

**T.C.**  
**SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**ISPARTA YÖRESİNDEKİ MEME KANSERİ VAKALARINDA**  
**SİTOGENETİK BULGULAR**

**Dilek AŞCI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Nurten ÖZÇELİK**

**2011-İSPARTA**

**T.C.**  
**SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**ISPARTA YÖRESİNDEKİ MEME KANSERİ VAKALARINDA**  
**SİTOGENETİK BULGULAR**

**Dilek AŞCI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Nurten ÖZÇELİK**

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim**  
**Birimi tarafından 2170-YL-10 Proje numarası ile desteklenmiştir**  
**Tez. No: 71**

**2011-İSPARTA**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı** Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 29/07/ 2011

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Nurten ÖZÇELİK.....

Üye : Prof. Dr. Sıtkı ÖZTAŞ.....

Üye : Yrd. Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR.....

ONAY: Bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Fehmi ÖZGÜNER  
Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresince danışmanlığımı üstlenen, değerli görüş ve bilgileri ile beni yönlendiren, desteğini her zaman hissettiğim Anabilim Dalı Başkanımız saygıdeğer hocam Sayın Prof. Dr. Nurten ÖZÇELİK'e,

Bütün çalışmalarım boyunca ilgi ve yardımını esirgemeyen, tezimin her aşamasında büyük emeği olan Sayın Yrd. Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR'a,

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Sayın Prof. Dr. H. Ramazan YILMAZ'a, Sayın Doç. Dr. Efkan UZ'a, Sayın Yrd. Doç. Dr. Nilüfer ŞAHİN CALAPOĞLU'na,

Verilerimin istatistiksel değerlendirilmesinde bana yol gösteren Halk Sağlığı Öğretim üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Yonca SÖNMEZ'e

Laboratuvar çalışmalarım ve tezimin yazım aşamasında yardımlarını esirgemeyen asistan arkadaşlarım Arş. Gör. Esin SAKALLI ÇETİN'e, Arş. Gör. Ayşe YİĞİT'e ve yüksek lisans öğrencileri Pınar YILDIRIM ve Gülçin YAVUZ'a

Çalışmaya mali destek veren Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimine (2170-YL-10),

Attığım her adımda, aldığım her kararda ve yaptığım her seçimde anlayış, destek ve sonsuz sevgileriyle yanımda olan ve bugünlere gelmemi sağlayan sevgili aileme,

Akademik çalışmalarımda bana destek olan, her zaman yanımda olduğunu hissettiren ve bundan sonra yanımda olmasını istediğim nişanlım Erdal ÇELİK'e

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

<b>KABUL VE ONAY SAYFASI</b> .....	<b>i</b>
<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>ii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iii</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	<b>iv</b>
<b>TABLolar DİZİNİN</b> .....	<b>v</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>vi</b>
<b>RESİMLER DİZİNİ</b> .....	<b>vii</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1. Meme Kanseri Tanımı ve Oluşum Mekanizması.....	3
2.2. Meme Kanseri Epidemiyolojisi .....	4
2.3. Meme Kanseri Gelişiminde Etkili Olan Risk Faktörleri.....	6
2.4. Meme Kanseri Genetiği .....	14
2.4.1. Meme Kanserinde Etkili Olan Genler.....	15
2.4.2. Meme Kanserinde Etkili Olan Onkogenler.....	20
2.5. Kardeş Kromatid Değişimi .....	22
2.6. Mikronükleus Yöntemi .....	24
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	<b>27</b>
3.1. Gereç .....	27
3.2. Yöntem.....	31
3.2.1. Kültürün Oluşturulması.....	31
3.2.2. Çıkarım.....	32
3.2.3. Kardeş Kromatid Değişimi ve Mikronükleus Boyama Tekniği .....	34
3.2.4. Kardeş Kromatid Değişiminin Değerlendirilmesi .....	35
3.2.5. Proliferasyon İndeksinin (PI) Saptanması.....	36
3.2.6. Mikronükleus Oranının Değerlendirilmesi .....	38
3.2.7. İstatistik Yöntem .....	39
3.2.8. Fotoğrafik İşlemler.....	39
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>40</b>
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	<b>56</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>64</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>65</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>66</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>ATM</b>	: Mutant Ataksi-Telanjiektazi
<b>BRCA1</b>	: Breast Cancer Susceptibility Gene 1
<b>BRCA2</b>	: Breast Cancer Susceptibility Gene 2
<b>BrdU</b>	: 5- Bromo- 2- deoksiuridin
<b>CDK</b>	: Sikline Bağımlı Kinazlar (CDK)
<b>Cyt-B</b>	: Cytochalasin-B
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik Asit
<b>dT</b>	: Deoksitimidin
<b>dU</b>	: Deoksiuridin
<b>EGF</b>	: Epidermal Büyüme Faktör
<b>EGPR</b>	: Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü
<b>ER</b>	: Östrojen Reseptörü
<b>gr</b>	: Gram
<b>KCl</b>	: Potasyum Klorür
<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	: Potasyum Dihidrojen Fosfat
<b>KKD</b>	: Kardeş Kromatid Değişimi
<b>M</b>	: Molar
<b>mg</b>	: Miligram
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>MN</b>	: Mikronükleus
<b>NaHPO<sub>4</sub></b>	: Sodyum Fosfat
<b>nm</b>	: Nanometre
<b>Ort.</b>	: Ortalama
<b>PI</b>	: Proliferasyon İndeksi
<b>Ss</b>	: Standart Sapma
<b>µg</b>	: Mikrogram
<b>µl</b>	: Mikrolitre
<b>°C</b>	: Derece Santigrat

