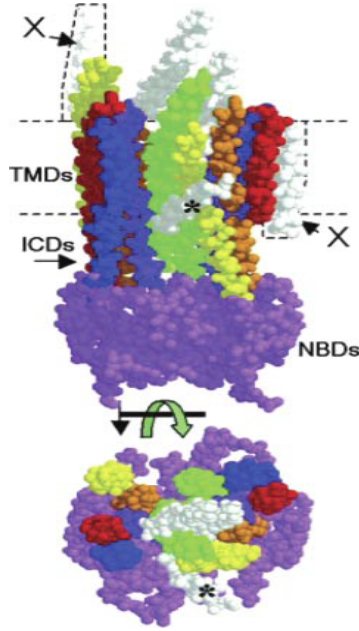
ABC Üniteleri ve TMD ler Arasındaki Haberleşme

Çeşitli ABC-ABC dimerlerinin yüksek rezolüsyonlu yapıları ABC ve TMD üniteleri arasındaki substrat bağlama bölgesinden katalitik bölgeye sinyal iletimini sağlayan etkileşimin yapısal temeli hakkındaki bazı soruları yanıtlayamamıştır. Aynı zamanda ATP bağlanması ve hidrolizinin membranlar arası transportta nasıl güç çıkışı olarak iş gördüğünde bilinmemektedir. Buna ek olarak ayrı ABC-ABC dimerlerinde moleküler etkileşimler TMD ünitelerinin varlığından etkilenmemektedir ve burdan ABC ünitelerinin ful transport komplekslerinde yer alan ABC ünitelerinden daha bağımsız olmaktan hoşlandıkları sonucuna varılabilir (117). Ökaryot ABC transportlarında sadece düşük rezolüsyonlu çalışmalar örneğin image analizi ile kombine edilmiş tek partiküllerin elektron mikroskopisi ya da MDR1/Pgp'nin kristallerinin iki boyutlu elektron mikroskopisi mevcuttur. Tipik olarak bu yapıların rezolüsyonu büyük konformasyonel değişikliklerin ve büyük yapısal elementlerin birbirine göre pozisyonunun saptanmasına izin veren 12-25 Å^o 'dur (135-137).

Tüm bu çalışmalar TMD'ler ve ABC üniteleri arasında köprü görevi gören intraselüler domeynlerin (ICD) varlığından bahsetmektedir. ICD ler TMD heliksleri ve ABC heliksleri arasındaki intraselüler ilmeklerin elementlerinden şekillenen oldukça yüklü, protein kinaz C tarafından birkaç bölgeden fosforillenmiş yapılardır ve üç alt domeynden oluşurlar (104,117).

İlk yayınlanan ful MsbA yapısında TM heliksleri intraselüler bölgeden geniş bir açığı olan koni şeklinde bir odacık oluşturur (138). Bunun aksine ADP, vanadate ve bir taşınmış ligand varlığında MsbA'nın yapısı periplazmik yönde açılma, intraselüler yüzde ise odacığın kapanmasına sebep olacak şekilde TMD'lerin rotasyon ve öteleme hareketi yaptığını göstermektedir (139). Ancak bu temel moleküler hareketlerin gerçekten moleküler mekanizmanın bir parçası mı olduğu yoksa kristalizasyon yan ürünlerimi olduğu halen cevaplanmamış bir sorudur. Bu şekil insan transportları için mevcut düşük rezolüsyonlu yapılar ve bakteriyel transportlardan elde edilen atomik rezolüsyon bilgileri temel alınarak

hazırlanmıştır. İnsan MDR1/Pgp nin nükleotid bağı uzay doldurulmuş modeli Şekil 1.9 'de verilmektedir(140).



Şekil 1.9. İnsan MDR1/Pgp nin nükleotid bağı uzay doldurulmuş modeli

1.2.8.4. ABCB1 (P- glikoprotein, MDR1) İnsan MDR-ABC transportörü

ABCB1 (MDR1) 11 transportörü olan ABCB alt ailesinin bir üyesidir. ABCB1 geni 7q21'de lokalizedir ve 1280 aminoasidi kodlayan 28 ekzondan oluşmaktadır. Total uzunluğu 209 kb olup, bir kor promotor bölge içermekte ve 4,5 kb lik bir mRNA sentezlemektedir (117, 141,142). Kodlayan bölge toplam genin % 5 inden azdır (143). Birincil dizinin analizi transmembran domeynlerin, ATP binding kasetlerinin ve proteinin iki homolog kısmını birbirine bağlayan bağlanma bölgesinin tekrar dizilerini ortaya koymuştur. Bu iki kısım yalancı çift katlanmalı simetrisi olan tek bir transportör halinde şekillenmiştir. Bu yapının transmembran heliksleri substrat yer değişimi için bir por, nükleotid binding kasetler ise ATP hidrolizini gerçekleştiren ve bağlanma enerjisini toplayan kısım olarak tanımlanmaktadır.

MDR1/Pgp' nin fonksiyonunu tanımlayan modeller biyokimyasal deneyler, mutagenез çalışmaları, düşük rezolüsyonlu yapı çalışmaları ve diğer çeşitli ABC transportörlerinin atomik seviyedeki yapı çalışmalarına dayanmaktadır (117).

MDR1/Pgp'nin membran topolojisi epitop insersiyon deneyleriyle izah edilmiştir ve bu deneyler proteinin her iki TMD ünitesinin altı transmembran heliksten oluştuğu orijinal topoloji modelini tamamen desteklemektedir (143-146). Proteinin iki yarısını bağlayan bağlama bölgesi iki alt ünitenin etkileşimini sağlamakta önemli görev üstlenmektedir. Molekülün genel şekli düşük rezolüsyonlu tekniklerle ortaya koyulmuştur. Kriyoelektron mikroskobu görüntüleri (yaklaşık 8 Å⁰ rezolüsyonda) transmembran domeynlerin membran düzleminde huni şeklinde bir oda olarak şekillendiğini düşündürmektedir (147). Oda ektraselüler kompartımana doğru açık intraselüler ucunda ise kapalı gibi görünmektedir. İki adet NBD ise iki katalitik bölge arasındaki etkileşimi sağlayacak şekilde birbirine oldukça yakın ve intraselüler olarak yerleşmiştir (147).

Mutagenез ve fotoişaretleme çalışmalarının bolluğuna rağmen transportörlerin yapısal temelindeki karışıklık hala aydınlatılamamıştır. Yoğun şekilde 5., 6., 11. ve 12. transmembran domeyndeki substrat spesifitesini etkileyen mutasyonlar tanımlanmıştır. Bu mutasyonlar aynı zamanda molekülün kalan kısımlarında da bulunabilir ki bu kısımlar ATP binding domeynin intraselüler ilmeklerini de içerebilir (117).

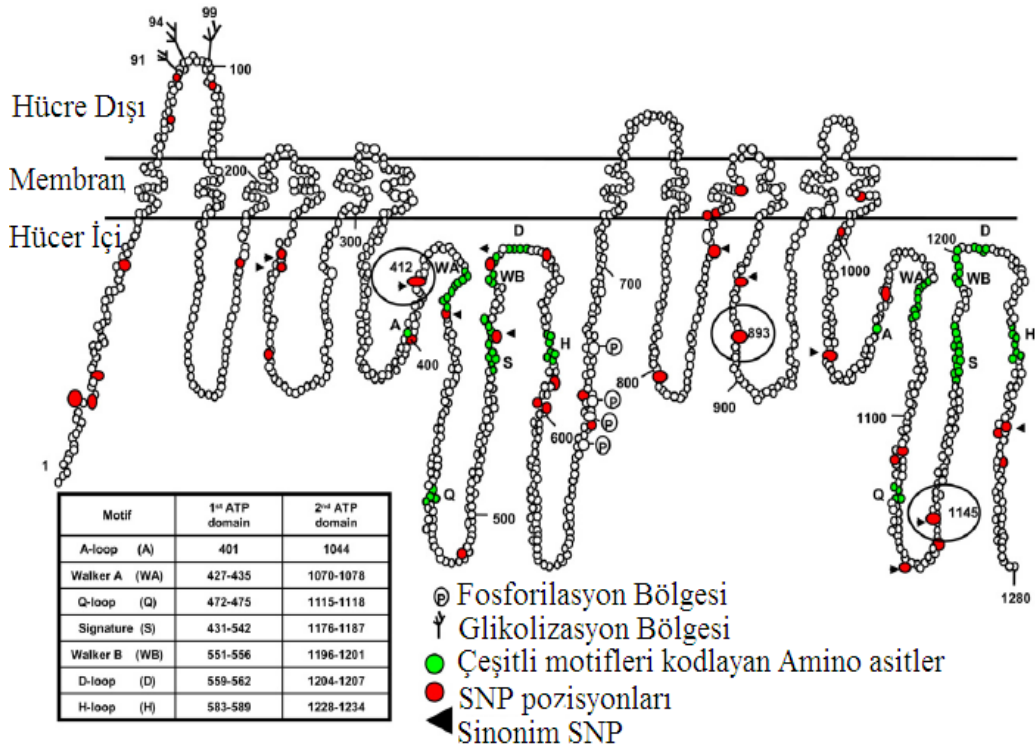
P- glikoproteinin Fizyolojik Rolü

P- glikoproteinin Fizyolojik Rolü her ne kadar tam olarak anlaşılmasa da potansiyel toksik maddelerin ve metabolitlerin intraselüler birikimini önlediği düşünülmektedir (148). İnsanlarda p- glikoprotein adrenal bezde yüksek seviyede, meme, mide, kolon, jejunum, rectum, karaciğer, böbrek ve plasentada orta seviyede testis, beyin, kemik iliği ve kalpte düşük seviyede eksprese edilmektedir. Beyinin kapiller endotelial hücrelerinde, testislerde ve plasentadaki ekspresyonu beyini, gonadları ve fetüsü toksik materyallere karşı korumak için bariyer görevi gördüğünü düşündürmektedir. P- glikoproteinin geniş doku dağılımı onun normal hücrel metabolizmada önemli bir rol üstlendiğine işaret etmektedir (149).

MDR1 geni polimorfizmleri ve P-glikoprotein

MDR1 geni polimorfik bir genidir ve farklı etnik gruplarda şimdiye kadar bir çok mutasyon saptanmıştır (104). MDR1 genindeki ilk sistematik tarama 2000 yılında yapılmıştır. Bu çalışmada MDR1 geninin 28 ekzonu ve promotörü taranmış, 15 SNP tespit edilmiş ve 26. ekzonda yer alan C3435T polimorfizmi ile MDR1 ekspresyon

seviyeleri ve p-gp fonksiyonu arasında ilişki saptanmıştır (150). MDR1 geninin sekanslanmasıyla 2006 yılında yapılan bir çalışmada bu polimorfizmlerden başka 2 tanesi ekzon bölgelerinde yer alan ve amino asit değişikliğine yol açmayan 9 polimorfizm daha tespit edilmiştir (151). Son raporlardan birinde ise MDR1 genine ait 105 den fazla varyant bildirilmiştir (152). MDR1 genindeki polimorfizmler, yer aldıkları ekzonlar, amino asit pozisyonları, oluşturdukları amino asit değişimleri ve fonksiyonları Tablo 1.8 de, MDR1' in snp ler tarafından etkilenmiş amino asitlerini gösteren hipotetik iki boyutlu insan P-gp/MDR1' i ise Şekil 1.10. da yer almaktadır (153).



Şekil 1.10. MDR1' in snp ler tarafından etkilenmiş amino asitlerini gösteren hipotetik iki boyutlu insan P-gp/MDR1' i .

Her daire bir amino asit rezidüsünü temsil etmektedir. Kırmızı daireler SNP ler tarafından etkilenen amino asitleri göstermektedir. Sinonim SNP ler tarafından etkilenen amino asit rezidüleri üçgen işaretli olarak gösterilmektedir. MDR1 haplotip snp leri (G412, A893 ve I1145) daire içine alınmıştır. ABC domeynlerindeki motifleri kodlayan bölgeler Şekil 1.10'da yer alan tabloda verilmektedir.

Tablo 1.8. MDR1 genindeki polimorfizmler, yer aldıkları ekzonlar, mRNA pozisyonları, yabanıl ve varyant alelleri, amino asit pozisyonları, oluşturdukları amino asit değişimleri ve fonksiyonları

Exon No	mRNA bölgesi	Yabanıl Alel	Varyant Alel	Amino asit pozisyonu	Amino asit residue	Amino asit değişimi	Fonksiyonu
1	-129	T	C	UT	UT	UT	Kodlamayan
2	43	A	G	15	Asn	Asp	Yanlış anlamlı
2	49	T	C	17	Phe	Leu	Yanlış anlamlı
2	61	A	G	21	Asn	Asp	Yanlış anlamlı
3	131	A	G	44	Asn	Ser	Yanlış anlamlı
4	240	C	A	80	Ala	Gly	Yanlış anlamlı
4	267	T	C	89	Met	Thr	Yanlış anlamlı
5	307	T	C	103	Phe	Leu	Yanlış anlamlı
7	548	A	G	183	Asn	Ser	Yanlış anlamlı
8	729	A	G	243	Glu	Glu	Sinonim
8	738	G	A	246	Ala	Ala	Sinonim
8	782	A	G	261	Ile	Val	Yanlış anlamlı
11	1199	G	A	400	Ser	Asn	Yanlış anlamlı
12	1236	C	T	412	Gly	Gly	Sinonim
12	1308	A	G	436	Thr	Thr	Sinonim
13	1474	C	T	492	Arg	Cys	Yanlış anlamlı
14	1617	C	T	539	Ile	Ile	Sinonim
14	1662	G	C	554	Leu	Leu	Sinonim
14	1696	G	A	566	Gly	Lys	Yanlış anlamlı
15	1777	C	T	593	Arg	Cys	Yanlış anlamlı
15	1794	C	T	598	Ile	Ile	Sinonim
15	1795	G	A	599	Aa	Thr	Yanlış anlamlı
16	1985	T	G	662	Leu	Arg	Yanlış anlamlı
16	2005	C	T	669	Arg	Cys	Yanlış anlamlı
20	2401	G	A	801	Val	Met	Yanlış anlamlı
21	2485	A	G	829	Ile	Val	Yanlış anlamlı
21	2505	A	G	835	Val	Val	Sinonim
21	2506	A	G	836	Ile	Val	Yanlış anlamlı
21	2587	A	G	849	Ile	Met	Yanlış anlamlı
21	2650	C	T	884	Leu	Leu	Sinonim
21	2677	G	T	893	Ala	Ser	Yanlış anlamlı
21	2677	G	A	893	Ala	Thr	Yanlış anlamlı
24	2956	A	G	986	Met	Val	Yanlış anlamlı
24	2995	G	A	999	Ala	Thr	Yanlış anlamlı
24	3084	G	A	1028	Pro	Pro	Sinonim
25	3151	C	G	1051	Pro	Ala	Yanlış anlamlı
26	3200	A	C	1107	Gln	Pro	Yanlış anlamlı
26	3322	T	C	1108	Trp	Arg	Yanlış anlamlı
26	3396	C	T	1132	Ala	Ala	Sinonim
26	3421	T	A	1141	Ser	Thr	Yanlış anlamlı
26	3435	C	T	1145	Ile	Ile	Sinonim
28	3747	C	G	1249	Gly	Gly	Sinonim
28	3751	G	A	1251	Val	Ile	Yanlış anlamlı
28	3767	C	A	1256	Thr	Lys	Yanlış anlamlı
28	4282	T	C	UT	UT	UT	Kodlamayan
28	4350	A	T	UT	UT	UT	Kodlamayan
28	4407	G	A	UT	UT	UT	Kodlamayan
28	4454	A	G	UT	UT	UT	Kodlamayan
28	4513	A	C	UT	UT	UT	Kodlamayan
28	4577	G	A	UT	UT	UT	Kodlamayan
28	4823	T	C	UT	UT	UT	Kodlamayan

1.2.8.5. MDR1 geni polimorfizleri ve çeşitli populasyonlardaki dağılımı

Farklı etnik gruplarda MDR1 geni polimorfizmlerinin allelik sıklıkları oldukça fazla çeşitlilik göstermektedir ve G2677T/A ve C3435T polimorfizmlerine diğer polimorfizmlere oranla daha sıklıkla rastlanmaktadır. G2677T polimorfizmi ile yapılan bir çalışmada T alleli sıklığının Afrika kökenli Amerika' lılarda %10, beyaz ırkta %42-46, Meksika kökenli Amerika' lılarda %40, Asya kökenli Amerika' lılarda %45 olduğu tespit edilmiştir (141).

Slovak populasyonunda yapılan bir çalışmada C1236T, G2677T, G2677A ve C3435T polimorfizm sıklıkları sırasıyla %42,5, %43,5, %2, %44,5 olarak bulunmuş ve en yaygın haplotipin %42,2 ile 1236C – 2677G – 3435C haplotipi olduğu rapor edilmiştir (154).

Çin populasyonu ve alt grupları arasında C3435T polimorfizm sıklıklarının araştırıldığı çalışmada C allel sıklığı Hong Kong' daki Han Çin' lilerde % 66,8, Lahu' da % 45,7, Wa' da ise % 54,5 sıklıkta bulunmuştur (155).

Sibiryalı' larda ve Asya populasyonunda yapılan bir çalışmada Rus' lar, Kuzey Kırgızistan' lılar ve Tuvinian' lar arasında MDR1 geni varyantlarının önemli farklılıklar gösterdiği rapor edilmektedir (156).

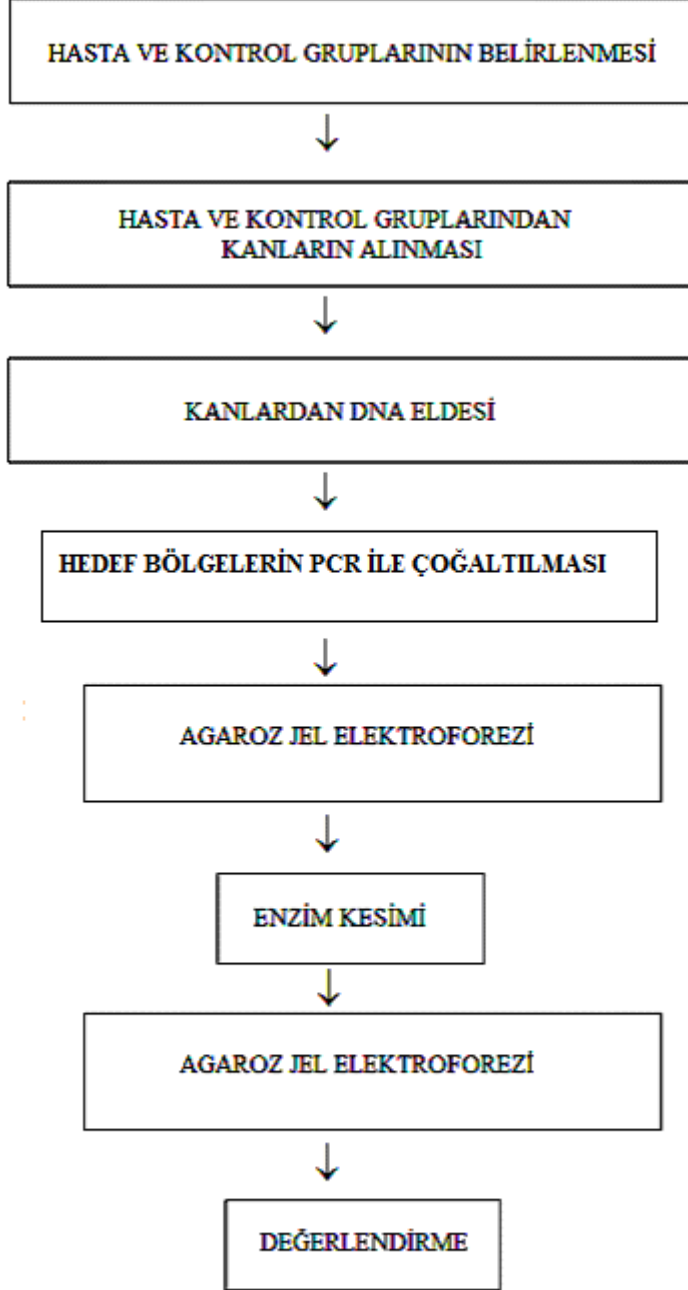
C3435T polimorfizmi allel sıklıklarının Batı Afrika' lılarda, beyaz ırkta, Afrika kökenli Amerika' lılarda ve Japon populasyonunda araştırıldığı çalışmada CC genotipi Batı Afrika' lılarda ve Afrika kökenli Amerika' lılarda diğer populasyonlara kıyasla sırasıyla % 83 ve % 62 oranlarıyla daha yüksek bulunmuştur (157).

Türk populasyonunda T1236C polimorfizm sıklıklarının araştırıldığı çalışmada C allel sıklığı % 45,5, T allel sıklığı ise % 54,5 olarak tespit edilmiş ve bu dağılımın Çek, Polonya, Portekiz, Rus, Malezya ve Japon populasyonu ile benzerlik gösterirken, Fransız, Alman, Çin ve Hint populasyonu ile farklılık gösterdiği rapor edilmiştir (158).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1 Deney Kurgusu

Tez çalışmaları sırasında uygulanan yöntemlerin akış şeması şekil 2.1.' deki gibidir.



Şekil 2.1. Uygulanan Yöntemlerin Akış Şeması

2.1.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Belirlenmesi ve Kanların Alınması

Bu çalışmaya Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Onkoloji Anabilim Dalında meme kanseri tanısı konulmuş 35 hasta ve ileri yaşlarda ortaya çıkabilen meme kanseri vakalarını ekarte etmek için 50 yaş üstü meme kanseri tanısı almamış 20 sağlıklı kadından oluşan kontrol grubu dahil edildi. Çalışma için uygun bulunan kişilere etik kurulca onay verilen hasta ve kontrol grubu için hazırlanmış onam formları verilerek çalışma anlatıldı ve gönüllü bireylerden çalışma grubu oluşturuldu. Hasta ve kontrol grubuna ait gerekli bilgiler daha önceden hazırlanmış olan formlara her hasta için poliklinik doktorları tarafından girilerek kayıt edildi ve hastalardan EDTA lı tüplere 4cc kan alındı. Alınan kanlar DNA izolasyonu yapılana kadar +4 C° de muhafaza edildi.

2.1.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Malzeme, Tamponlar ve Cihazlar

2.1.2.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu

1. 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

2. İzopropanol (Sigma)

3. Distile Su

4. Otomatik Pipet Seti (1-10 µl, 10-100 µl ve 200- 1000 Eppendorf)

5. Steril 10' luk, 200' lük ve 1000' lik uçlar

6. 1.5 ml'lik Eppendorf tüpleri (Axygen)

7. Eppendorf tüplükler

8. Santrifüj (Heraeus – Biofuge pico)
9. Vortex
10. Su Banyosu (Nüve BM402)Balık
11. Steril Eldiven
12. Spektrofotometre (NanoDrop ND-1000)
13. Hassas terazi (Sartorius)

2.1.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ve Enzim Kesimi

1. Thermal Cycler (Applied Biosystems 2720)
2. Taq DNA Polimeraz (Bio basic inc.) (100U / 20 µl)
3. dNTP (Deoksiribonükleotitler) (Bio basic inc.) (10mM)
4. 10 X Tsg Reaction Buffer (Bio basic inc.) (1,5 ml)
5. MgSO₄ (Bio basic inc.) (1,5 ml, 20 mM)
6. Steril Distile Su
7. Primer Dizileri ve Kullanılan Restriksiyon Enzimleri

G2677T polimorfizmi için primer dizileri ve restriksiyon enzimi:

Forward: 5' TACCCATCATTGCAATAGCAG 3' (Bio basic inc.) µg: 153.6
nmol: 24.1

Reverse: 5' TTTAGTTTGACTCACCTTTCTAG 3' (Bio basic inc.) µg: 168.7
nmol: 24.2

Restriksiyon enzimi: XbaI (Takara)

10 X M Buffer (Takara)

BSA (% 0.1 lik) (Takara)

C3435T polimorfizmi için primer dizileri ve restriksiyon enzimi:

Forward: 5' TTGATGGCAAAGAAATAAAGC 3' (Bio basic inc.) µg: 138
nmol: 21.2

Reverse: 5' CTTACATTAGGCAGTGACTION 3' (Bio basic inc.) µg: 158.6
nmol: 24.7

Restriksiyon enzimi: MboI (Takara)

10 X K Buffer (Takara)

T1236C polimorfizmi için primer dizileri ve restriksiyon enzimi:

Forward: 5' TTTTCTCACGGTCCTGGTAG 3' (Bio basic inc.) µg: 173.3
nmol: 27.1

Reverse: 5' CATCCCCTCTGTGGGGTCATA 3' (Bio basic inc.) µg: 169.5
nmol: 26.6

Restriksiyon enzimi: HaeIII (Takara)

10 X M Buffer (Takara)

A2956G polimorfizmi için primer dizileri ve restriksiyon enzimi:

Forward: 5' TTGTGTTTGTGCTTTCCAGAG 3' (Bio basic inc.) µg: 169.6
nmol: 26.3

Reverse: 5' TTAGGCCTTCCGTGCTGTAGC 3' (Bio basic inc.) µg: 172.3
nmol: 26.9

Restriksiyon enzimi: NcoI (Takara)

10 X K Buffer (Takara)

BSA (% 0.1 lik) (Takara)

8. 0.2 ml lik tüpler (Axygen)
9. 1.5 ml lik tüpler (Axygen)
10. Otomatik Pipet Seti (1-10 µl, 10-100 µl ve 200- 1000 Eppendorf)
11. Steril 10' luk, 200' lük ve 1000' lik uçlar
12. Steril Eldiven

2.1.2.3. Agaroz Jel Elektroforezi

1. Yatay Elektroforez (Bio Lab, Cleaver)
2. Güç Kaynağı (Biometra Power Pack P25T)
3. Transilluminator (Vilber Lourmat)
4. Fotoğraf Makinesi (Canon)
5. Mikrodalga Fırın (Kenwood)
6. 100 ml lik erlen
7. 500 ml lik mezür
8. 5X TBE Buffer (Applichem-Bio Chemica)
9. Distile Su
10. Agaroz (Bio basic inc.)
11. Nusieve GTG Agaroz
12. Etidyum Bromür (Bio basic inc.)
13. Brom Fenol Blue (6X) (Bio basic inc.)
14. Steril Eldiven
15. DNA Marker –H2 (50 bp- 1000 bp) (Bio basic inc.)

2.1.2.4. Kullanılan Solüsyon ve Tamponların Hazırlanması

Inhibitör removal Buffer

20 ml absolute eklenerek kullanıldı.

Wash Buffer

80 ml absolute eklenerek kullanıldı.

Proteinaz K

4,5 ml distile suda çözülerek kullanıldı.

G2677T polimorfizmi Forward Primer

241 µl steril distile su eklenerek kullandı.

G2677T polimorfizmi Reverse Primer

242 µl steril distile su eklenerek kullandı.

C3435T polimorfizmi Forward Primer

212 µl steril distile su eklenerek kullandı.

C3435T polimorfizmi Reverse Primer

247 µl steril distile su eklenerek kullandı.

T1236C polimorfizmi Forward Primer

271 µl steril distile su eklenerek kullandı.

T1236C polimorfizmi Reverse Primer

266 µl steril distile su eklenerek kullandı.

A2956G polimorfizmi Forward Primer

263 µl steril distile su eklenerek kullandı.

A2956G polimorfizmi Reverse Primer

269 µl steril distile su eklenerek kullandı.

0.5 X TBE

5 X TBE den 1 e 9 oranında distile su ile seyreltilerek kullanıldı.

2.2. Analiz Yöntemleri**2.2.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu**

İzolasyon Roche DNA izolasyon kiti ile gerçekleştirilmiştir.

1. 200 µl kan, 200 µl binding buffer ve 40 µl Proteinaz K 1,5 ml lik tüpe sırasıyla eklendi.
2. Karışım vortekslendikten sonra 3000 rpm de santrifüj edildi ve 70 C⁰ de 10 dakika inkübasyona bırakıldı.

3. 10 dakika sonunda karışımın üzerine 100µl isopropanol eklendikten sonra vortekslendi, 3000 rpm de santrifüj edildi ve filtrelili tüpe aktarıldı.
4. Filtrelili tüpe aktarılan karışım 8000 rpm de 1 dakika santrifüj edildi ve collection tüp (toplama tüpleri) değıştirildi.
5. Inhibitor removal bufferdan 500 µl ilave edildi ve 8000 rpm de 1 dakika santrifüj edildikten sonra collection tüp değıştirildi.
6. 500 µl wash buffer ilave edildi ve 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilip collection tüp değıştirildi.
7. Yıkama işlemleri yani 6. basamak tekrar edildi.
8. Yıkamalardan sonra boş collection tüple 13.000 rpm de 1 dakika santrifüj edildi.
9. Collection tüp atıldı ve filtrelili tüpler 1,5 ml lik tüplere yerleştirildikten sonra 150 µl elution buffer ilave edilerek 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.

2.2.2. DNA Miktarını Spektrofotometre ile Ölçülmesi

Spektrofotometrede 260 nm dalga boyunda optik dansitenin okunması DNA miktarını, 260 ve 280 nm dalga boyundaki okumalar ise DNA'nın saflığını verir. Bu oranın $\geq 1,8$ olması DNA'nın saflığını gösterir. Bu bulgulardan faydalanarak DNA örneklerinin saflığı kontrol edildi ve miktarları saptandı.

2.2.3. Tüm Polimorfizmler İçin Uygulanan PCR Reaksiyonu

Öncelikle pipetaj hatalarını ve kontaminasyon riskini minimuma indirmek için PCR mix (karışım) hazırlandı. Çalışılacak örneklere yetecek miktarda PCR mix 1,5 ml'lik steril tüpte hazırlanarak 0,2 ml'lik steril tüplere herbirine 45 µl olacak şekilde dağıtılıp üzerine 5 µl DNA ilave edildi. Bu şekilde hazırlanan tüpler amplifikasyon için uygun olan PCR şartlarına programlanmış olan thermal cycler'a yerleştirildi. PCR içeriği ve miktarları tablo 2.1. de, PCR şartları Tablo 2.2. de verilmiştir.

Tablo 2.1. PCR içeriği ve miktarları

Maddeler	Eklenen Miktarlar
Forward Primer	0.5 µl
Reverse Primer	0.5 µl
10 X Tsg Reaction Buffer	5 µl
MgSO ₄	5 µl
dNTP	0.5 µl
Taq DNA Polimeraz	0.5 µl
Steril distile su	33 µl
DNA	5 µl
Son Hacim	50 µl

Tablo 2.2. PCR Şartları

Basamak	Sıcaklık	Süre	Aşama
1	94 C ⁰	5 dakika	İlk denatürasyon
2	94 C ⁰	1 dakika	Denatürasyon
3	55 C ⁰	1 dakika	Bağlanma
4	72 C ⁰	1 dakika	Uzama
5	72 C ⁰	5 dakika	Son Uzama
Denatürasyon, primerlerin tutunması ve uzama asamaları (2., 3. ve 4.basamaklar) 30 defa tekrarlandı.			

2.2.4. Amplifikasyonun Kontrolü İçin Agaroz Jel Elektroföresi

PCR işlemi sonrası PCR ürünlerini kontrol etmek amacıyla 5 µl (100ng) PCR ürünü 5 µl yükleme tamponu ile karıştırılıp agaroz jelde elektroförese tabi tutuldu.

Jel hazırlamak için agarozdan 2 gr tartılarak 100ml 0.5X TBE tamponu ile karıştırıldı. Bu karışım mikrodalga fırında eritildi ve üzerine 10µg/ml konsantrasyonunda etidyum bromür solüsyonundan 6 µl ilave edildi. Hazırlanan jel, jel aparatına döküldükten sonra taraklar yerleştirildi ve jel sertleşinceye kadar beklendi. Jel sertleştikten sonra taraklar çıkarılarak tanka yerleştirildi ve üzerine 0.5XTBE tamponu eklendi. Beş mikrolitre PCR ürünü ve 5µl 6X yükleme solüsyonu ile karıştırılarak jele yüklendi. Kontrol olarak DNA marker (50 bp- 1000 bp) kullanıldı. PCR ürünleri 200 volt ta yaklaşık 3 cm açılana kadar yürütüldükten sonra transilluminator de sonuçlar değerlendirildi.

2.2.5. G2677T Polimorfizmi İçin Enzim Kesimi

Agaroz jelde yürütülerek değerlendirilmesi yapılan amplifikasyon ürünlerinin enzim kesimi için XbaI enzimi kullanıldı. 0,2 ml lik tüplere son hacim 20 µl olacak şekilde hazırlanan reaksiyon mix 37 C⁰ de 3 saat inkübe edildi. Reaksiyon mix için kullanılanlar ve miktarları tablo 2.3. te verilmiştir.

Tablo 2.3. G2677T Polimorfizmi için reaksiyon mix hazırlamada kullanılanlar ve miktarları

Maddeler	Miktarlar
XbaI	1 µl
10X M Buffer	2 µl
% 0,1 lik BSA	2 µl
Steril Distile Su	8 µl
PCR Ürünü	7 µl

2.2.6. C3435T Polimorfizmi İçin Enzim Kesimi

Agaroz jelde yürütülerek değerlendirilmesi yapılan amplifikasyon ürünlerinin enzim kesimi için MboI enzimi kullanıldı. Son hacim 20 µl olacak şekilde hazırlanan reaksiyon mix için kullanılanlar ve miktarları tablo 2.4. te verilmiştir.