## TABLolar DİZİNİN

<b>Tablo 1.</b> Dünyada kadınlarda en sık karşılaşılan kanser türleri .....	4
<b>Tablo 2.</b> Türkiye’de kadınlarda en sık görülen kanser türleri .....	5
<b>Tablo 3.</b> BRCA1/2 mutasyon taşıyıcılarında yaşam boyu kanser gelişme riski .....	18
<b>Tablo 4.</b> Herediter meme kanseri sendromları .....	20
<b>Tablo 5.</b> Hasta grubunun demografik özellikleri.....	41
<b>Tablo 6.</b> Birinci derece yakınların demografik özellikleri .....	42
<b>Tablo 7.</b> Kontrol grubunun demografik özellikleri .....	43
<b>Tablo 8.</b> Grupların yaş, menarş yaşı, çocuk sayısı ve emzirme sürelerine göre değerlendirilmesi.....	44
<b>Tablo 9.</b> Grupların ortalama KKD, PI ve MN değerleri.....	45
<b>Tablo 10.</b> KKD, PI ve MN değerlerinin gruplar arasında istatistiksel karşılaştırılması .....	48
<b>Tablo 11.</b> KKD’nin gruplarda yaş, menarş yaşı, çocuk sayısı ve emzirme süresi ile korelasyonu .....	49
<b>Tablo 12.</b> MN’nin gruplarda yaş, menarş yaşı, çocuk sayısı ve emzirme süresi ile korelasyonu .....	49

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1.</b> Yıllara göre en sık görülen kanserler YSH*, kadın, Türkiye .....	6
<b>Şekil 2.</b> Kardeş kromatid değişiminin olduğu ve olmadığı durumun şematik olarak gösterilmesi .....	36
<b>Şekil 3.</b> BrdU'in DNA yapısına girmesi ile 1.,2. ve 3. mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerin ayırt edilmesinin şematik olarak açıklanması .....	38
<b>Şekil 4.</b> Ortalama KKD değerlerinin gruplara göre dağılımı.....	46
<b>Şekil 5.</b> MN sıklığının gruplara göre dağılımı .....	47



## RESİMLER DİZİNİ

<b>Resim 1.</b> Hasta grubuna ait metafaz örneği.....	50
<b>Resim 2.</b> Hasta grubuna ait metafaz örneği.....	51
<b>Resim 3.</b> Birinci derece yakınlarla ait metafaz örneği.....	52
<b>Resim 4.</b> Kontrol grubuna ait metafaz örneği.....	53
<b>Resim 5.</b> İnsan periferal lenfositlerinde bir mikronükleus içeren binükleer hücre....	54
<b>Resim 6.</b> İnsan periferal lenfositlerinde iki mikronükleus içeren binükleer hücre....	54
<b>Resim 7.</b> İnsan periferal lenfositlerinde iki mikronükleus içeren binükleer hücre....	55
<b>Resim 8.</b> İnsan periferal lenfositlerinde binükleer hücreler.....	55

## 1. GİRİŞ

Meme kanseri, kanserin sık görülen bir formu olup, çevresel ve genetik faktörlerin etkisi sonucu meydana gelen multifaktöriyel bir hastalıktır (Ford et al., 1998). Kadınlar arasında dünyada en sık görülen kanser türüdür ve tüm kanserlerin yaklaşık %30'unu oluşturmaktadır (Greenlee et al., 2000). Meme kanseri oluşumunda etkili olan risk faktörleri arasında, ileri yaş, erken menarş, geç menopoz, dışarıdan östrojen alınması, hiç doğurmamış olmak ya da ilk doğumunu 30 yaşından sonra yapmak, ailede meme kanseri hikayesi olması, artmış vücut-kitle indeksi, tümör baskılayıcı genler ve Deoksiribonükleik Asit (DNA) tamir genlerindeki çeşitli mutasyonlar, iyonize radyasyon ve çevresel kimyasallara maruz kalma, sigara ve alkol kullanımı sayılabilir. Ailesinde meme kanseri olan bireylerde meme kanserine yatkınlık artmaktadır. Özellikle birinci derece akrabalarında (anne, kızkardeş, kızı) meme kanseri olanlarda risk iki katına çıkmaktadır (Henderson 1993).

Meme kanseri gelişimi altında yatan moleküler mekanizmalar tam anlaşılammıştır. Bununla birlikte genel kanı, kanser başlangıcı birikmiş olan genetik hasarların; protoonkogenlerin aktivasyonu ve tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu ile sonuçlanan genetik değişikliklere yol açması yönündedir (Kumaraguruparan et al., 2006). Kanser, hücre ölümü, hücre farklılaşması ve hücre bölünmesini doğrudan ya da dolaylı yollarla kontrol eden çeşitli genlerde meydana gelen genetik ve epigenetik değişimler sonucu oluşur (Sandberg 1991). Bu değişimler, büyük kromozomal değişiklikler sonucu oluşmakta ve sitogenetik olarak tespit edilebilmektedir (Sandberg 1991, Solomon et al., 1991). Meme tümörünün hikayesinin anlaşılmasında, gelişiminin engellenmesinde ve tedavisinde bu genetik değişiklikler ve bunların biyolojik sonuçları kritik öneme sahiptir (Deshpande et al., 2008). Meme karsinomlu hastaların periferal kan lenfositlerinde yapılan sitogenetik analizler, hastalığın karakteristiğinin belirlenmesinde kullanışlı bir test olarak kabul edilmektedir (Hrvoje et al., 2004).

Kardeş Kromatid Değişimi (KKD), çeşitli mutajen ve karsinojenlerin in vivo ve in vitro koşullar altında neden olduğu DNA hasarını saptamayı sağlayan sitogenetik yöntemlerden birisidir. DNA hasarının ve indüklenmiş DNA tamirinin

gösterilmesinde basit, duyarlı ve kısa zamanda sonuç veren bir yöntemdir. Bazı kanser vakalarının erken teşhisi ve evre tespitinde destekleyici faktör olarak düşünülmekte ve kullanılmaktadır (Albertini et al., 2000, Hagmar et al., 2001).

Mikronükleuslar (MN), hücrenin mitoz bölünmesi sırasında ortaya çıkan, esas çekirdeğe dahil olmayan tam kromozom veya asentrik kromozom fragmanlarından köken alan oluşumlardır. Mikronükleus sayısındaki artış, çeşitli ajanların hücrelerde oluşturduğu sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin indirekt göstergesidir (Zijno et al., 1994).

Birçok tümörün gelişmesinde KKD ve MN kromozomal kararsızlığın belirlenmesinde sitogenetik bir belirteç olarak kullanılmaktadır (Aristei et al., 2009). Meme kanserli bireyler ile yapılmış farklı çalışmalarda tümör varlığında artmış KKD ve MN oranları tespit edilmiştir (Roy et al., 2000, Aristei et al., 2009).

Yapılan ön çalışma ile meme kanseri insidansının Isparta ve yöresinde yüksek olduğu görülmesine rağmen, özellikle sitogenetik bulguları yansıtan detaylı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda bu bilgiler ışığında meme kanseri teşhisi konmuş hastalarda ve bunların risk altında olan sağlıklı birinci derece yakınlarında sitogenetik bulguları değerlendirmeyi hedeflemekteyiz.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Meme Kanseri Tanımı ve Oluşum Mekanizması

Meme kanseri, meme dokusunda, normal hücre davranışını düzenleyen mekanizmaların bozulması, buna bağlı olarak hücrelerin kontrolsüz çoğalması ve yayılması sonucu oluşan bir hastalıktır (Berardo et al., 1998, www.cancer.gov.tr, Erişim tarihi: 12.01.2011). Hücre büyümesi ve gelişmesine katılan önemli hücresel yolları etkileyen genetik değişimler ile çok adımlı mekanizmalar sonucu ortaya çıkmaktadır (Osborne et al., 2004). Meme kanserinin nedeni tam olarak bilinmemekle beraber genetik, hormonal ve çevresel faktörlerin meme kanseri oluşumuyla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Topuz 1997). Genetik ve epigenetik aberasyonların birikimi ile ortaya çıkan, patolojik ve klinik olarak heterojen bir hastalıktır (Fookens et al., 2008).

Hücre maligen transformasyon, genetik ve epigenetik değişikliklerin hücre kontrol mekanizmasını bozarak kontrol dışı hücre çoğalmasına yol açmasıyla oluşur. Meme karsinogenezi proto-onkogenler, tümör baskılayıcı genler ve DNA tamir genleri olmak üzere üç gen grubu ile ilişkilidir. Bu genlerin aktivasyonu, inaktivasyonu veya fonksiyonlarının kaybı genetik bir predispozisyonun sonucu olabileceği gibi, fiziksel, kimyasal, biyolojik ve diğer etmenler sonucu da olabilir (Simons 1995, Sakofaras and Glinatsis 1994). Fakat karsinogenetik olaylara neden olan spesifik biyokimyasal ve moleküler mekanizmalar tam olarak açıklanamamıştır.

Meme kanserinde de aynı gerçekler geçerlidir. Karsinogenez mekanizmasında genetik predispozisyon mutlaka etkilidir, fakat kanserli doku oluşumunda genetik etkilerin nasıl işlev gördüğü konusunda bilgimiz sınırlıdır (Göksel 1996). Meme kanseri gelişiminin altında yatan moleküler mekanizmalar da tam olarak anlaşılamamıştır. Bununla birlikte genel kanı, kanser başlangıcı birikmiş olan genetik hasarların; proto-onkogenlerin aktivasyonu ve tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu ile sonuçlanan genetik değişikliklere yol açması yönündedir. Gen yapısında ortaya çıkan değişimleri kontrolsüz hücre proliferasyonu ve/veya programlı hücre ölümünün takip ettiği bildirilmiştir (Kumaraguruparan et al., 2006).

Yapılan çalışmalar ve yeni tedavi modalitelerine rağmen meme kanseri tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de halen önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir.