Tablo 2.4. C3435T Polimorfizmi İçin Reaksiyon Mix Hazırlamada Kullanılanlar ve Miktarları

Maddeler	Miktarlar
MboI	1 µl
10X K Buffer	2 µl
Steril Distile Su	10 µl
PCR Ürünü	7 µl

2.2.7. T1236C Polimorfizmi İçin Enzim Kesimi

Agaroz jelde yürütülerek değerlendirilmesi yapılan amplifikasyon ürünlerinin enzim kesimi için HaeIII enzimi kullanıldı. 0,2 ml lik tüplere son hacim 20 µl olacak şekilde hazırlanan reaksiyon mix 37 C⁰ de 3 saat inkübe edildi. Reaksiyon mix için kullanılanlar ve miktarları tablo 2.5. te verilmiştir.

Tablo 2.5. T1236C Polimorfizmi İçin Reaksiyon Mix Hazırlamada Kullanılanlar ve Miktarları

Maddeler	Miktarlar
HaeIII	1 µl
10X M Buffer	2 µl
Steril Distile Su	10 µl
PCR Ürünü	7 µl

2.2.8. A2956G Polimorfizmi İçin Enzim Kesimi

Agaroz jelde yürütülerek değerlendirilmesi yapılan amplifikasyon ürünlerinin enzim kesimi için NcoI enzimi kullanıldı. 0,2 ml lik tüplere son hacim 20 µl olacak şekilde hazırlanan reaksiyon mix 37 C⁰ de 3 saat inkübe edildi. Reaksiyon mix için kullanılanlar ve miktarları tablo 2.6. da verilmiştir.

Tablo 2.6. A2956G Polimorfizmi için reaksiyon mix hazırlamada kullanılanlar ve miktarları

Maddeler	Miktarlar
NcoI	1 µl
10X K Buffer	2 µl
% 0,1 lik BSA	2 µl
Steril Distile Su	8 µl
PCR Ürünü	7 µl

2.2.9. Kesim Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi ile Değerlendirilmesi

Enzim kesimi işlemi sonrası kesim ürünlerinin değerlendirilmesi amacıyla 5 µl enzim kesim ürünü 5 µl yükleme tamponu ile karıştırılıp agaroz jelde elektroforeze tabi tutuldu. C3435T, G2677T ve A2956G polimorfizmleri için % 3 lük agaroz jel hazırlanırken, T1236C polimorfizmi için enzim kesimi sonrası jelde izlenecek bantların boyutları küçük ve birbirine yakın olduğu için daha iyi rezolüsyon elde etmek amacıyla %4 lük nusieve agaroz jel hazırlandı.

% 3 lük Agaroz Jel Hazırlamak İçin:

Agorozdan 3 gr tartılarak 100ml 0.5X TBE tamponu ile karıştırıldı. Bu karışım mikrodalga fırında eritildi ve üzerine 10µg/ml konsantrasyonunda etidyum bromür solüsyonundan 6 µl ilave edildi.

% 4 lük Agaroz Jel Hazırlamak İçin:

3 gr agaroz, 1 gr nusieve agaroz tartılarak 100ml 0.5X TBE tamponu ile karıştırıldı. Bu karışım mikrodalga fırında eritildi ve üzerine 10µg/ml konsantrasyonunda etidyum bromür solüsyonundan 6 µl ilave edildi.

Hazırlanan jel, jel aparatına döküldükten sonra taraklar yerleştirildi ve jel sertleşinceye kadar beklendi. Jel sertleştikten sonra taraklar çıkarılarak tanka yerleştirildi ve üzerine 0.5XTBE tamponu eklendi. 5 µl PCR ürünü ve 5µl 6X yükleme solüsyonu karıştırılarak jele yüklendi. Kontrol olarak DNA marker (50 bp-1000 bp) kullanıldı. PCR ürünleri 150 volt ta yaklaşık 3 cm açılana kadar yürütüldükten sonra transilluminator de sonuçlar değerlendirildi.

2.2.10. G2677T polimorfizminin degerlendirilmesi

G alleli XbaI kesim bölgesi içermediğinden kesime dirençlidir. T alleli ise kesim bölgesi içerdiğinden 107 baz çiftlik (bç) PCR ürünü 83 ve 24 baz çiftlik iki parçaya ayrılmaktadır.

Kesilmemiş PCR ürünü: 107 bç

T alleli kesim ürünü: 83+24 bç

G alleli kesim ürünü: 107 bç

Heterozigot : 107+(83)+24 bç

olarak bant paterni gözlenmektedir.

2.2.11. C3435T polimorfizminin degerlendirilmesi

T alleli MboI kesim bölgesi içermediğinden kesime dirençlidir. C alleli ise kesim bölgesi içerdiğinden 207 baz çiftlik (bç) PCR ürünü 145 ve 62 baz çiftlik iki parçaya ayrılmaktadır.

Kesilmemiş PCR ürünü: 207 bç

C alleli kesim ürünü: 62+145 bç

T alleli kesim ürünü: 207 bç

Heterozigot : 207+(145)+62 bç

olarak bant paterni gözlenmektedir.

2.2.12. T1236C polimorfizminin degerlendirilmesi

147 bç lik PCR ürünü içerisinde HaeIII enzimine ait 2 kesim bölgesi bulunmaktadır. 68. pozisyondaki kesim bölgesi polimorfizmi içermezken 33. pozisyondaki kesim bölgesi polimorfizmi içerdiği için T alleli mevcutsa 33. pozisyonda kesim olmayıp sadece 68. pozisyonda kesim olacağından 147 bç lik PCR ürünü 79 ve 68 bç lik parçalara ayrılır. C alleli mevcutsa hem 33. hem de 68. pozisyonda kesim gerçekleşeceği için 147 bç lik PCR ürünü 79, 33 ve 35 bç lik parçalara ayrılır.

Kesilmemiş PCR ürünü: 147 bç
T alleli kesim ürünü: 79+68 bç
C alleli kesim ürünü: 79+33+35 bç
Heterozigot : 79+68+35+33 bç
olarak bant paterni gözlenmektedir.

2.2.13. A2956G polimorfizminin değerlendirilmesi

G alleli NcoI kesim bölgesi içermediğinden kesime dirençlidir. A alleli ise kesim bölgesi içerdiğinden 171 baz çiftlik (bç) PCR ürünü 124 ve 47 baz çiftlik iki parçaya ayrılmaktadır.

Kesilmemiş PCR ürünü: 171 bç
A alleli kesim ürünü: 124+47 bç
G alleli kesim ürünü: 171 bç
Heterozigot : 171+(124)+83 bç
olarak bant paterni gözlenmektedir.

2.2.14. İstatiksel Analiz

Kontrol ve hasta grubunun genotip ve alel sıklıklarının karşılaştırılması SPSS versiyon 13.0 istatistik programında kıkare analizi ile hesaplanmıştır. Anlamlılık derecesi $p < 0,05$ olarak alınmıştır. Kullanılan yöntemler arasında Fisher's Exact Test, Pearson Chi-Square Test yer almaktadır.

3. BULGULAR

Bu çalışmada meme kanseri tanısı almış 35 hasta kadın ve 20 sağlıklı kadından oluşan çalışma grubuna ait kan örneklerinden, MDR1 genine ait C3435T, T1236C, G2677T, A2956G polimorfizmleri PCR-RFLP (Polimerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism) yöntemi kullanılarak çalışılmıştır.

Hasta grubun yaş ortalaması $48,6 \pm 13,1$, kontrol grubun yaş ortalaması ise $62,45 \pm 5,5$ olarak bulundu. Hasta grupta meme kanseri başlangıç yaşı 19 ve 77 yaşlar arasındaydı. Hastaların yaşları ve hastalık başlangıç yaşları tablo 3.1. de verilmiştir.

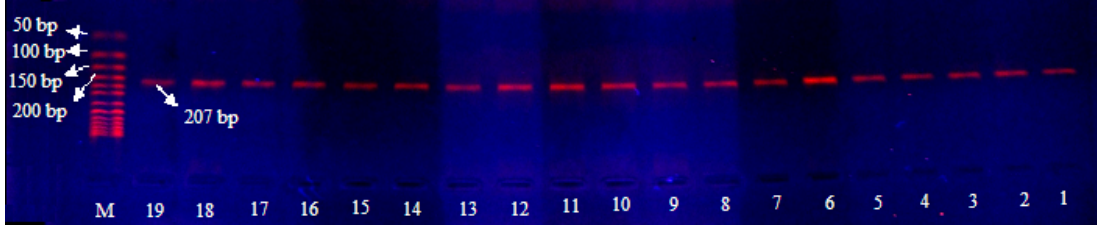
Tablo 3.1. Çalışmaya dahil edilen hastaların yaşları ve hastalık başlangıç yaşları

Olgu No	Yaş	Hastalık Başlangıç yaşı
1	62	57
2	62	55
3	52	50
4	55	54
5	53	52
6	60	59
7	51	51
8	33	32
9	47	40
10	59	51
11	64	54
12	51	47
13	34	32
14	56	46
15	57	50
16	46	44
17	37	37

Tablo 3.1. Devam Çalışmaya dahil edilen hastaların yaşları ve hastalık başlangıç yaşları

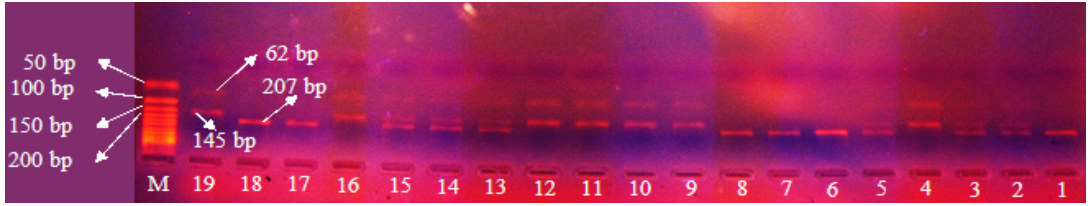
18	38	35
19	40	39
20	52	49
21	37	37
22	57	57
23	53	52
24	37	34
25	38	35
26	39	39
27	60	55
28	40	32
29	36	29
30	78	73
31	41	41
32	81	77
33	19	19
34	29	29
35	46	46

Çalışmada her polimorfizm için ayrı PCR reaksiyonları gerçekleştirilmiş ve PCR reaksiyonu sonrası C3435T polimorfizmi için MboI, T1236C polimorfizmi için HaeIII, G2677T polimorfizmi için XbaI ve A2956G polimorfizmi için NcoI restriksiyon enzimleri kullanılarak PCR-RFLP uygulandı. Çalışmaya ait PCR ürünleri ve enzim kesim ürünlerine ait jel görüntüleri Şekil 3.1-8 de verilmektedir.



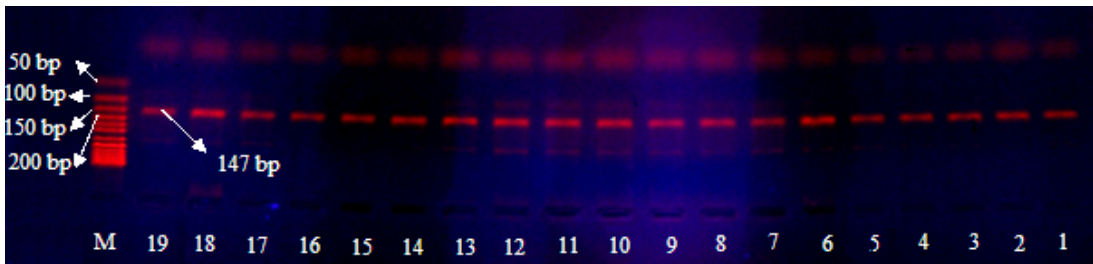
Şekil 3.1. C3435T polimorfizmi PCR ürünü jel görüntüleri.

PCR sonrası oluşan ürün 207 bç büyüklüğündedir.



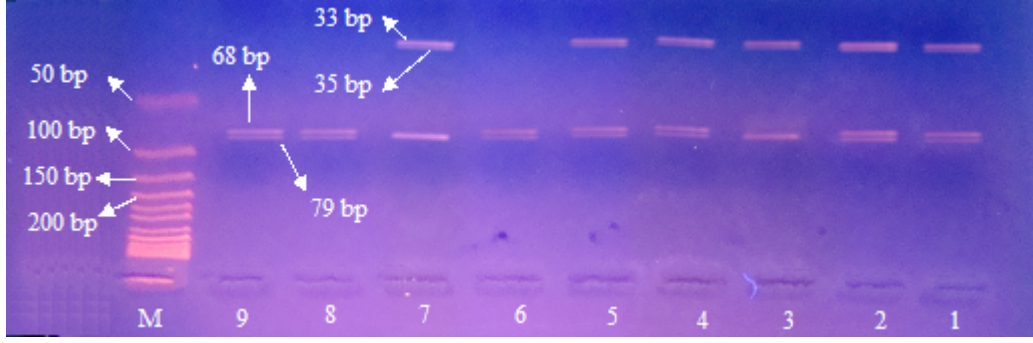
Şekil 3.2. C3435T polimorfizmi için MboI enzim kesimi sonrası jel görüntüleri.

T alleli MboI kesim bölgesi içermediğinden kesime dirençlidir. C alleli ise kesim bölgesi içerdiğinden 207 baz çiftlik (bç) PCR ürünü 145 ve 62 baz çiftlik iki parçaya ayrılmaktadır. Buna göre 1, 6, 7, 8, 17 ve 18 numaralı hastalar TT genotipini, 2, 3, 5, 13, 14, 15 numaralı hastalar CT genotipini, 4, 9, 10, 11, 12, 16 ve 19 numaralı hastalar CC genotipini göstermektedirler.



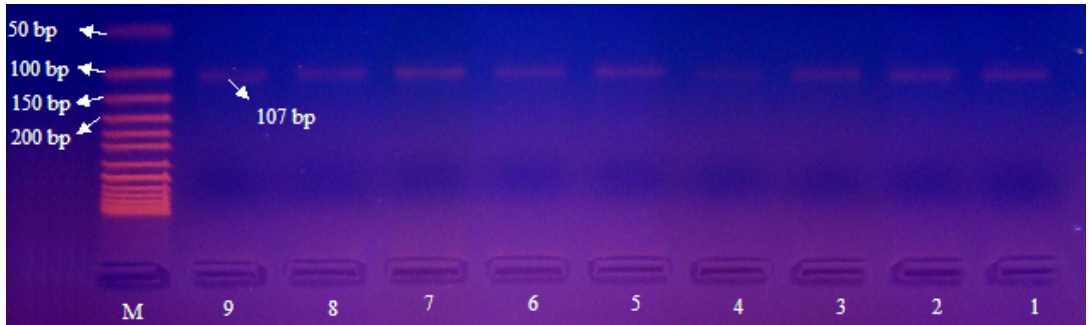
Şekil 3.3. T1236C polimorfizmi PCR Ürünü Jel Görüntüleri.

PCR sonrası oluşan ürün 147 bç büyüklüğündedir.



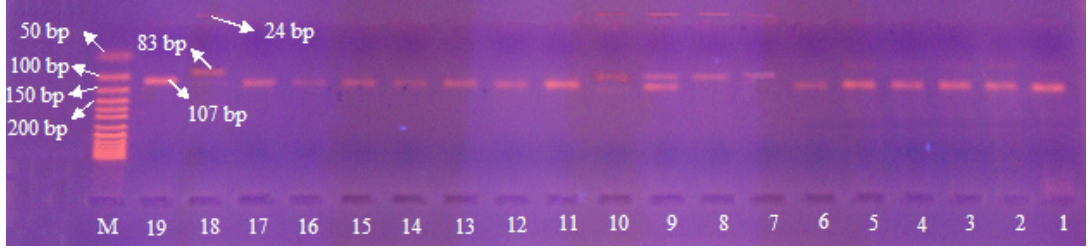
Şekil 3.4. T1236C polimorfizmi için HaeIII enzim kesimi sonrası Jel Görüntüleri.

147 bç lik PCR ürünü içerisinde HaeIII enzimine ait 2 kesim bölgesi bulunmaktadır. 68. pozisyondaki kesim bölgesi polimorfizmi içermezken 33. pozisyondaki kesim bölgesi polimorfizmi içerdiği için T alleli mevcutsa 33. pozisyonda kesim olmayıp sadece 68. pozisyonda kesim olacağından 147 bç lik PCR ürünü 79 ve 68 bç lik parçalara ayrılır. C alleli mevcutsa hem 33. hem de 68. pozisyonda kesim gerçekleşeceği için 147 bç lik PCR ürünü 79, 33 ve 35 bç lik parçalara ayrılır. Buna göre 1, 2, 4, 5 numaralı hastalar TC genotipini, 3 ve 7 numaralı hastalar CC genotipini, 6, 8, 9 numaralı hastalar TT genotipini göstermektedirler.