## 2.2. Meme Kanseri Epidemiyolojisi

Dünyada her yıl yaklaşık 1 milyon yeni meme kanseri teşhisi konulmaktadır. Kadınlarda görülen tüm kanser türlerinin %26 kadarını oluşturur ve en sık rastlanan kanser türüdür (McPherson et al., 2000, American Cancer Society, 2008) (Tablo 1).

**Tablo 1.** Dünyada kadınlarda en sık karşılaşılan kanser türleri

Kanser türü	Yüzde
Meme	26,0
Akciğer ve Bronşlar	14,0
Kolon ve Rektum	10,0
Serviks	6,0
Lenf Düğümü	4,0
Tiroid	4,0
Deri	4,0
Ovaryum	3,0
Serviks	3,0
Böbrek ve Renal pelvis	3,0
Lösemi	3,0
Diğer	23,0

American Cancer Society (2008)'den modifiye edilmiştir.

Kadınlarda görülen dört kanserden biri meme kanseri olup (Özmen 2006), kanserden ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer almaktadır (American Cancer Society, 2010). En yüksek vaka oranı yılda 100 000 kadında 83,6 ile Kuzey Amerika'da en düşük oran ise 11,8 ile Çin'de tespit edilmiştir (Edwards et al., 2005). Avrupa'da 2006 yılı verilerine göre 429 900 meme kanseri tanısı konulmuş ve bunlardan 131 900'ü yaşamını yitirmiştir (Ferlay et al., 2007). Amerika'da olgu sayısı 182 460 olup, meme kanserinden ölen kadın sayısı ise 40480 olarak bildirilmiştir (American Cancer Society, 2008). Kanada'da 2008 yılında yaklaşık 22400 meme kanseri hastası kaydedilmiş ve bunların 5300'ünün ölümle sonuçlandığı bildirilmiştir (Ghadirian et al., 2009). Meme kanseri Polonyalı kadınlar arasında da en yaygın görülen habis kanser olup %6 hayati risk taşımaktadır. Her yıl 12000 yeni meme kanseri hastası tanı almakta ve 5000 ölüme sebep olmaktadır (Jakubowska et al., 2009). Malezya'da kadınlarda görülen kanserlerin %31'ini meme kanseri

oluşturmaktadır. Görülme sıklığı karşılaştırıldığında, 2003 yılında Singapur ve Filipinlerde, Çin, Japonya, Hindistan ve Tayland'a göre daha yüksek insidans gözlenmiştir (Toh et al., 2008). Yip et al. (2009) yaptığı çalışmada Malezya'da her 100 000 kişinin 46,2'sinde, Çin'de 59,9'unda ve Hindistan'da 54,2'sinde meme kanseri görülmektedir. Güney Afrika'da kanserden etkilenen kadınlar arasında meme kanseri yaygın görülen ikinci kanser türüdür ve beyaz kadınların 13'ünden 1'inde, siyah kadınların da 57'sinden 1'inde gelişmektedir (Yip et al., 2009).

Meme kanseri insidansı Türkiye'de artmakta ve kadınlar arasında görülen kanserler içinde %26,58 ile ilk sırada yer almaktadır (www.saglik.gov.tr Erişim tarihi: 04.12.2010) (Tablo 2).

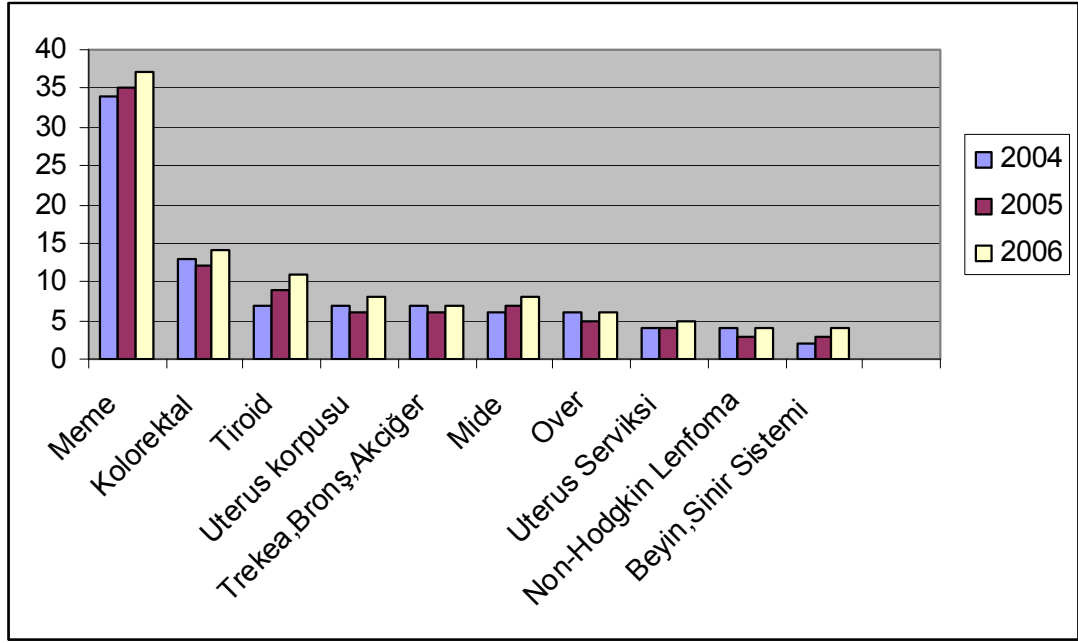
Türkiye'de 1999 yılında 8879 olan meme kanserli kadın sayısı, 2003 yılında 12772'ye yükselmiştir (Aslan ve Gürkan, 2007). Dünya Sağlık Örgütü, Türkiye'deki kadınlarda meme kanserinin 2002 yılında en sık rastlanan kanser türü olduğunu, 2005 yılında da en çok ölüme neden olan kanser tipi olduğunu belirtmiştir (www.who.int Erişim Tarihi: 16.04.2011).