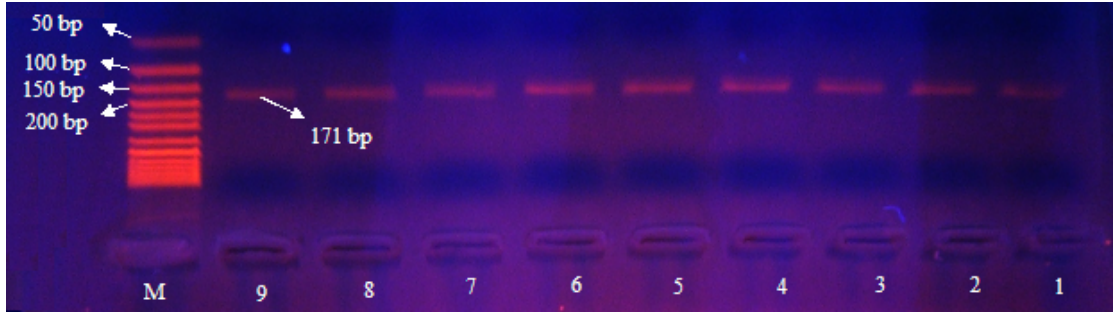
Şekil 3.5. G2677T polimorfizmi PCR Ürünü Jel Görüntüleri.

PCR sonrası oluşan ürün 107 bç büyüklüğündedir.



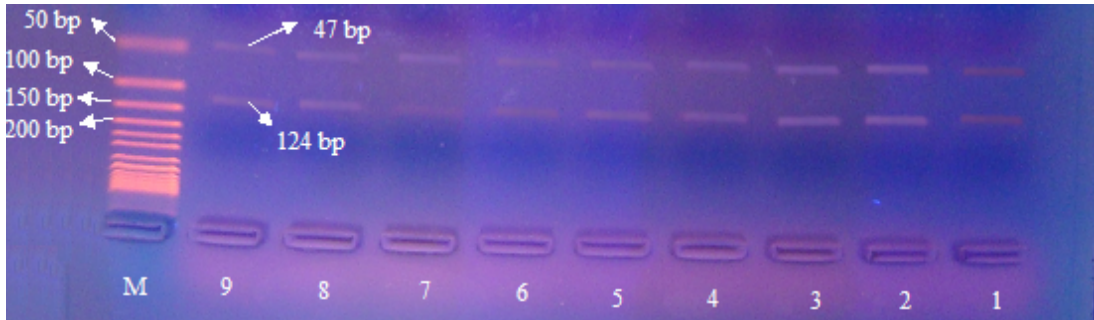
Şekil 3.6. G2677T polimorfizmi için XbaI enzim kesimi sonrası Jel Görüntüleri.

G alleli XbaI kesim bölgesi içermediğinden kesime dirençlidir. T alleli ise kesim bölgesi içerdiğinden 107 baz çiftlik (bç) PCR ürünü 83 ve 24 baz çiftlik iki parçaya ayrılmaktadır. Buna göre 1, 2, 3, 4, 5, 6, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19 numaralı hastalar GG genotipini, 7, 8, 10, 18 numaralı hastalar TT genotipini, 9 numaralı hasta ise GT genotipini göstermektedir.



Şekil 3.7. A2956G polimorfizmi PCR Ürünü Jel Görüntüleri.

PCR sonrası oluşan ürün 171 bç büyüklüğündedir.



Şekil 3.8. A2956G polimorfizmi için NcoI enzim kesimi sonrası Jel Görüntüleri.

G alleli NcoI kesim bölgesi içermediğinden kesime dirençlidir. A alleli ise kesim bölgesi içerdiğinden 171 baz çiftlik (bç) PCR ürünü 124 ve 47 baz çiftlik iki parçaya ayrılmaktadır. Buna göre şekildeki tüm hastalar AA genotipini göstermektedirler. Yapılan analizler sonucunda C3435T polimorfizmi için meme kanseri hasta grubunda (n = 35) 13 olguda (%37,1) CC genotipi, 10 olguda (%28,6) CT genotipi, 12 olguda (%34,3) TT genotipi saptanmıştır.

Kontrol grubunda ise (n = 20) 5 olguda (%25) CC genotipi, 13 olguda (% 65) CT genotipi, 2 olguda (% 10) ise TT genotipi saptanmıştır. (Tablo 3.2.)

Hasta ve kontrol grupları C3435T polimorfizmi açısından karşılaştırıldığında hasta grubun % 34,3 oranında TT genotipini ve kontrol grubunun % 65 oranında CT genotipini taşıması anlamlı bulunmuştur. (Tablo 3.2.)

Tablo 3.2. Hasta ve Kontrol Gruplarında C3435T Polimorfizmi için Genotip Dağılımı ve Değerlendirilmesi

		Hasta	Kontrol	Toplam	χ^2	p değeri	OR*	CI*
C3435T	CC	13 (% 37,1)	5 (% 25)	18 (% 32,7)	0,852	0,356	1,773	0,522-6,020
	CT	10 (% 28,6)	13 (%65)	23 (% 41,8)	6,942	0,008	0,215	0,066-0,698
	TT	12 (% 34,3)	2 (% 10)	14 (% 25,5)	3,956	0,047	4,696	0,93-23,705
	Toplam	35	20	55				

Hasta ve kontrol gruplarında C3435T polimorfizminin allel sıklıkları karşılaştırıldığında T ve C allel sıklıkları hasta ve kontrol gruplarında anlamlı bir fark göstermemiştir. (Tablo 3.3)

Tablo 3.3. C3435T Polimorfizmi Allel Sıklığının Hasta ve Kontrol Gruplarında Karşılaştırılması.

	C3435T		χ^2	p değeri	OR*	CI*
	C alleli	T alleli				
Hasta	36 (% 51,4)	34 (% 48,6)	0,377	0,539	0,783	0,358-1,712
Kontrol	23 (% 57,5)	17 (% 42,5)				
Toplam	59	51				

Meme kanseri başlangıç yaşına göre hastalık başlangıcında 35 yaş ve altı, 36-45, 46-55, 56 ve üstü yaş gruplarında olan hastalarda C3435T polimorfizminin genotip dağılımı karşılaştırıldığında 35 yaş altı ve 56 yaş ve üstü grupta TT genotip yüzdeleri diğer gruplara oranla yüksek bulunmuştur.(Tablo 3.4.)

Tablo 3.4. Hastalık Başlangıç Yaşı Aralıklarına Göre C3435T Polimorfizminin Genotip Dağılımı ve Değerlendirmesi

		35 yaş ve altı	36-45 yaş	46-55 yaş	56 yaş ve üstü
		C3435T	CC	2 (% 22,2)	6 (% 85,7)
CT	3 (% 33,3)		0	7 (% 50)	0
TT	4 (% 44,4)		1 (% 14,3)	3 (% 21,4)	4 (%80)
Toplam	9		7	14	5

Meme kanseri başlangıç yaşına göre hastalık başlangıcında 35 yaş ve altı, 36-45, 46-55, 56 ve üstü yaş gruplarında olan hastalarda C3435T polimorfizminin allel sıklıkları karşılaştırıldığında 35 yaş ve altı ve 56 yaş ve üstü grupta T allel sıklığı yüksek bulunurken 36-45 ve 46-55 yaş gruplarında C allel sıklığı yüksek bulunmuştur (Tablo 3.5.).

Tablo 3.5. Hastalık Başlangıç Yaşı Aralıklarına Göre C3435T Polimorfizminin Allel Sıklıkları

	C3435T	
	C alleli	T alleli
35 yaş ve altı	7 (% 38,9)	11 (% 61,1)
36-45	12 (% 85,7)	2 (% 14,3)
46-55	15 (% 53,6)	13 (% 46,4)
56 ve üstü	2 (% 20)	8 (% 80)
Toplam	36	34

T1236C polimorfizmi için meme kanseri hasta grubunda (n = 35) 14 olguda (% 40) TT genotipi, 9 olguda (% 25,7) TC genotipi, 12 olguda (% 34,3) CC genotipi saptanmıştır.

Kontrol grubunda ise (n = 20) 8 olguda (%40) TT genotipi, 5 olguda (% 25) TC genotipi, 7 olguda (% 35) ise CC genotipi saptanmıştır (Tablo 3.6.).

Hasta ve kontrol gruplarında T1236C genotipleri karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Tablo 3.6.).

Tablo 3.6. Hasta ve Kontrol Gruplarında T1236C Polimorfizmi için Genotip Dağılımı ve Değerlendirilmesi

		Hasta	Kontrol	Toplam	χ^2	p değeri	OR*	CI*
T1236C	TT	14 (% 40)	8 (% 40)	22 (% 40)	0	1.0	1.0	0,326-3,069
	TC	9 (% 25,7)	5 (%25)	14 (% 25,5)	0,003	0,953	1,038	0,293-3,678
	CC	12 (% 34,3)	7 (% 35)	19 (% 34.5)	0,003	0,957	0,969	0,306-3,072
	Toplam	35	20	55				

Hasta ve kontrol gruplarında T1236C polimorfizminin allel sıklıkları karşılaştırıldığında T ve C allel sıklıkları hasta ve kontrol gruplarında anlamlı bir fark göstermemiştir (Tablo 3.7).

Tablo 3.7. T1236C Polimorfizmi Allel Sıklığının Hasta ve Kontrol Gruplarında Karşılaştırılması.

	T1236C		χ^2	p değeri	OR*	CI*
	T alleli	C alleli				
Hasta	37 (% 52,9)	33 (% 47,1)	0,001	0,971	1,014	0,466-2,209
Kontrol	21 (% 52,5)	19 (% 47,5)				
Toplam	58	52				

Meme kanseri başlangıç yaşına göre hastalık başlangıcında 35 yaş ve altı, 36-45, 46-55, 56 ve üstü yaş gruplarında olan hastalarda T1236C polimorfizminin genotip dağılımı karşılaştırıldığında 35 yaş ve altı ve 56 yaş ve üstü grupta TT genotip sıklığı yüksek bulunurken 36-45 yaş grubunda CC genotipi yüksek bulunmuştur. (Tablo 3.8.)

Tablo 3.8. Hastalık Başlangıç Yaşı Aralıklarına Göre T1236C Polimorfizminin Genotip Dağılımı ve Değerlendirmesi

		35 yaş ve altı	36-45 yaş	46-55 yaş	56 yaş ve üstü
		T1236C	TT	4 (% 44,4)	1 (% 14,3)
TC	3 (% 33,3)		1 (% 14,3)	5 (% 35,7)	0
CC	2 (% 22,2)		5 (% 71,4)	4 (% 28,6)	1 (% 20)
Toplam	9		7	14	5

Meme kanseri başlangıç yaşına göre hastalık başlangıcında 35 yaş ve altı, 36-45, 46-55, 56 ve üstü yaş gruplarında olan hastalarda T1236C polimorfizminin allel sıklıkları karşılaştırıldığında 35 yaş ve altı, 46-55 ve 56 yaş ve üstü grupta T allel sıklığı yüksek bulunurken, 36-45 yaş grubunda C allel sıklığı yüksek bulunmuştur. (Tablo 3.9.)

Tablo 3.9. Hastalık Başlangıç Yaşı Aralıklarına Göre T1236C Polimorfizminin Allel Sıklıkları Karşılaştırılması

	T1236C	
	T alleli	C alleli
35 yaş ve altı	11 (% 61,1)	7 (% 38,9)
36-45	3 (% 21,4)	11 (% 78,6)
46-55	15 (% 53,6)	13 (% 46,4)
56 ve üstü	8 (% 80)	2 (% 20)
Toplam	37	33

G2677T polimorfizmi için meme kanseri hasta grubunda (n = 35) 26 olguda (% 74,2) GG genotipi, 1 olguda (% 2,9) GT genotipi, 8 olguda (% 22,9) TT genotipi saptanmıştır.

Kontrol grubunda ise (n = 20) 12 olguda (% 60) GG genotipi, 3 olguda (% 15) GT genotipi, 5 olguda (% 25) ise TT genotipi saptanmıştır. (Tablo 3.10.)

Hasta ve kontrol gruplarında G2677T genotipleri karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı bir fark gözlenmedi (Tablo 3.10.).

Tablo 3.10. Hasta ve Kontrol Gruplarında G2677T Polimorfizmi için Genotip Dağılımı ve Değerlendirilmesi

		Hasta	Kontrol	Toplam	χ^2	p değeri	OR*	CI*
G2677T	GG	26 (% 74,2)	12 (% 60)	38 (% 69)	1,216	0,27	1,93	0,596-6,221
	GT	1 (% 2,9)	3 (%15)	4 (% 7,4)	-	0,131	0,167	0,016-1,725
	TT	8 (% 22,9)	5 (% 25)	13 (% 23,6)	-	1,0	0,89	0,25-3,2
	Toplam	35	20	55				

Hasta ve kontrol gruplarında allel sıklıkları karşılaştırıldığında G ve T allel sıklıkları hasta ve kontrol gruplarında anlamlı bir farklılık göstermemiştir. (Tablo 3.11)

Tablo 3.11. Hasta ve Kontrol Gruplarında G2677T Polimorfizmi için Genotip Dağılımı ve Değerlendirilmesi

	G2677T		χ^2	p değeri	OR*	CI*
	G alleli	T alleli				
Hasta	53 (% 75,7)	17 (% 24,3)	0,866	0,352	1,501	0,636-3,540
Kontrol	27 (% 67,5)	13 (% 32,5)				
Toplam	80	30				

Meme kanseri başlangıç yaşına göre hastalık başlangıcında 35 yaş ve altı, 36-45, 46-55, 56 ve üstü yaş gruplarında olan hastalarda G2677T polimorfizminin genotip dağılımı karşılaştırıldığında tüm yaş gruplarında GG genotip sıklığı daha yüksek bulunmuştur. (Tablo 3.12.)

Tablo 3.12. Hastalık Başlangıç Yaşı Aralıklarına Göre G2677T Polimorfizminin Genotip Dağılımı ve Değerlendirilmesi

		35 yaş ve altı	36-45 yaş	46-55 yaş	56 yaş ve üstü
		G2677T	GG	6 (% 66,7)	7 (% 100)
	GT	0	0	1 (% 7,1)	0
	TT	3 (% 33,3)	0	3 (% 21,4)	2 (% 40)
	Toplam	9	7	14	5

Meme kanseri başlangıç yaşına göre hastalık başlangıcında 35 yaş ve altı, 36-45, 46-55, 56 ve üstü yaş gruplarında olan hastalarda G2677T polimorfizminin allel sıklıkları karşılaştırıldığında tüm yaş gruplarında G allel sıklığı daha yüksek bulunmuştur. (Tablo 3.13.)

Tablo 3.13. Hastalık Başlangıç Yaşı Aralıklarına Göre G2677T Polimorfizminin Allel Sıklıkları Karşılaştırılması

	G2677T	
	G alleli	T alleli
35 yaş ve altı	12 (% 66,7)	6 (% 33,3)
36-45	14 (% 100)	0
46-55	21 (% 75)	7 (% 25)
56 ve üstü	6 (% 60)	4 (% 40)
Toplam	53	17

A2956G polimorfizmi için meme kanseri hasta grubunda (n = 35) tüm hastaların genotipi AA olarak belirlenmiştir.

Kontrol grubunda ise (n = 20) yine tüm hastaların genotipi AA olarak belirlenmiştir. (Tablo 3.14.)

Buna göre Türk populasyonundan oluşan çalışma grubunda A2956G polimorfizmi monomorfik olarak bulunmuştur.

Tablo 3.14. Hasta ve Kontrol Gruplarında A2956G Polimorfizmi için Genotip Dağılımı ve Değerlendirilmesi

		Hasta	Kontrol	Toplam
A2956G	AA	35 (% 100)	20 (% 100)	55 (% 100)
	AG	0	0	0
	GG	0	0	0
	Toplam	35	20	55

Tablo 3.15. Hasta Grupta C3435T ve G2677T Polimorfizmlerinin Birlikte Dağılımı

		C3435T			
		CC	CT	TT	Toplam
G2677T	GG	13 (% 37,1)	7 (%20)	6 (% 17,1)	26
	GT	0	0	1 (% 2,9)	1
	TT	0	3 (% 8,6)	5 (% 14,3)	8
Toplam		13	10	12	35

Tablo 3.16. Kontrol Grubunda C3435T ve G2677T Polimorfizmlerinin Birlikte Dağılımı

		C3435T			
		CC	CT	TT	Toplam
G2677T	GG	5 (% 25)	7 (%35)	0	12
	GT	0	3 (% 15)	0	3
	TT	0	3 (% 15)	2 (% 10)	5
Toplam		5	13	2	20

Tablo 3.17. Hasta grupta C3435T ve T1236C polimorfizminin birlikte değerlendirilmesi

		T1236C			
		TT	TC	CC	Toplam
C3435T	CC	1 (% 2,9)	2 (% 5,7)	10 (% 28,6)	13
	CT	5 (%14,3)	4 (% 11,4)	1 (% 2,9)	10
	TT	8 (% 22,9)	3 (% 8,6)	1 (% 2,9)	12
Toplam		14	9	12	35

Tablo 3.18. Kontrol grupta C3435T ve T1236C polimorfizminin birlikte değerlendirilmesi

		T1236C			
		TT	TC	CC	Toplam
C3435T	CC	0	0	5 (% 25)	5
	CT	7 (%35)	4 (% 20)	2 (% 10)	13
	TT	1 (% 5)	1 (% 5)	0	2
Toplam		8	5	7	20

Tablo 3.19. Hasta grupta G2677T ve T1236C polimorfizminin birlikte değerlendirilmesi

		T1236C			
		TT	TC	CC	Toplam
G2677T	GG	7 (% 20)	8 (%22,9)	11 (% 31,4)	26
	GT	1 (%2,9)	0	0	1
	TT	6 (% 17,1)	1 (% 2,9)	1 (% 2,9)	8
Toplam		14	9	12	35

Tablo 3.20. Kontrol Grubunda G2677T ve T1236C polimorfizminin birlikte değerlendirilmesi

		T1236C			
		TT	TC	CC	Toplam
G2677T	GG	3 (% 15)	2 (% 10)	7 (%35)	12
	GT	1 (% 5)	2 (% 10)	0	3
	TT	4 (% 20)	1 (% 5)	0	5
Toplam		8	5	7	20

Hasta ve kontrol grubunda G2677T, C3435T ve T1236C polimorfizmlerinin birlesik genotip değerlendirmesi yapıldığında hem hasta hem de kontrol grubunda GG/CC/CC haplotipi en yüksek sıklıkta bulunmuştur.

Tablo 3.21. Hasta ve Kontrol Grubunda G2677T, C3435T ve T1236C Polimorfizmlerinin Birlesik Genotip Değerlendirmesi

G2677T / C3435T / T1236C	Hasta	Kontrol	Toplam	χ^2	p degeri	OR *	CI *
GG / CC / TT	1 (% 2,9)	0	1 (% 1,8)				
GG / CC / TC	2 (% 5,7)	0	2 (% 3,6)				
GG / CC / CC	10 (% 28,6)	5 (% 25)	15 (% 27)				
GG / CT / TT	2 (% 5,7)	3 (%15)	5 (% 9.1)				
GG / CT / TC	4 (%11,4)	2 (% 10)	6 (% 11)				
GG / CT / CC	1 (% 2,9)	2 (% 10)	3 (% 5,5)				
GG / TT / TT	4 (%11,4)	0	4 (% 7,3)				
GG / TT / TC	2 (% 5,7)	0	2 (% 3,6)				
GG / TT / CC	0	0	0				
GT / CC / TT	0	0	0				
GT / CC / TC	0	0	0				
GT / CC / CC	0	0	0				
GT / CT / TT	0	1 (% 5)	1 (% 1,8)				
GT / CT / TC	0	2 (% 10)	2 (% 3,6)				
GT / CT / CC	0	0	0				
GT / TT / TT	1 (% 2,9)	0	1 (% 1,8)				
GT / TT / TC	0	0	0				
GT / TT / CC	0	0	0				
TT / CC / TT	0	0	0				
TT / CC / TC	0	0	0				
TT / CC / CC	0	0	0				
TT / CT / TT	3 (% 8,6)	3 (% 15)	6 (% 11)				
TT / CT / TC	0	0	0				
TT / CT / CC	0	0	0				
TT / TT / TT	3 (% 8,6)	1 (% 5)	4 (% 7,3)				
TT / TT / TC	1 (% 2,9)	1 (% 5)	2 (% 3,6)				
TT / TT / CC	1 (% 2,9)	0	1 (% 1,8)				

4. TARTIŞMA

Özellikle batı dünyasında meme kanseri, kanser nedenli ölümlerde ilk sırada yer almaktadır (159). Geçtiğimiz 30-40 yıl içinde meme kanseri teşhis ve tedavisinde önemli aşamalar kaydedilmiştir. Bunun yanı sıra meme kanseri gelişiminde rol alan genetik faktörleri ve risk faktörlerini aydınlatmaya yönelik yoğun çaba sarfedilmiştir (160,161,162). Hastalığın etiyojisi tam olarak anlaşılammakla beraber risk faktörleri arasında yaş, etnik köken, üreme ile ilgili etkenler, eksojen hormonlar, yaşam şekli ve genetik faktörler sayılabilir (163).

Meme kanserinin de içinde yer aldığı hastalıklarda tedaviye verilen yanıtın tahmininde kullanılan bazı moleküler markırlar bulunmuştur. Bunlar arasında MDR1 geni ürünü olan p-glikoproteinin önemli rol oynadığı düşünülmektedir (161). ATP bağımlı bir membran proteini olan p- glikoprotein oldukça fazla üyesi olan memeli ABC transportırları ailesinin bir üyesidir ve bu proteinle ilgili bir çok çalışma bulunmaktadır (164). P- glikoprotein çeşitli hidrofobik ilaçları ve peptidleri hücre içinden hücre dışına taşıyan bir pompa görevi görmektedir (165). P- glikoproteinin fizyolojik rolü tam olarak anlaşılammakla beraber, potansiyel toksik maddelerin ve metabolitlerin intraselüler birikimini önlediği düşünülmektedir (148). P-glikoprotein adrenal bezde yüksek seviyede, meme, mide, kolon, jejunum, rektum, karaciğer, böbrek ve plasentada orta seviyede, testis, beyin, kemik iliği ve kalpte düşük seviyede eksprese edilmektedir (149). P-glikoproteini kodlayan MDR1 geni 7q21 de lokalize, 28 ekzondan oluşan ve 1280 amino asit kodlayan bir gendir (166).

MDR1 geni polimorfik bir gendir ve şimdiye kadar 105 den fazla varyantı olduğu bildirilmiştir (152). Bu gende ilk tariflenen polimorfizmler Gly185Val, Ala893Ser Met986Val dönüşümüne neden olan polimorfizmlerdir (167,168). MDR1 genindeki değişiklikler p- glikoprotein fonksiyonunda değişikliklere yol açmaktadır ve fonksiyon değişikliğine yol açtığı ilk rapor edilen polimorfizm ekzon 26 da yer alan amino asit değişikliğine yol açmayan C3435T polimorfizmidir. Bu polimorfizm için TT genotipini taşıyanlarda MDR1 geninin ekspresyonunun düştüğü ve duedonumda p- glikoprotein seviyesinin iki kat azaldığı belirlenmiştir (166). MDR1 genindeki

T1236C polimorfizmi yine amino asit değişikliğine yol açmayan bir polimorfizmdir. Bu polimorfizmin etrafındaki bir çok amino asit rezidüsü ATP bağlanması ve hidrolizinde önemli rol oynamaktadır ve polimorfizmin proteinin ekspresyonunda ya da fonksiyonunda değişikliğe neden olmadığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Fakat 6. transmembran heliksin katlanmasında etkisi olduğu düşünöldüğünden dolayı protein fonksiyonunda değişikliğe neden olup olmadığı muallaktır (120, 169, 170). 893. pozisyondaki alaninin serine dönüşümüne neden olan G2677T polimorfizminin ise proteinin katlanması ve fonksiyonunda değişikliğe yol açtığı bildirilmektedir (171, 172, 173). Bir diğer polimorfizm 986. pozisyondaki metioninin valine dönüşümüne neden olan A2956G polimorfizmidir ve bu polimorfizmin proteinin ekspresyon seviyesinde değişikliğe neden olmadığı fakat ATP az aktivitesini etkilediğı rapor edilmektedir (169).

MDR1 genindeki polimorfizmlerin çoklu ilaç direncine neden olmalarının yanı sıra bazı hastalıklara yatkınlıkta rol aldıkları ve bu polimorfizmlerin etnik farklılıklar gösterdikleri bildirilmektedir (104). Buna ek olarak bu polimorfizmlerin etkileri farklı etnik gruplarda da birbirinden farklılık göstermektedir (174).

Bu çalışmada Türk toplumunda, 35 meme kanserli ve 20 sağlıklı bireyden oluşan çalışma grubunda MDR1 geni C3435T, T1236C, G2677T ve A2956G polimorfizmlerinin meme kanserine yatkınlıkta etkisinin olup olmadığının yanı sıra bu polimorfizmlerin Türk toplumundaki sıklıkları araştırılmıştır.

Çalışmamızda yer alan hasta grubun yaş ortalaması $48,6 \pm 13,1$, kontrol grubun yaş ortalaması ise $62,45 \pm 5,5$ olarak bulunmuştur. Hastalık başlangıç yaşı ise 19 ile 77 arasında değişmektedir.

Literatürde çeşitli hastalıklara yatkınlık ile MDR1 geni polimorfizmleri arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmalara sık rastlanırken meme kanserine yatkınlık ve MDR1 geni polimorfizmlerinin araştırıldığı sınırlı sayıda çalışma mevcuttur.

Kuzey Hindistan' lılar arasında yaygın MDR1 gen varyantları (C129T, C1236T, G2677T/A, C3435T) ve ülseratif kolit arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada çalışma grubu 270 ülseratif kolit hastası ve 274 sağlıklı kontrol grubundan oluşmaktadır. Bu populasyonda C129T polimorfizmi monomorfik olarak bulunmuştur. Hasta grupta C1236T polimorfizminin sıklığı yüksek bulunmakla beraber G2677T/A polimorfizmi ile ülseratif kolit arasında zayıf bir asosiasyon

gözlenmiştir. C1236T, G2677T/A, C3435T ve C1236T ve G2677T/A polimorfizmlerinin yer aldığı ikili ve üçlü haplotip analizleri ise ülseratif kolit hastalığı ile TTT, TGT, TT ve CT haplotipleri arasında ilişki olduğunu göstermiştir. Hastalar yaşlar açısından değerlendirildiğinde ise 29 yaş öncesi hastalarda yine ülseratif kolit ile C1236T ve G2677T/A polimorfizmleri arasında önemli bir birliktelik saptanmıştır. Çalışma verilerine dayanılarak Kuzey Hindistan’lılarda ülseratif kolit hastalığına yatkınlık ve hastalık fenotipi ile MDR1 geninin yaygın polimorfizmleri arasında ilişki saptandığı yorumu yapılmıştır (175).

Agnes F. ve arkadaşları Macar akut lenfoblastik lösemili (ALL) çocuklarda MDR1 geni nadir haplotiplerini araştırdıkları çalışmalarında olgulardaki bireysel polimorfizmlerin ve yaygın haplotiplerin ALL ye yatkınlıkta etkisinin olmadığını söylerken, C3435T polimorfizmi T allelinde yer aldığı nadir görülen haplotipleri artmış ALL riski ile ilişkilendirmektedirler (111).

Jamroziak K. ve arkadaşları çocukluk dönemi akut lenfoblastik lösemi hastalarında MDR1 geni C3435T polimorfizmini araştırdıkları çalışmalarında TT genotipini taşıyanların bu hastalık için artmış risk taşıdıklarını, fakat CC genotipini taşıyanlarında daha kötü prognoza sahip olduklarını savunmaktadırlar (112).

Miller KL ve arkadaşları San Francisco’ daki yetişkin glioma hastalarında MDR1 geni C3435T polimorfizmini araştırdıkları çalışmalarında bu polimorfizmin diğer tip gliomalarla bir ilişkisi olmamasına rağmen, yetişkin erkeklerdeki glioblastoma ile ilişkili olduğunu düşündüklerini rapor etmişlerdir (110).

Siegsmond M. ve arkadaşları MDR1 geni C3435T polimorfizmi ile renal epitelyal tümörlerin gelişimine yatkınlık arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmalarında normal renal parankimde CC genotipine sahip olanlarda p-gp ekspresyonunun TT genotipine sahip olanlara oranla 1.5 kat fazla olduğunu ortaya koymuşlardır. Buna ilaveten bu çalışmada T alleli taşıyanların ve TT genotipine sahip olanların onkositik adenomlara ek olarak özellikle papiller ve kromofob renal hücre karsinomları gibi non-CCRC (clear cell renal cell) karsinomları için artmış riske sahip oldukları bildirilmiştir (176).

Kurzawski M. ve arkadaşları tarafından yapılan MDR1 geni C3435T polimorfizminin kolon kanserli hastalarda araştırıldığı çalışmada hasta ve kontrol grubu arasında CC ve TT genotip sıklıkları açısından far gözlenemezken, 50 yaş

altında tanı almış hastalar ve kontrol grubu karşılaştırıldığında T alleli taşıyıcılarında ya da TT genotipini taşıyanlarda, sırasıyla 2.7 ve 1.7 kat hastalık gelişim riskinin arttığı rapor edilmiş ve 50 yaş altındaki bireylerde kolon kanseri riskinin değerlendirilmesi amacıyla MDR1 geni C3435T polimorfizminin değerlendirildiği genetik testin uygun olabileceği savunulmuştur (177).

Osswald E. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sigara içmeyen yaşlı olgularda MDR1 geni C3435T, T129C ve G2677T/A polimorfizmleri ile kolorektal kansellere yatkınlık arasındaki ilişki değerlendirilmiş ve kolorektal kansellere yatkınlıkta sigaranın MDR1'in genetik etkisinden daha baskın olduğu sonucuna varılmış. Buna rağmen hayatı boyunca sigara içmemiş, 63 yaş ve altı bireylerde kolorektal kanser ve MDR1 genotipleri arasında önemli bir ilişki saptanmış. (-129TT; 2677GG; 3435CC) ya da (-129TT; 2677TT; 3435TT) haplotiplerini taşıyanlarda kolorektal kanserlerin gelişme sıklığının diğer genotiplerdeki bireylere oranla daha sık olduğu bildirilmiştir (178).

Tahara T. ve arkadaşları çalışma verileri ışığında Japon popülasyonunda MDR1 geni C3435T polimorfizmi için TT genotipini taşıyanların gastrik kanserler için düşük risk taşıdıklarını rapor etmişlerdir (113).

Türk toplumu için meme kanserinde MDR1 geni C3435T polimorfizminin araştırıldığı bir çalışmada tüm hastaların ortalama yaşı verilmemekle beraber, CC genotipine sahip olanların ortalama yaşı 49.6 ± 15.1 , CT genotipine sahip olanlarınkı 50.1 ± 9.9 , TT genotipine sahip olanlarınkı ise 47.4 ± 13.6 olarak verilmiştir. Bu çalışmada meme kanserli grupta CC, CT ve TT genotip sıklıkları sırasıyla % 12,1, % 58.6 ve % 29,3 olarak bulunurken kontrol grubunda, % 36, % 46 ve % 18 olarak bulunmuştur. Hasta ve kontrol grubu arasındaki genotip sıklıkları farkı anlamlı bulunmuştur. Hasta grupda C ve T allel sıklıkları ise sırasıyla % 41,2 ve % 58,8 olarak, kontrol grubunda ise % 59 ve % 41 olarak rapor edilmiştir. Buna ek olarak bu çalışmada tümör çapı, hormon reseptör durumu, histolojik aşama, lenf nodu katılımı, sayısı ve cerb B2 gibi klinopatolojik parametrelerle MDR1 genotipleri arasında bir asosiasyon bulunamamıştır. Fakat metastatik hastaların %77,8 inde ve progresif hastaların %83,3 ünde CT/CC genotipine rastlanmıştır. Bu çalışmada C allelinin meme kanserinde koruyucu bir etkisi olduğu sonucuna varılmıştır (114).

İran populasyonu için meme kanserinde MDR1 geni C3435T polimorfizminin araştırıldığı başka bir çalışmaya meme kanserli 106 hasta ve 77 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Bir önceki çalışmadan farklı olarak meme kanseri ile MDR1 geni C3435T polimorfizmi genotip ve allel sıklıkları arasında bir ilişki saptanmamıştır. Çalışma verilerine dayanarak C3435T polimorfizmi ile meme kanserine yatkınlık arasında bir asosiyasyon saptanmadığı rapor edilmiştir (115).