**Tablo 2.** Türkiye'de kadınlarda en sık görülen kanser türleri

Kanser türü	Yüzde
Meme	26,58
Deri	8,01
Mide	5,53
Overyum	5,36
Kalın Bağırsak	4,75
Akciğer ve Bronşlar	4,37
Endometriyum	3,84
Troid	3,76
Serviks	3,30
Kemik iliği	3,51
Diğer	30,70

(www.saglik.gov.tr Erişim tarihi: 04.12.2010)'den modifiye edilmiştir.

Türkiye'de 2004-2006 yılında yapılan istatistiklere göre kadınlar arasında en sık görülen kanser türü meme kanseridir (Özmen 2006) (Şekil 1).



\*Yüz Binde, Dünya Standart Nüfusu  
( www. kanser.gov.tr Erişim tarihi: 09.03.2011)

**Şekil 1.** Yıllara göre en sık görülen kanserler YSH\*, kadın, Türkiye

Ülkemizde düzenli bir meme kanseri kayıt programı olmadığından, kesin sıklığının belirlenmesi güçtür. Ancak mevcut verilere göre, doğu bölgelerimizde 20/100 000, batı bölgelerimizde ise 40-50/100 000 oranında bir sıklığın olduğu tahmin edilmektedir. Bu farkın, Türkiye'nin batısındaki yaşam tarzının Avrupa'ya benzerliğinden kaynaklandığı belirtilmektedir (Özmen 2006).

Meme kanseri prevalansı yüksek olan toplumların sağlık stratejilerinde risk analizi ve kanseri önleme giderek önem kazanmaktadır (Güllüoğlu 2008).

### 2.3. Meme Kanseri Gelişiminde Etkili Olan Risk Faktörleri

Meme kanserinin nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte, hastalığın ortaya çıkma ihtimalini artıran bazı risk faktörleri tespit edilmiştir. (Güllüoğlu 2008).

**Yaş:** Meme kanseri oluşumunda etkili olan risk faktörleri incelendiğinde ileri yaşa sahip olmanın önemli bir risk faktörü olduğu görülmektedir (Somonoğlu 2007). Meme kanseri insidansı son 10-15 yılda artış göstermiştir ve toplumun yaşlanmasıyla beraber bu insidans artacaktır. Meme kanseri 30 yaşından önce nadir olup, bu yaşı takip eden reproduktif yıllarda hızlı bir tırmanış göstermektedir. Bu artış menopoz

sonrasında da yavaş eğimle yükselmeye devam eder (Edwards et al., 2002). Meme kanseri tanısı konan kadınlar arasında yapılan çalışmalarda, %70'inin yaşının 50 yaş ve üzerinde olduğu bildirilmekte ve yaşı 50 yaş üzerinde olan kadınlarda meme kanseri görülme sıklığının, yaşı 50 yaşın altında olan kadınlara göre 4 kat daha fazla olduğu belirtilmektedir (Somonoğlu 2007).

**Cinsiyet:** Meme kanseri çoğunlukla kadınlara özgü bir hastalıktır. Meme kanseri olgularının %99'u kadınlarda, %1'i erkeklerde görülmektedir (American Cancer Society, 2010).

**Aile Hikayesi:** Meme kanseri tanısı alan kadınların %20'sinde aile öyküsü mevcuttur. Ancak herediter meme kanseri vakaları tüm olguların %5-10'unu oluşturur. Meme kanseri gelişme riski birinci derece yakınında meme kanseri olanlarda normal populasyona göre 1,5-3 kat fazladır (Couch 1997). Özellikle birinci derece yakınında (anne, kızkardeş, kızı) meme kanseri saptanmış olması kişinin meme kanseri riskini arttırmaktadır. Akrabalık uzaklaştıkça risk azalmaktadır. Çok sayıda birinci derece yakında meme kanseri görülmesi, akrabadaki kanserin görülme yaşının küçük olması (40 yaş altı) ve/veya bilateral meme kanseri görülmesi durumlarında risk belirgin olarak artmaktadır. Yakın bir akrabada over kanserinin meme kanseri ile birlikte görülmesi ya da farklı bireylerde de olsa meme ve over kanserinin görülmesi o ailede bahsedilen kanserler için genetik yatkınlığın var olabileceğini düşündürmektedir. Yine aynı ailede birinci ya da ikinci derece erkek akrabada meme kanseri görülmüş olması o ailenin fertleri için meme kanseri riskinin arttığına işaret eder (Güllüoğlu 2008). En az bir akrabasında meme kanseri olan 70 yaşından büyük kadınlarda relatif meme kanseri riski 1,64'tür. Aynı oran 35-39 yaşlarda 2,53 iken, 45-49 yaşlarda 1,84 ve 55-59 yaşları arasında 1,53'tür (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer, 2002). Ailesel kanserlerin genetik ve çevresel etkilerin kombinasyonu ya da henüz tanımlanmamış gen mutasyonlarına bağlı olarak geliştiği düşünülmektedir (Mincey 2003). Aile öyküsünün değerlendirilmesi genetik meme kanseri riskini belirlemede çok önemli bir faktördür (Frank et al., 1999; Ziogas et al., 2000).