Bizim çalışmamızda hasta grupta C3435T polimorfizmi için CC, CT, TT genotip sıklıkları sırasıyla %37,1 (n=13), %28,6 (n=10), %34,3 (n=12), kontrol grubunda %25 (n=5), %65 (n=13), %10 (n=2), T1236C polimorfizmi için hasta grupta TT, TC, CC genotip sıklıkları sırasıyla %40 (n=14), %25,7 (n=9), % 34,3 (n=12), kontrol grubunda %40 (n=8), %25 (n=5), %35 (n=7), G2677T polimorfizmi için hasta grupta GG, GT, TT genotip sıklıkları sırasıyla %74,2 (n=26), %2,9 (n=1), %22,9 (n=8), kontrol grubunda %60 (n=12), %15 (n=3), %25 (n=5) olarak saptandı. A2956G polimorfizmi için ise tüm hastaların AA genotipini taşıdıkları bulundu. Çalışılan polimorfizmlerden T1236C, G2677T ve A2956G polimorfizmleri açısından hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

C3435T polimorfizmi için iki grup karşılaştırıldığında ise TT genotip sıklığı hasta grupta kontrol grubuna oranla anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. ($\chi^2= 3,956$, $p= 0.047 < 0,05$) C3435T polimorfizmi açısından elde ettiğimiz sonuç Turgut S. ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma sonuçları ile uyumluluk gösterirken Tatari F. ve arkadaşlarının çalışma sonuçları ile farklılık göstermektedir. (114, 115) MDR1 geni polimorfizmleri etkilerinin farklı etnik gruplarda farklılık göstermesi bizim sonuçlarımızın Turgut S. ve arkadaşlarının Türk populasyonunda yaptıkları çalışma sonuçları ile uyumlu, Tatari F. ve arkadaşlarının İran populasyonunda yaptıkları çalışma sonuçları ile farklı olmasını açıklayabilir.

Literatürde meme kanseri başlangıç yaşına göre değerlendirmenin yapıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda ise hastalar hastalık başlangıç yaşlarına göre 35 yaş ve altı, 36-45, 46-55, 56 yaş ve üstü şeklinde gruplara ayrılarak C3435T polimorfizminin genotip dağılımı değerlendirildiğinde 35 yaş altı ve 56 yaş ve üstü grupta TT genotipinin en yüksek yüzdeye sahip olan genotip olduğu saptanmış ve bu yüzdeler diğer gruplara oranla da yüksek bulunmuştur. G2677T polimorfizminin yaş aralıklarına göre genotip dağılımı karşılaştırıldığında ise tüm

yaş gruplarında GG genotip sıklığı daha yüksek bulunmuştur. C3435T polimorfizmine benzer şekilde yine T1236C polimorfizminde de 35 yaş ve altı ve 56 yaş ve üstü grupta TT genotip sıklığı yüksek bulunmuştur. Bu verilere göre 35 yaş ve altı ve 56 yaş ve üstü gruptaki hastalarda tüm polimorfizmler için benzer sonuçlar elde edilmiş ve bu gruplarda C3435T ve T1236C polimorfizmleri için polimorfik genotipler olan TT genotip yüzdeleri diğer genotip yüzdelerinden fazla bulunmuştur.

C3435T, T1236C ve G2677T polimorfizmlerinin birleşik genotip değerlendirilmesi yapıldığında ise hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ve her iki grupta da GG/CC/CC haplotipini taşıyanların yüzdesi en yüksek bulunmuştur.

MDR1 geni polimorfizmlerinin etnik farklılıklar gösterdiği bilinmektedir. Literatürde çeşitli popülasyonlarda MDR1 geni polimorfizmlerinin araştırıldığı bir çok çalışma mevcuttur. Farklı popülasyonlarda MDR1 geni C3435T polimorfizmi için CC, CT ve TT genotip sıklıkları Tablo 4.1’de verilmiştir (179-190).

Tablo 4.1 Farklı popülasyonlarda MDR1 geni C3435T polimorfizmi için CC, CT ve TT genotip sıklıkları

Popülasyon	Örnek Sayısı	Alel Frekansı		Genotip Frekansı		
		C	T	CC	CT	TT
Afrika Kökenli Amerikalı	88	0.84	0.16	0.68	0.31	0.01
Ganalı	206	0.83	0.17	0.67	0.34	0
Kenyalı	80	0.83	0.17	0.7	0.26	0.04
Şilili (Pascuense)	52	0.75	0.25	0.56	0.38	0.06
Sudanlı	52	0.73	0.27	0.52	0.43	0.06
İranlı	300	0.67	0.33	0.44	0.45	0.11
Şilili (Mestizo)	104	0.67	0.33	0.46	0.43	0.12
Şilili (Mapuche)	96	0.65	0.35	0.49	0.31	0.20
Polonyalı	122	0.62	0.38	0.42	0.41	0.17
Japonlar	114	0.61	0.39	0.35	0.53	0.12
Çinli	265	0.56	0.44	0.32	0.48	0.2
Suudi Arabistanlı	96	0.55	0.45	0.37	0.38	0.26
Orta Amerikalı	229	0.53	0.47	0.29	0.47	0.24
Kuzey İspanyalı	204	0.52	0.48	0.27	0.51	0.22
Alman	188	0.52	0.48	0.27	0.48	0.24
Polonyalı (Batı)	204	0.48	0.52	0.22	0.51	0.27
Beyaz İrk (UK)	190	0.48	0.52	0.24	0.48	0.28
Malezyalı	99	0.48	0.52	0.25	0.46	0.28
Alman	461	0.46	0.54	0.21	0.50	0.29
Güney Hindistanlı	185	0.46	0.54	0.18	0.56	0.26
Rus	290	0.46	0.54	0.21	0.49	0.30
Çek	189	0.44	0.56	0.21	0.45	0.34

Türkiye’de Denizli ilinde C3435T polimorfizmi genotip sıklıklarının araştırıldığı bir çalışmada CC, CT, TT genotip sıklıkları sırasıyla %20, %53, %27 olarak bulunmuştur (191).

Bizim çalışmamızda C3435T polimorfizmi için CC, CT, TT genotip sıklıkları sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubunda sırasıyla % 25 , % 65 , % 10, toplam çalışma grubunda ise % 32,7, %41,8, %25,5 olarak bulunmuştur. Bu yüzdeler Çin, Japon, Orta Amerika ve İspanyol populasyonları ile uyumlu bulunurken diğer populasyonlardan farklılık göstermektedir.

G2677T/A polimorfizmi için farklı popülasyonlardaki genotip sıklıkları Tablo 4.2’de verilmiştir (190).

Tablo 4.2. G2677T/A polimorfizmi için farklı popülasyonlardaki genotip sıklıkları

Popülasyonlar	Exon 21					
	G2677T/A					
	GG	GT	GA	TT	AA	TA
Çek Cumhuriyeti (N = 189)	29.6	47.1	0.5	22.2	0	0
Almanya (N = 461)	30.9	4.2	2.0	16.1	0	1.8
Polonya (N = 122, 139)	33.8	46.8	0.7	17.3	0	1.4
Portekiz (N = 100)	31.0	43.0	-	26.0	-	-
Rusya (N = 290; 59)	30.3	44.9	4.1	18.3	0	2.4
İngiltere (N = 190)	-	-	-	-	-	-
Çin (N = 96)	16.7	33.3	8.3	26.0	1.0	14.6
Hindistan (N = 87)	13.8	31.0	8.1	41.4	0	5.8
Japonya (N = 114, 48)	-	-	-	-	-	-

Türk popülasyonunda G2677T/A polimorfizmi ile inflamatuvar bağırsak hastalığı arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmada hem hasta hem de kontrol grubunda A alleli gözlenmemiştir ve kontrol grubu olarak kullanılan sağlıklı bireylerde GG, GT, TT genotip yüzdeleri sırasıyla 30, 44,29, 25,71 olarak bulunmuştur (192).

Bizim çalışmamızda G2677T polimorfizmi için GG, GT, TT genotip sıklıkları sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubunda sırasıyla % 60 , % 15 , % 25, toplam çalışma grubunda ise %69, %7,4, %23,6 olarak bulunmuştur. Bu yüzdeler yukarıda bahsedilen popülasyonlardaki yüzdelerle uyumluluk göstermemektedir. Bu popülasyonlarda en yüksek yüzdeler GT genotipinde gözlenirken bizim

çalışmamızda GG genotipinde gözlenmektedir. Bizim verilerimize göre bu polimorfizm açısından Türk toplumu diğer toplumlara oranla daha az polimorfiktir.

T1236C polimorfizmi için farklı populasyonlardaki genotip sıklıkları Tablo 4.3'te verilmiştir (190).

Tablo 4.3. T1236C polimorfizmi için farklı populasyonlardaki genotip sıklıkları

Etnik Köken	Exon 21		
	T1236C		
	CC	CT	TT
Çek Cumhuriyeti (N = 189)	31.7	47.1	21.2
Almanya (N = 461)	34.4	49.2	16.4
Polonya (N = 122, 139)	35.0	46.8	18.0
Portekiz (N = 100)	-	-	-
Rusya (N = 290; 59)	24.0	56.0	20.0
İngiltere (N = 190)	-	-	-
Çin (N = 96)	8.3	39.6	52.1
Hindistan (N = 87)	13.8	37.9	48.3
Japonya (N = 114, 48)	14.6	47.9	37.5

Türk populasyonunda yapılan bir çalışmada ise T1236C polimorfizmi için TT, TC, CC genotip yüzdeleri sırasıyla 29, 51, 20 olarak bulunmuştur (193).

Bizim çalışmamızda kontrol grubunda ve tüm çalışma grubunda T1236C polimorfizmi için TT, TC ve CC yüzdeleri sırasıyla %40, %25, %35 olarak tespit edilmiştir. Bu oranlar Çin ve Hindistan populasyonu ile benzerlik gösterirken diğer populasyonlardan farklıdır. T alleli T1236C polimorfizmi için polimorfik alleldir ve TT genotip sıklığı diğer genotip sıklıklarına oranla bizim çalışmamızda daha yüksek bulunmuştur. Nitekim Akay G. ve arkadaşlarının Türk toplumunda T1236C polimorfizmini araştırdıkları çalışma verileride bizim verilerimizle benzerlik göstermektedir (193). Bu çalışmada en yüksek yüzde TC genotipine ait olsa da TT genotip sıklığı CC genotip sıklığından daha yüksek bulunmuştur. Bizim verilerimize göre Türk populasyonunda T1236C polimorfizmi sıklığı yüksek bulunmuştur.

Literatürde A2956G polimorfizmi ile ilgili yapılan fazla çalışma bulunmamakla beraber Korelilerde MDR1 geni polimorfizmlerinin araştırıldığı bir çalışmada A2956G polimorfizminin görülme sıklığı % 2,5 olarak bulunmuştur (194).

Bizim çalışmamızda ise A2956G polimorfizmine rastlanmamıştır. Türk toplumu bu polimorfizm açısından monomorfik olabilir.

Çalışma verilerimize göre hasta ve kontrol grubu arasında G2677T, T1236C ve A2956G polimorfizmleri açısından anlamlı bir fark gözlenmezken, C3435T polimorfizmi için hasta grupta TT genotip sıklığı kontrol grubundan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Bu veriler C3435T polimorfizmi için TT genotipini taşıyanlar meme kanserine daha yatkındır şeklinde yorumlanabilir. Sonuçlarımız literatürde bu konuda İran' lılarda yapılan bir çalışma ile uyumsuzken, Türkiye' de yapılan bir çalışma ile uyum içindedir. Bu sonuç polimorfizmlerin etkilerinin farklı etnik gruplarda farklılık göstermesi ile açıklanabilir.

5. SONUÇ

Sonuç olarak meme kanserli hasta grubu ve sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubunda T1236C , G2677T ve A2956G polimorfizmleri açısından anlamlı bir farklılık gözlenmezken, C3435T polimorfizmi için TT genotipi sıklığı hasta grupta kontrol grubuna oranla anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Bu veriler, C3435T polimorfizmi için TT genotipini taşıyanların meme kanseri için daha yüksek riske sahip olduğu, şeklinde yorumlanabilir. Bu sonuç literatürde bu konuda Türk populasyonunda yapılan bir çalışma ile uyumluluk gösterirken, farklı bir populasyonda yapılan diğer bir çalışma ile uyumluluk göstermemektedir. Bu durum ise MDR1 geni polimorfizmlerinin etnik farklılıklar göstermekle beraber etkilerinin de farklı populasyonlarda değişmesi ile açıklanabilir. Bunun yanı sıra daha net sonuçlar elde edebilmek için daha fazla sayıda olgu ve kontrol gruplarının kullanıldığı çalışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. <http://www.cancer.org/downloads/STT/BCFF-Final.pdf> erişim:12.05.2009
2. <http://apps.who.int/infobase/report.aspx?rid=119&iso=TUR&generateReport=Generate+Report> erişim:12.05.2009
3. http://www.breastcancer.org/pictures/breast_anathomy/image_1.jsp erişim: 12.05.2009
4. http://www.breastcancer.org/pictures/breast_anatomy/ erişim:12.05.2009
5. <http://www.cancer.org/downloads/STT/BCFF-Final.pdf> erişim:12.05.2009
6. Ellis IO, Pinder SE, Lee AHS, Elston CW. (Eds) (2000) *Tumors of the breast. In: Diagnostic Histopathology of Tumors. Fletcher CDM (ed). Second edition. London: Churchill Livingstone, 865-930.*
7. Hamilton S.R. ve Aaltonon L.A. (Eds) (2000). *WHO Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumours of Digestive System Lyon, France: IARC Pres, 204.*
8. Tüzüner M.B., 2008, “ Östrojen Metabolizması Genlerinden CYP17 ve CYP19 polimorfizmlerinin Meme Kanseri ile İlişkisinin İncelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
9. Frederick L. Grene (Ed) (2002) *AJCC Cancer Staging Manual. 6th ed. New York: Springer-Verlag;.*
10. <http://www.cancerstaging.org/mission/whatis.html> erişim: 19.05.2009
11. Young J.L. Jr, Roffers S.D., Ries L.A.G., Fritz A.G., Hurlbut A., (Eds). (2001) *SEER Summary Staging Manual – 2001: Codes and Coding Instructions. Bethesda, MD: National Cancer Institute NIH Pub. No. 01-4969.*
12. Ferlay J., Bray F., Pisani P., Parkin D. M. (Eds), (2004) *GLOBOCAN 2002: cancer incidence, mortality and prevalence worldwide. IARC CancerBase No. 5. version 2.0. Lyon: IARC Press.*
13. <http://www.cancer.gov/cancertopics/types/breast> erişim : 26.05.2009
14. Washbrook E. (2006) Risk factors and epidemiology of breast cancer. *Women’s Health Medicine 3 (1)*, 8-14.

15. http://www.cancer.org/downloads/stt/Probability_of_Developing_Invasive_Cancers_Over_Selected_Age_Intervals_by_Sex_US_1999-2001.pdf erişim: 26.05.2009
16. Key T.J., Verkasalo P.K., Banks E. (2001) Epidemiology of breast cancer. *Lancet Oncol* **2**, 133–40.
17. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. (1997) Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52,705 women with breast cancer and 108,411 women without breast cancer. *Lancet* **350**: 1047–59.
18. Hunter D.J., Spiegelman D., Adami H.O et al. (1997) Non-dietary factors as risk factors for breast cancer, and as effect modifiers of the association of fat intake and risk of breast cancer. *Cancer Causes Control* **8**, 49–56.
19. Kelsey J.L, Bernstein L . (1996) Epidemiology and prevention of breast cancer. *Annu Rev Public Health* **17**, 47–67.
20. Liu Q., Wu J., Lambe M. et al. (2002) Transient increase in breast cancer risk after giving birth: postpartum period with the highest risk (Sweden). *Cancer Causes Control* **13**, 299–305.
21. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. (2002) Breast cancer and breastfeeding: collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50302 women with breast cancer and 96973 women without the disease. *Lancet*; **360**: 187–95.
22. Ewertz M., Duffy S.W., Adami H. O. et al. (1990) Age at first birth, parity and risk of breast cancer: a meta-analysis of 8 studies from the Nordic countries. *Int J Cancer* **46**, 597–603.
23. Lipworth L., Bailey R., (2000) Trichopoulos D. History of breast-feeding in relation to breast cancer risk: a review of the epidemiologic literature. *J Natl Cancer Inst* **92**, 302–312.
24. Singletary K.W., Gapstur S.M. (2001) Alcohol and breast cancer: review of epidemiologic and experimental evidence and potential mechanisms. *JAMA* **286**, 2143–51.
25. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. (2002) Alcohol, tobacco and breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 53

- epidemiological studies, including 58,515 women with breast cancer and 95,067 women without the disease. *Br J Cancer* **87**: 1234–45.
26. Willett W.C., Stampfer M.J., Colditz G.A. et al. (1987) Moderate alcohol consumption and the risk of breast cancer. *N Engl J Med* **316**, 1174–80.
 27. Terry P., Suzuki R., Hu F.B., Wolk A. (2001) A prospective study of major dietary patterns and the risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **10**, 1281–5.
 28. Lahmann P.H., Hoffmann K., Allen N. et al. (2004) Body size and breast cancer risk: findings from the European Prospective Investigation into Cancer And Nutrition (EPIC). *Int J Cancer* **111**, 762–71.
 29. Tehard B., Lahmann P.H., Riboli E., Clavel-Chapelon F.. (2004) Anthropometry, breast cancer and menopausal status: use of repeated measurements over 10 years of follow-up-results of the French E3N women's cohort study. *Int J Cancer* **111**, 264–9.
 30. Magnusson C., Baron J., Persson I. et al. (1998) Body size in different periods of life and breast cancer risk in post-menopausal women. *Int J Cancer* **76**, 29–34.
 31. Bergstrom A., Pisani P., Tenet V. et al. (2001) Overweight as an avoidable cause of cancer in Europe. *Int J Cancer* **91**, 421–30.
 32. Key T.J., Appleby P.N., Reeves G.K., et al. (2003) Endogenous Hormones Breast Cancer Collaborative Group. Body mass index, serum sex hormones, and breast cancer risk in postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst* **95**, 1218–26.
 33. Friedenreich C.M., Courneya K.S., Bryant H.E. (2001) Influence of physical activity in different age and life periods on the risk of breast cancer. *Epidemiology* **12**, 604–12.
 34. Bianchini F., Kaaks R., Vainio H. (2002) Weight control and physical activity in cancer prevention. *Obesity Reviews* **3(1)**, 5-8.
 35. Reynolds P., Hurley S., Goldberg D.E. et al. (2004) Active smoking, household passive smoking, and breast cancer: evidence from the California Teachers Study. *J Natl Cancer Inst* **96**, 29–37.

36. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. (1996) Breast cancer and hormonal contraceptives. collaborative reanalysis of individual data on 53 297 women with breast cancer and 100 239 women without breast cancer from 54 epidemiological studies. *Lancet* **347**, 1713–27.
37. Million Women Study Collaborators. (2003) Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet* **362**, 419–27.
38. Writing Group for the Women’s Health Initiative Investigators. (2002) Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy post-menopausal women: principal results from the Women’s Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* **288**, 321–33.
39. Olsson H.L., Ingvar C., Bladstrom A. (2003) Hormone replacement therapy containing progestins and given continuously increases breast carcinoma risk in Sweden. *Cancer* **97**, 1387–92.
40. Li C. I., Malone K.E., Porter P.L. et al. (2003) Relationship between long durations and different regimens of hormone therapy and risk of breast cancer. *JAMA* **289**: 3254–63.
41. Vacek P.M., Geller B.M. (2004) A prospective study of breast cancer risk using routine mammographic breast density measurements. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **13(5)**, 715-722.
42. Lerman C., Kash K., Stefanek M. (1994) Young women at increased risk of breast cancer: perceived risk, psychological well-being and surveillance behaviour. *J Natl Cancer Inst Monogr* **16**, 171–6.
43. Pandey A., Singh A. K., Maurya S. Kumar., et al. (2009) Genomic Profiling of Breast Cancer. *Journal of Surgical Oncology*, 1-7.
44. James H.C.R., Quinn J.E., Mullan P.B., et al. (2007) BRCA1, a potential predictive biomarker in the treatment of breast cancer. *Oncologist* **12**, 142–150.
45. Perou C.M., Sørlie T., Eisen M.B., et al. (2000) Molecular portraits of human breast tumors. *Nature* **406**, 747–752.
46. Elledge R.M., Allred D.C. (1994) The p53 tumor suppressor gene in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* **32**, 39–47.

47. Varley J. (2003) TP53, hChk2, and the Li-Fraumeni syndrome. *Methods Mol Biol* **222**, 117–129.
48. Pylkas K., Erkkö H., Nikkila J., et al. (2008) Analysis of large deletions in BRCA1, BRCA2 and PALB2 genes in Finnish breast and ovarian cancer families. *BMC Cancer* **8**, 146
49. Miki Y., Swensen J., Shattuck-Eidens D., et al. (1994) A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science* **266**, 66–71.
50. Thompson D., Easton D. (2004) The genetic epidemiology of breast cancer genes. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* **9**, 221–236.
51. Thomassen M., Hansen T.V., Borg A., et al. (2008) BRCA1 and BRCA2 mutations in Danish families with hereditary breast and/or ovarian cancer. *Acta Oncol* **47**, 772–777.
52. Mills G.B., Lu Y., Fang X., et al. (2001) The role of genetic abnormalities of PTEN and the phosphatidylinositol 3-kinase pathway in breast and ovarian tumorigenesis, prognosis, and therapy. *Semin Oncol* **28**, 125–141.
53. Meur N.L., Martin C., Saugier-Verber P., et al. (2004) Complete germline deletion of the STK11 gene in a family with Peutz–Jeghers syndrome. *Eur J Hum Genet* **12**, 415–418.
54. Nakanishi C., Yamaguchi T., Iijima T., et al. (2004) Germline mutation of the LKB1/STK11 gene with loss of the normal allele in an aggressive breast cancer of Peutz-Jeghers syndrome. *Oncology* **67**, 476–479.
55. Prokopcova J., Kleibl Z., Banwell C.M., et al. (2007) The role of ATM in breast cancer development. *Breast Cancer Res Treat* **104**, 121–128.
56. Ahmed K.M., Dong S., Fan M., et al. (2006) Nuclear factor- κ B p65 inhibits mitogen-activated protein kinase signaling pathway in radioresistant breast cancer cells. *Mol Cancer Res* **4**, 945–955
57. Andersen T.I., Gaustad A., Ottestad L., et al. (1992) Genetic alterations of the tumor suppressor gene regions 3p, 11p, 13q, 17p, and 17q in human breast carcinomas. *Genes Chromosomes Cancer* **4**, 113–121.

58. Damjanovich J., Berta A., Beck Z., et al. (2000) Mutation of the Rb1 gene caused unilateral retinoblastoma in early age. *Cancer Genet Cytogenet* **119**, 1–7.
59. Lee W.H., Shew J.Y., Hong F.D., et al. (1987) The retinoblastoma susceptibility gene encodes a nuclear phosphoprotein associated with DNA binding activity. *Nature* **329**, 642–645.
60. Buchkovich K., Duffy L.A., Harlow E. (1989) The retinoblastoma protein is phosphorylated during specific phases of the cell cycle. *Cell* **58**, 1097–1105.
61. Bosco E.E., Knudsen E.S. (2007) RB in breast cancer: At the crossroads of tumorigenesis and treatment. *Cell Cycle* **6**, 667–671.
62. Watts C.K., Brady A., Sarcevic B., et al. (1995) Antiestrogen inhibition of cell cycle progression in breast cancer cells is associated with inhibition of cyclin-dependent kinase activity and decreased retinoblastoma protein phosphorylation. *Mol Endocrinol* **9**, 1804–1813.
63. Foster S.A., Wong D.J., Barrett M.T., et al. (1998) Inactivation of p16 in human mammary epithelial cells by CpG island methylation. *Mol Cell Biol* **18**, 1793–1801.
64. Hurd C., Khattree N., Dinda S., et al. (1997) Regulation of tumor suppressor proteins, p53 and retinoblastoma, by estrogen and antiestrogens in breast cancer cells. *Oncogene* **15**, 991–995.
65. Bosco E.E., Wang Y., Xu H., et al. (2007) The retinoblastoma tumor suppressor modifies the therapeutic response of breast cancer. *J Clin Invest* **117**, 218–228.
66. Buckler A.J., Pelletier J., Haber D.A., et al. (1991) Isolation, characterization, and expression of the murine Wilms' tumor gene (WT1) during kidney development. *Mol Cell Biol* **11**, 1707–1712.
67. Miyoshi Y., Ando A., Egawa C., et al. (2002) High expression of Wilms' tumor suppressor gene predicts poor prognosis in breast cancer patients. *Clin Cancer Res* **8**, 1167–1171.
68. Oji Y., Miyoshi Y., Kiyotoh E., et al. (2004) Absence of mutations in the Wilms' tumor gene WT1 in primary breast cancer. *Jpn J Clin Oncol* **34**, 74–77.

69. Clifford S.C., Maher E.R. (2001) Von Hippel–Lindau disease: Clinical and molecular perspectives. *Adv Cancer Res* **82**, 85–105.
70. Kim M., Katayose Y., Li Q., et al. (1998) Recombinant adenovirus expressing Von Hippel–Lindau-mediated cell cycle arrest is associated with the induction of cyclin-dependent kinase inhibitor p27Kip1. *Biochem Biophys Res Commun* **253**, 672–677.
71. Mukhopadhyay D. (2006) The tumor suppressor von Hippel-Lindau gene product and metastasis: New thoughts on an old molecule. *Am J Pathol* **168**, 367–369.
72. Jandrig B., Seitz S., Hinzmann B., et al. (2004) ST18 is a breast cancer Tumor Suppressor Gene at human chromosome 8q11.2. *Oncogene* **23**, 9295–9302.
73. Xiang S., Coffelt S.B., Mao L., et al. (2008) Period-2: A tumor suppressor gene in breast cancer. *J Circadian Rhythms* **6**, 4.
74. Gentile M., Ahnström M., Schön F., et al. (2001) Candidate tumor suppressor genes at 11q23 ± q24 in breast cancer: Evidence of alterations in PIG8, a gene involved in p53-induced apoptosis. *Oncogene* **20**, 7753–7760.
75. Heinonen H., Nieminen A., Saarela M., et al. (2008) Deciphering downstream gene targets of PI3K/mTOR/p70S6K pathway in breast cancer. *BMC Genomics* **9**, 348.
76. Yarden Y., Sliwkowski M.X. (2001) Untangling the ErbB signaling network. *Nat Rev Mol Cell Biol* **2**, 127–137.
77. Beeghly-Fadiel A., Kataoka N., Shu X.O., et al. (2008) Her-2/neu amplification and breast cancer survival: results from the Shanghai breast cancer study. *Oncol Rep* **19**, 1347–1354.
78. Nagai M.A., da-Ros N., Neto M.M., et al. (2004) Cancer genetics gene expression profiles in breast tumors regarding the presence or absence of estrogen and progesterone receptors. *Int J Cancer* **111**, 892–899.
79. Carole R., Mendelson Daniel B., Hardy J. (2006) Role of the Progesterone Receptor (PR) in the regulation of inflammatory response pathway and aromatase in the Breast. *Steroid Biochem Mol Biol* **102**, 241–249.

80. Huang H.J., Neven P., Drijkoningen M., et al. (2005) Association between tumor characteristics and HER-2/neu by immunohistochemistry in 1362 women with primary operable breast cancer. *J Clin Pathol* **58**, 611–616.
81. Signoretti S., Marcotullio L.D., Richardson A., et al. (2002) Oncogenic role of the ubiquitin ligase subunit Skp2 in human breast cancer. *J Clin Invest* **110**, 633–641.
82. Traub F., Mengel M., Luck H.J., et al. (2006) Prognostic impact of Skp2 and p27 in human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* **99**, 185–191.
83. Ravaioli A., Monti F., Regan M.M., et al. (2008) p27 and Skp2 immunoreactivity and its clinical significance with endocrine and chemoendocrine treatments in node-negative early breast cancer. *Ann Oncol* **19**, 660–668.
84. Von Lintig F.C., Dreilinger A.D., Varki N.M., et al. (2000) Ras activation in human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* **62**, 51–62.
85. Eckert L.B., Repasky G.A., Ullrich A.S., et al. (2000) Involvement of Ras activation in human breast cancer cell signaling, invasion, and anoikis. *Breast Cancer Res Treat* **62**, 51–62.
86. Liao D.J., Dickson R.B. (2000) c-Myc in breast cancer. *Endocr Relat Cancer* **7**, 143–164.
87. Pietilainen T., Lipponen P., Aaltomaa S., et al. (1995) Expression of c-myc proteins in breast cancer as related to established prognostic factors and survival. *Anticancer Res* **15**, 959–964.
88. Deming S.L., Nass S.J., Dickson R.B., et al. (2000) c-Myc amplification in breast cancer: A meta-analysis of its occurrence and prognostic relevance. *Br J Cancer* **83**, 1688–1695.
89. Cuny M., Kramar A., Courjal F., et al. (2000) Relating genotype and phenotype in breast cancer: An analysis of the prognostic significance of amplification at eight different genes or loci and of p53 mutations. *Cancer Res* **60**, 1077–1083.
90. Moullan N., Cox D.G., Ang_ale S., et al. (2003) Polymorphisms in the DNA repair gene XRCC1, breast cancer risk, and response to radiotherapy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **12**, 1168–1174.

91. Brewster A.M., Jorgensen T.J., Ruczinski I., et al. (2006) Polymorphisms of the DNA repair genes XPD (Lys751Gln) and XRCC1 (Arg399Gln and Arg194Trp): Relationship to breast cancer risk and familial predisposition to breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* **95**, 73–80.
92. Zhang L., Zhang Z., Yan W. (2005) Single nucleotide polymorphisms for DNA Repair Genes in breast cancer patients. *Clin Chim Acta* **359**, 150–155.
93. Bernard-Gallon D., Bosviel R., Delort L., et al. (2008) DNA repair gene ERCC2 polymorphisms and associations with breast and ovarian cancer risk. *Mol Cancer* **7**, 36.
94. Leung H.Y., Yun-Wang Y., Leung L.K. (2007) Differential effect of overexpressing UGT1A1 and CYP1A1 on xenobiotic assault in MCF-7 cells. *Toxicology* **242**, 153–159.
95. <http://www.mayoclinic.com/health/breastcancer/DS00328/DSECTION=treatments-and-drugs>. erişim : 26.05.2009
96. Rennick, B.R. et al. (1947). *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **91**, 210–217
97. Burchenal, J.H., Robinson, E. (1950) The induction of resistance to 4-amino-N¹⁰-methylpteroylglutamic acid in a strain of transmitted mouse leukemia. *Science*, **111(2875)**, 116
98. Raguz S., Randle R. A., Sharpe E. R., et al. (2008) Production of P-glycoprotein from the MDR1 upstream promoter is insufficient to affect the response to first-line chemotherapy in advanced breast cancer. *Int. J. Cancer* **122**, 1058–1067
99. Juliano, R.L. & Ling, V. (1976) *Biochim. Biophys. Acta* **455**, 152–162
100. http://www.nature.com/nbt/journal/v18/n10s/full/nbt1000_IT18.html. erişim 03.07.2009
101. Riordan, J.R. & Ling, V. (1979) *J. Biol. Chem.* **254**, 12701–12705.
102. Debenham, P.G. et al. (1982) *Mol. Cell Biol.* **2**, 881–889.
103. Riordan, J.R. et al. (1985) *Nature* **316**, 817–819
104. Zhou S.F. (2008) Structure, function and regulation of P-glycoprotein and its clinical relevance in drug disposition. *Xenobiotica*, **38(7–8)**, 802–832
105. Ho G.T., Soranzo N., Nimmo E.R., et al. (2006) ABCB1/MDR1 gene determines susceptibility and phenotype in ulcerative colitis: Discrimination

- of critical variants using a gene-wide haplotype tagging approach. *Human Molecular Genetics* **15**, 797–805.
106. Drozdziak M., Bialecka M., Mysliwiec K., et al. (2003) Polymorphism in the P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene: A possible link between environmental and genetic factors in Parkinson's disease. *Pharmacogenetics* **13**, 259–263.
 107. Furuno T., Landi M.T., Ceroni M., et al. (2002) Expression polymorphism of the blood–brain barrier component P-glycoprotein (MDR1) in relation to Parkinson's disease. *Pharmacogenetics* **12**, 529–534.
 108. Lee C.G., Tang K., Cheung Y.B., et al. (2004) MDR1, the blood–brain barrier transporter, is associated with Parkinson's disease in ethnic Chinese. *Journal of Medicine and Genetics* **41**, 60.
 109. Krupoves A., Seidman E.G., Mack D., (2009) Associations between ABCB1/MDR1 gene polymorphisms and Crohn's disease: a gene-wide study in a pediatric population. *Inflamm Bowel Dis.* **15(6)**, 900-8.
 110. Miller KL, Kelsey KT, Wiencke JK, et al. (2005) The C3435T polymorphism of MDR1 and susceptibility to adult glioma. *Neuroepidemiology* **25(2)**, 85-90. Epub 2005 Jun 8.
 111. Semsei Á. F., Erdélyi D. J., Ungvári I., et al. (2008) Association of some rare haplotypes and genotype combinations in the *MDR1* gene with childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Leuk Res.* **32(8)**, 1214-20.
 112. Jamroziak K., Młynarski W., Balcerczak E., et al. (2004) Functional C3435T polymorphism of MDR1 gene: an impact on genetic susceptibility and clinical outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Eur J Haematol* **72**, 314–321
 113. Tahara T., Arisawa T., Shibata T., et al. (2007) Multi-drug resistance 1 polymorphism is associated with reduced risk of gastric cancer in the Japanese population. *J Gastroenterol Hepatol.* **22(10)**, 1678-82.
 114. Turgut S., Yaren A., Kursunluoglu R., et al. (2007) MDR1 C3435T Polymorphism in Patients with Breast Cancer. *Archives of Medical Research* **38**, 539-544

115. Tatari F., Salek R., Mosaffa F., (2009) Association of C3435T single-nucleotide polymorphism of MDR1 gene with breast cancer in an Iranian population. *DNA Cell Biol.* **28(5)**, 259-63
116. <http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/life-science/biochemicals0/drug-metabolism-tech/figure-1.Par.0001.Image.-1.-1.1.gif>. Erişim 07.07.2009
117. Sarkadi B. Z., Homolya L. S., Gergely S. C., et al. (2006) Human Multidrug Resistance ABCB and ABCG Transporters: Participation in a Chemoimmunity Defense System. *Physiol Rev* **86**, 1179–1236.
118. Hyde S.C., Emsley P., Hartshorn M.J., et al. (1990) Structural model of ATP-binding proteins associated with cystic fibrosis, multidrug resistance and bacterial transport. *Nature* **346**, 362–365.
119. Walker J.E., Saraste M., Runswick M.J., (1982) Distantly related sequences in the alpha- and beta-subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide binding fold. *EMBO J* **1**, 945–951.
120. Kim I., Peng X., Sauna Z.E., FitzGerald P.C., (2006) The conserved Tyrosine Residues 401 and 1044 in ATP Sites of Human P-Glycoprotein Are Critical for ATP Binding and Hydrolysis: Evidence for a Conserved Subdomain, the A-Loop in the ATP-Binding Cassette. *Biochemistry* **45 (24)**, 7605–7616.
121. Chang G. (2003) Multidrug resistance ABC transporters. *FEBS Lett* **555**, 102–105.
122. Chang G. and Roth C.B. (2001) Structure of MsbA from *E. coli*: a homolog of the multidrug resistance ATP binding cassette (ABC) transporters. *Science* **293**, 1793–1800.
123. Jones PM and George AM. (2004) The ABC transporter structure and mechanism: perspectives on recent research. *Cell Mol Life Sci* **61**, 682–699,.
124. Locher K.P. (2004) Structure and mechanism of ABC transporters. *Curr Opin Struct Biol* **14**, 426–431.
125. Deeley R.G., Westlake C., and Cole S.P.C. (2006) Transmembrane transport of endo- and xenobiotics by the ATP binding cassette multidrug resistance proteins (MRPs). *Physiol Rev* **86**, 849–899.