Ailesel meme kanseri riskini arttıran faktörler aşağıdaki şekilde sıralanabilir:

- Bilateral meme kanseri veya hem meme hem de over kanseri olan kadınla birinci derece akrabalık,

- Kırk yaşın altında meme kanseri tanısı konmuş kadınla veya herhangi bir yaşta meme kanseri tanısı konmuş erkekle birinci derece akrabalık,

- Altmış yaşın altında meme kanseri tanısı konmuş veya herhangi bir yaşta over kanseri tanısı konmuş kadınla birinci veya ikinci derece akrabalık,

- Meme veya over kanseri tanısı konmuş kadınla birinci dereceden bir akraba ve ikinci dereceden iki akraba olmak üzere üç akrabayla ilişkili sayılabilir (Lester 2007).

**Beslenme Alışkanlıkları:** Birçok çalışmada, kronik hastalıklarda olduğu gibi meme kanserinde de diyetin önemi testlerle belirtilmiştir (Ghadirian et al., 2009). Besinlerdeki bazı bileşikler oksijen radikalleri üreterek DNA'da hasar meydana getirebilirler. Özellikle doymamış yağ asitleri içeren besinlerle beslenmenin meme kanseri riskini artırdığı ortaya konmuştur (Hanf and Gonder 2005). Aşırı pişirilmiş etlerin tüketimi ve yağdan zengin gıdaların riski arttırdığı belirtilmektedir (Singletary and Gapstur 2001). Doğal antioksidanları içeren meyve ve sebzeleri tüketmenin meme kanseri riskini azalttığı bildirilmiştir (Hanf and Gonder 2005). Araştırmalar diyetdeki meyve ve sebze çeşitliliğinin birçok mekanizma ile karsinojenlere karşı koruyucu etki oluşturabileceğini ileri sürmüştür. Çin Shanghai'de yapılan, hasta-kontrol çalışmasında meyve-sebze tüketimi ile meme kanseri riski arasında zıt bir etkinin olduğu bulunmuştur. İtalya'da yapılan diğer bir hasta-kontrol çalışmasında meme kanseri riski ile sebze tüketimi sıklığı arasında önemli ölçüde ters ilişkinin olduğu ancak meyve tüketimiyle böyle bir ilişkinin olmadığı belirtilmiştir. Premenopozal kadınlarda yapılan prospektif çalışmalarda, aile hikayesi pozitif olan meme kanserli hastalarda günde beş veya daha fazla meyve-sebze tüketenlerin, iki veya daha az porsiyon tüketenlere göre meme kanseri riskinde azalış gözlemlenmiştir. Serbest radikallerin kanserojen etkilerine karşı sebze ve meyvelerdeki antioksidanların koruyuculuk sağladığı düşünülmektedir. Lifli

gıdaların enterohepatik dolaşımında östrojeni bağladığı ve geri emilimini etkileyerek dolaşımdaki östrojen seviyesi artışını engellediği bildirilmektedir (Ghadirian et al., 2009).

**Beden Kitle İndeksi:** Menopoz sonrası kadınlarda yağ dokusu, östrojenin ana kaynağı olarak işlev görmektedir. Bu dönemde yağ dokusu artmış kadınlarda, over ve adrenal kökenli androjenlerin, endojen östrojenlerin daha fazla üretilmesine neden olduğu düşünülmektedir (Berkarda 2000, Ünal ve ark., 2001). Postmenopozal kadınlarda kadının en düşük kilosu üzerine aldığı her 5 kilo meme kanseri riskini %8 arttırmaktadır (Trentham-Dietz et al., 2000). Böylece menopoz sonrası kilo alan kadınlarda östrojen seviyesi yükselerek meme kanser riskini arttırmaktadır (Carpenter et al., 2003).

**Östrojen:** Kanda iki tür östrojen mevcuttur. C-17 pozisyonunda hidroksil grubu bulunan östradiol ve bu pozisyonda keto grubu içeren östrondur. Meme dokusunda biyolojik olarak aktif olan östradioldür. Östrojen hücresel aktivitesini reseptöre bağlanarak gösterirken östradiolün östrojen reseptörüne (ER) bağlanma afinitesi daha yüksektir. Kanserleşmiş dokularda normal dokulara göre daha fazla ER'ü bulunmaktadır (Mitrunen and Hirvonen 2003). Artmış östrojen reseptör-hormon kompleksi nukleusa taşınabilir ve hormonlar burada hücre bölünmesini sağlayan genleri harekete geçirebilirler. Bu durum dengesiz östrojenik uyarıların karsinojenik süreçte promotör rolü oynadığı bir mekanizmayı düşündürmektedir (Göksel 1996). Meme dokusundaki normal ve neoplastik hücrelerin büyümesini uyaran östrojenler kanser riskini arttırmaktadır (Göksel 1996). Östrojenler tümör hücrelerinden mitojenik büyüme faktörlerinin salgılanmasına ve hücre çoğalmasına neden olarak kanserleşmede rol oynamaktadır (Mitrunen and Hirvonen 2003). Erken adet görme, geç menopoza girme, geç yaşta doğum yapma ve az sayıda doğum yapma gibi faktörler östrojene maruz kalma süresini artırarak meme kanseri riskini arttırmaktadır (Colditz 1998).

**Menarş Yaşı:** Menarş yaşının her bir yıl gecikmesi ile meme kanseri riskinin %20 azaldığı kabul edilmektedir. Meme kanseri riski yönünden mensturasyon başlama yaşı yanında ilk düzenli mensturasyon yaşı da önemlidir. Menarşı takiben düzenli mensturasyonların bir yıl içinde başlaması, bir yıldan geç başlayanlara göre

riski iki katına çıkarmıştır. Menarşı erken (12 yaş ve öncesi) başlayan ve kısa sürede düzenli menstural dönemlere geçen kişilerde kanser riskinin menarşı geç başlayan (13 yaş ve üzeri) ve uzun süre düzensiz menstural dönemleri olan kişilere göre 4 kat daha fazla olduğu kabul edilmektedir (Topuz ve ark., 2003, Kalaycı 2002).

**Reprodüktif Hikaye:** Meme kanseri riski bir kadının yaşam boyu geçirdiği toplam ovuluar menstruel siklusların sayısı ile ilişkilidir. Risk, menarş yaşı ile ters orantılı olup, menopoza girme yaşının artmasıyla artış göstermektedir. Erken menarş, meme hücre proliferasyonunu daha erken başlatarak, hücrelerin diferansiye değilken östrojene ve diğer karsinojenlere maruz kalma süresini arttırmaktadır (Pike et al.,1993).

**Doğurganlık Hikayesi:** İlk doğumu 20 yaşından önce yapan kadınlardaki meme kanseri riskinin, ilk doğumu 30 yaşından sonra yapan kadınlara kıyasla yaklaşık %50 daha az olduğu belirtilmiştir (Colditz 1995). Doğurganlığın koruyucu etkisi tam olarak anlaşılmasına rağmen, meme bezi hücrelerinin erken farklılaşmasını sağlayarak karsinojenik değişimlere karşı daha dayanıklı hale getirdiği düşünülmektedir (Pike et al., 1993). İlk gebeliğin, prolaktin düzeyinin yıllarca düşük kalmasını sağladığı; doğum yapmış kadınlarda prolaktin düzeyinin, doğum yapmamış kadınlara göre daha düşük değerde olduğu ve düşük prolaktin düzeyinin de koruyucu bir etki meydana getirdiği belirtilmekte; bunun sonucu olarak da erken yaşta ilk doğumun koruyucu etkisi kısmen açıklanmaktadır (Topuz 1997). İlk canlı doğum yaşında her bir yıllık azalmanın meme kanserine yakalanma riskini premenopozal dönemde %5, postmenopozal dönemde %3 oranında azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca her canlı doğumun, premenopozal ve postmenopozal kanser riskini sırasıyla % 3 ve %12 oranında azalttığı belirtilmiştir (Clavel-Chapelon and Garber 2002).

**Emzirme:** Erken yaşta doğum meme kanseri riskini belirgin olarak azaltır. Hiç doğum yapmayanlarda risk artmaktadır. Ne kadar erken canlı doğum yapılır ve laktasyon başlarsa meme epitelinin diferansiasyonu o kadar erken tamamlanır ve karsinojenlerden o kadar az etkilenir (Pike et al.,1993). Hiç emzirmeyen kadınlarla karşılaştırıldığında herhangi bir zamanda ve sürede emziren kadınların meme kanser riskinin oldukça düştüğü görülmektedir (0,5-1,1 kat daha az) (Furberg et al., 1999).

Uzun süre emziren kadınlarda meme kanseri riskine karşı koruyucu etki olmaktadır (Lipworth 2000). Emzirme süresi arttıkça özellikle premenopozal kadınlarda koruyuculuğun arttığını gösteren çalışmalar olduğu gibi (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer, 2002), daha erken yaşta emzirmeye başlayan annelerde riskin daha fazla azalacağını bildiren çalışmalar da vardır (Lipworth 2000). Laktasyon ve meme kanseri arasındaki ters ilişki çeşitli mekanizmalarla açıklanmaktadır. Mekanizmalardan biri laktasyon sırasında prolaktinin etkisiyle hipofizerovaryan aksın baskılanması sonucu seks hormonlarına maruziyetin azalmasıdır. Diğer bir mekanizma ise laktasyonun meme hücrelerinde diferansiasyonu sağlaması sonucu karsinojenlere karşı direncin artmasıdır.

**Düşük ve kürtajlar:** Düşük ve kürtajlarla meme kanseri ilişkisi, birçok çalışma yapılmasına rağmen netlik kazanamamıştır. Kürtaj ve meme kanseri arasında çoğu araştırmada bir ilişki saptanamamasına rağmen, düşük sayısında artma ile meme kanseri riskinde artış gözlemlendiği gösteren çalışmalar vardır (Paoletti and Clavel – Chapelon 2003).

**Mamografik Dansite:** Meme dokusu en yoğun olan kadında en düşük olan kadına göre risk 4-6 kat artmaktadır (Harvey and Bovbjerg 2004).