126. Armstrong S., Taberero L., Zhang H., et al. (1998) Powering the ABC transporters: the 2.5 Å crystal structure of the ABC domain of RBSA. *Pediatr Pulmonol* **17**, 91–92.
127. Hung L.W., Wang I.X., Nikaido K., et al. (1998) Crystal structure of the ATP-binding subunit of an ABC transporter. *Nature* **396**, 703–707.
128. Zaitseva J., Jenewein S., Jumpertz T., et al. (2005) H662 is the linchpin of ATP hydrolysis in the nucleotide-binding domain of the ABC transporter HlyB. *EMBO J* **24**, 1901–1910.
129. Hopfner K.P., Karcher A., Shin D.S., et al. (2000) Structural biology of Rad50 ATPase: ATP-driven conformational control in DNA double-strand break repair and the ABC-ATPase superfamily. *Cell* **101**, 789–800.
130. Jones P.M. and George A.M. (1999) Subunit interactions in ABC transporters: towards a functional architecture. *FEMS Microbiol Lett* **179**, 187–202.
131. Smith P.C., Karpowich N., Millen L., et al. (2002) ATP binding to the motor domain from an ABC transporter drives formation of a nucleotide sandwich dimer. *Mol Cell* **10**, 139–149.
132. Chen J., Lu G., Lin J., et al. (2003) A tweezerslike motion of the ATP-binding cassette dimer in an ABC transport cycle. *Mol Cell* **12**, 651–661.
133. Karpowich N., Martsinkevich O., Millen L., et al. (2001) Crystal structures of the MJ1267 ATP binding cassette reveal an induced-fit effect at the ATPase active site of an ABC transporter. *Structure* **9**, 571–586.
134. Yuan Y.R., Blecker S., Martsinkevich O., et al. The crystal structure of the MJ0796 ATP-binding cassette. Implications for the structural consequences of ATP hydrolysis in the active site of an ABC transporter. *J Biol Chem* **276**, 32313–32321.
135. Lee J.Y., Urbatsch I.L., Senior A.E., et al. (2002) Projection structure of P-glycoprotein by electron microscopy. Evidence for a closed conformation of the nucleotide binding domains. *J Biol Chem* **277**, 40125–40131.
136. Rosenberg M.F., Kamis A.B., Callaghan R., (2003) Three-dimensional structures of the mammalian multidrug resistance P-glycoprotein

- demonstrate major conformational changes in the transmembrane domains upon nucleotide binding. *J Biol Chem* **278**, 8294–8299.
137. Rosenberg M.F., Velarde G., Ford R.C., et al. (2001) Repacking of the transmembrane domains of P-glycoprotein during the transport ATPase cycle. *EMBO J* **20**, 5615–5625.
 138. Chang G. and Roth C.B. (2001) Structure of MsbA from *E. coli*: a homolog of the multidrug resistance ATP binding cassette (ABC) transporters. *Science* **293**, 1793–1800.
 139. Robey R.W., Steadman K., Polgar O., et al. (2004) Pheophorbide A is a specific probe for ABCG2 function and inhibition. *Cancer Res* **64**, 1242–1246.
 140. Rosenberg M.F., Callaghan R., Modok S., et al. (2005) Three-dimensional structure of P-glycoprotein: the transmembrane regions adopt an asymmetric configuration in the nucleotidebound state. *J Biol Chem* **280**, 2857–2862.
 141. Chinn L.W., Kroetz D.L. (2007) ABCB1 pharmacogenetics: Progress, pitfalls, and promise. *Clinical Pharmacology and Therapy* **81**, 265–269.
 142. Venter J.C., Adams M.D., Myers E.W., et al. (2001) The sequence of the human genome. *Science* **291(5507)**, 1304–51.
 143. Sakaeda T (2005) Drug Metab. *Pharmacokinet* **20**, 391–414.
 144. Kast C., Canfield V., Levenson R., and Gros P. (1995) Membrane topology of P-glycoprotein as determined by epitope insertion: transmembrane organization of the N-terminal domain of mdr3. *Biochemistry* **34**, 4402–4411.
 145. Kast C., Canfield V., Levenson R., and Gros P. (1996) Transmembrane organization of mouse P-glycoprotein determined by epitope insertion and immunofluorescence. *J Biol Chem* **271**, 9240–9248.
 146. Chen C.J., Chin J.E., Ueda K., et al. (1986) Internal duplication and homology with bacterial transport proteins in the mdr1 (P-glycoprotein) gene from multidrug-resistant human cells. *Cell* **47**, 381–389.
 147. Rosenberg M.F., Callaghan R., Modok S., et al. (2005) Three-dimensional structure of P-glycoprotein: the transmembrane regions adopt an asymmetric configuration in the nucleotidebound state. *J Biol Chem* **280**, 2857–2862.

148. Schinkel A.H. (1997) The physiological function of drug-transporting P-glycoproteins. *Semin Cancer Biol* **8**, 161-170.
149. Hitchins R.N., Harman D.H., Davey R.A., et al. (1988) Identification of a multidrug resistance associated antigen (P-glycoprotein) in normal human tissues. *Eur J Cancer Clin Oncol* **24**, 449-454.
150. Kioka N., Tsubota J., Kakehi Y., et al. (1989) P-glycoprotein gene (MDR1) cDNA from human adrenal: normal P-gp carries Gly185 with an altered pattern of multidrug resistance. *Biochem Biophys Res Commun* **162(1)**, 224-231.
151. Lescziner G., Zabaneh D., Pirmohamed M., et al. (2006) Exon sequencing and high resolution haplotype analysis of ABC transporter genes implicated in drug resistance. *Pharm and Genomic* **16**, 439- 450.
152. Kerb R. (2006) Implications of genetic polymorphisms in drug transporters for pharmacotherapy. *Cancer Lett* **234(1)**, 4-33.
153. Fung K. L., Gottesman M. M. (2009) A synonymous polymorphism in a common MDR1 (ABCB1) haplotype shapes protein function. *Biochimica et Biophysica Acta* **1794**, 860–871.
154. Krivulcik T., Sedlak J., Bartosova Z. (2009) Frequency of the three most common polymorphisms in the MDR1 gene in Slovak population. *Neoplasma*. **56(2)**, 101-7.
155. Dong Q., Xu B., Tan Y. (2008) The genetic variability of MDR1 C3435T polymorphisms in four Southern Chinese populations. *Biomed Pharmacother*.
156. Sinués B., Vicente J., Fanlo A. (2008) CYP3A5 3, CYP3A4 1B and MDR1 C3435T genotype distributions in Ecuadorians. *Dis Markers*. **24(6)**, 325-31
157. Schaeffeler E., Eichelbaum M., Brinkmann U., et al. (2001) Frequency of C3435T polymorphism of *MDR1* gene in African people. *Lancet* **358**, 383–84
158. Gümüş-Akay G., Rüstemoğlu A., Karadağ A. et al. (2008) Genotype and allele frequencies of *MDR1* gene C1236T polymorphism in a Turkish population. *Genetics and Molecular Research* **7 (4)**, 1193-1199.

159. Aapro M. (2001) Adjuvant therapy of primary breast cancer: a review of key findings from the 7th International Conference, St. Gallen, February 2001. *Oncologist* **6**, 376-385.
160. Hoffmann J., Sommer A. (2005) Steroid hormone receptors as targets for the therapy of breast and prostate cancer recent advances, mechanisms of resistance, and new approaches. *J Steroid Biochem Mol. Biol.* **93**, 191-200.
161. Larkin A., O'Driscoll L., Kennedy S., et al. (2004) Investigation of MRP-1 protein and MDR-1 P-glycoprotein expression in invasive breast cancer: a prognostic study. *Int J Cancer* **112**, 286-294.
162. Lohrisch C., Piccart M. (2001) An overview of HER2. *Semin Oncol* **18**, 3-11
163. Dumitrescu R.G., Cotarla I. (2005) Understanding breast cancer risk where do we stand in 2005? *J Cell Mol Med* **9**, 208-221.
164. Borst P., Elfering R.O. (2002) Mammalian ABC transporters in health and disease. *Annu Rev Biochem* **71**, 537-592.
165. Gottesman M.M., Pastan I., Ambudkar S.V. (1996) P-glycoprotein and multidrug resistance. *Curr Opin Genet Dev* **6**, 610-617.
166. Reinhold K. (2006) Implications of genetic polymorphisms in drug transporters for pharmacotherapy. *Cancer Letters* **234**, 4-33
167. Kioka N., Tsubota J., Kakehi Y., et al. (1989) P-glycoprotein gene (MDR1) cDNA from human adrenal: normal P-glycoprotein carries Gly 185 with an altered pattern of multidrug resistance. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **162** 224-231.
168. Mickley L.A., Lee J.S., Weng Z., et al. (1998) Genetic polymorphism in MDR-1: a tool for examining allelic expression in normal cells, unselected and drug-selected cell lines, and human tumors, *Blood* **91**, 1749-1756.
169. Sakurai A., Onishi Y., Hirano H., et al. (2007) Quantitative structure-activity relationship analysis and molecular dynamics simulation to functionally validate nonsynonymous polymorphisms of human ABC transporter ABCB1 (Pglycoprotein/ MDR1). *Biochemistry* **46**, 7678-7693.

170. Zhou Y., Gottesman M.M., Pastan I. The extracellular loop between TM5 and TM6 of P-glycoprotein is required for reactivity with monoclonal antibody UIC2, *Arch. Biochem. Biophys.* **367**, 74–80.
171. Ambudkar S.V., Kimchi-Sarfaty C., Sauna Z.E., et al. (2003) P-glycoprotein : from genomics to mechanism. *Oncogene* **22**, 7468–7485
172. Ambudkar S.V., Dey S., Hrycyna C.A. et al (1999) Biochemical, cellular, and pharmacological aspects of the multidrug transporter, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **39**, 361–398
173. Ambudkar S.V., Kim I.W., Sauna Z.E., (2006) The power of the pump: mechanisms of action of P-glycoprotein (ABCB1), *Eur. J. Pharm. Sci.* **27**, 392–400.
174. Alpman A., (2007) “Dirençli Epilepsi Olgularında MDR1 Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması”, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
175. Juyal G., Midha V., Amre D. et al. (2009) Associations between common variants in the MDR1 (ABCB1) gene and ulcerative colitis among North Indians. *Pharmacogenet Genomics.* **19(1)**, 77-85
176. Siegsmond M., Brinkmann U., Ffeler E. S. et al. (2002) Association of the P-Glycoprotein Transporter *MDR1C3435T* Polymorphism with the Susceptibility to Renal Epithelial Tumors. *J Am Soc Nephrol* **13**, 1847–1854.
177. Kurzawski M., Droz’dzik M., Suchy J.. et al. (2005) Polymorphism in the P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene in colon cancer patients. *Eur J Clin Pharmacol* **61**, 389–394
178. Osswald E., Johne A., Laschinski G., et al. (2007) Association of MDR1 genotypes with susceptibility to colorectal cancer in older non-smokers. *Eur J Clin Pharmacol* **63**, 9–16.
179. Ameyaw M.M., Regateiro F., Li T. et al (2001) MDR1 pharmacogenetics: frequency of the C3435T mutation in exon 26 significantly influenced by ethnicity. *Pharmacogenetics* **11**, 217– 221
180. Wielandt A.M., Vollrath V., Chianale J (2004) Polymorphisms of the MDR1 gene in Mapuche, Mestizo and Maori populations in Chile. *Rev Med Chil* **132**, 1061–1068

181. Farnood A., Naderi N., Moghaddam S.J., et al (2007) The frequency of C3435T MDR1 gene polymorphism in Iranian patients with ulcerative colitis. *Int J Colorectal Dis.* **22**, 999-1003.
182. Li Y., Wang Y., Sun J. et al. (2006) Distribution of the functional MDR1 C3435T polymorphism in the Han population of China. *Swiss Med Wkly* **136**, 377–382
183. Jamroziak K., Balcerczak E., Mlynarski W. et al. (2002) Distribution of allelic variants of functional C3435T polymorphism of drug transporter MDR1 gene in a sample of Polish population. *Pol J Pharmacol* **54**, 495–500
184. Sakaeda T., Nakamura T., Horinouchi M. et al. (2001) MDR1 genotype-related pharmacokinetics of digoxin after single oral administration in healthy Japanese subjects. *Pharm Res* **18**,1400-1404
185. Vicente J., Blanca Sinues A., Vasquez F. P. (2008) Polymorphism C3435T of the MDR1 gene in Central Americans and Spaniards. *Mol Biol Rep* **35**, 473–478
186. Balram C., Sharma A., Sivathasan C. et al. (2003) Frequency of C3435T single nucleotide MDR1 genetic polymorphism in an Asian population: phenotypic-genotypic correlates. *Br J Clin Pharmacol* **56**, 78–83.
187. Cascorbi I., Gerloff T., Johne A. et al. (2001) Frequency of single nucleotide polymorphisms in the P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene in white subjects. *Clin Pharmacol Ther* **69**, 169–174
188. Ramasamy K., Sisy Sam S., Chandrasekaran A. (2006) Allele and genotype of MDR1 C3435T in Tamilian population. *Drug Metab Pharmacokinet* **21**, 506–508
189. Gaikovitch E.A., Cascorbi I., Mrozkiewicz P.M. et al (2003) Polymorphisms of drug-metabolizing enzymes CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP1A1, NAT2 and of P-glycoprotein in a Russian population. *Eur J Clin Pharmacol* **59**, 303–312
190. Pechandova K., Buzkova H., Slanar O. et al (2006) Polymorphisms of the MDR1 gene in the Czech population. *Folia Biol (Praha)* **52**, 184–189

191. Turgut S., Turgut G., Atalay E. O. (2006) Genotype and allele frequency of human multidrug resistance (MDR1) gene C3435T polymorphism in Denizli province of Turkey. *Mol Biol Rep* **33**, 295–300
192. Sapmaz A., Özen Karataylı S. C., Dağlı Ü., et al. (2008) Effects of polymorphism in G2677T/A triallelic region of MDR1 gene in Turkish patients with inflammatory bowel disease. **19 (3)**, 168-173.
193. Gümüş Akay G., Rüstemoğlu A., Karadağ A., et al. (2008).Genotype and allele frequencies of *MDR1* gene C1236T polymorphism in a Turkish population. *Genetics and Molecular Research* **7 (4)**, 1193-1199
194. Ryu H.C., Kwon H.Y., Choi I.K., et al. (2006) Analyses of single nucleotide polymorphisms and haplotype linkage of the human ABCB1 (MDR1) gene in Korean. *Arch Pharm Res.* **29(12)**, 1132-9