**Daha önce malign ya da benign meme hastalığının olması:** Tek memede kanser varlığı diğer memede kanser olma riskini normal popülasyona göre 2-6 kat arttırmaktadır (Hulka and Moorman 2001, Dozier and Mahon 2002). Meme kanser riski atipik meme hiperplazisine sahip kadınlarda, atipik meme hiperplazisi olmayan kadınlara göre 10 yıllık zaman periyodu içerisinde %10-20 daha fazladır. Bu oran özellikle premenopoz dönemindeki kadınlarda daha yüksektir (Hulka and Moorman 2001). Atipik duktal veya lobüler hiperplazinin olması halinde risk 4-5 kat, lobüler karsinoma insitu lezyonu olanlarda 8-10 kat, duktal karsinoma insitu lezyonu olanlarda ise 4-10 kat artmaktadır (Page et al., 2000).

**Hormon Replasman Tedavisi ve Oral Kontraseptifler:** Hormon replasman tedavisi gören kadınlarda meme kanseri riskinin arttığı bildirilmiştir (Ross et al., 2000). Bazı çalışmalarda oral kontraseptiflerin kullanım yaşı ve süresine bağlı olarak meme kanseri riskinin az da olsa arttırdığı gösterilirken, bazılarında tam tersi

bulunmuştur (Veshev 1997). Oral kontraseptif kullanımının %24, hormon replasman tedavisinin de %36 oranında meme kanser riskini arttırdığı belirtilmektedir (Ross et al., 2000). Women's Health Initiative (WHI) 16000 postmenopozal bireyle yaptığı çalışmada östrojen ve progesteron ile kombine hormon replasman tedavisinin meme kanseri riskini %26 oranında arttırdığını bulmuştur (Rossouw et al., 2002). Östrojen progesteron kombinasyonu, östrojenin tek başına oluşturduğu riski daha çok arttırmaktadır (Schairer et al., 2000). Veshev et al. (1997), hormon replasman tedavisi verilen kadınlarda meme kanser riskinin daha yüksek olmasına rağmen hiçbir zaman karsinoma in situ'dan ileri bir aşamada gözlenmediğini belirtmişlerdir. Hormon tedavisinin etkilerini araştıran iki meta analiz sonucuna göre, beş yıl konjuge östrojen kullanımında meme kanseri relatif riski 1.1 iken 10 yıl kullanımında 1.2'ye ve 15 yıl kullanımında 1.4'e yükselmektedir. Colditz (1998), meme kanserinin en iyi tanımlanan risk faktörünün hormonal faktörler olduğunu ve postmenopozal dönemde hormon replasman tedavisinin meme kanseri görülme riskini arttırdığını bildirmiştir.

Oral kontraseptif kullanımı anovulatuvar sıkluslara neden olduğu için koruyucu gibi görünmektedir. Ancak östrojen ve progesteron kombine preparatlar memede mitotik aktiviteyi tetikleyebilirler (Pike 1993). Yapılan bazı epidemiyolojik çalışmalarda oral kontraseptiflerle meme kanseri riskinde artış saptanmamıştır (Schairer et al., 2000). Bunun yanı sıra riskin belirgin olarak arttığını belirten çalışmalar da bulunmaktadır (Ross et al., 2000).

**Fiziksel Aktivite:** Fiziksel aktivitenin sedanter yaşam tarzına oranla meme kanseri riskini %20-30 oranında azalttığı düşünülmektedir (Lee 2003). Yapılan son çalışmalar fiziksel aktivitenin meme kanserinden koruyucu etkisinin olduğunu desteklemektedir (American Cancer Society, 2010). Bu potansiyel korumanın altında yatan mekanizma tam olarak açıklanamamakla birlikte, fiziksel aktivite ideal vücut-kitle oranının korunmasında, hormon ve enerji dengesinin sağlanmasında yararlıdır (American Cancer Society, 2010). Fiziksel aktivitenin koruyucu etkisi en çok postmenopozal kadınlar ve normal vücut-kitle indeksine sahip olan kadınlarda ortaya çıkmaktadır. Birçok çalışma haftada 5 veya daha fazla, günde 45-60 dakikalık egzersizin meme kanseri riskini azalttığını belirtirken, diğer bir çalışma düzenli

fiziksel aktivenin etkili olduğunu bildirmektedir (American Cancer Society, 2010). Bir başka çalışmada haftada 3 kez yapılan düzenli egzersizle yağ dokusunun, dolayısıyla endojen östrojen üretiminin azaldığı belirtilmektedir (Lee 2003).

**Radyasyon:** Uluslararası Kanser Enstitüsünün verilerine göre; 30 yaşından önce göğüse uygulanan (meme dahil) radyasyon tedavisi meme kanseri riskini arttırmaktadır. Hodgkin lenfomada radyasyon tedavisi alan kadınlar meme kanseri yönünden risk altındadır. Genç kadınların radyasyon tedavisi aldıkları zaman ileri yaşlarında meme kanseri olma risklerinin yükseldiği bildirilmektedir (www.cancer.gov.tr Erişim Tarihi:12.01.2011).

**Sosyoekonomik faktörler:** Sosyoekonomik durumu yüksek olan kadınlarda meme kanserine daha fazla rastlanmaktadır. Bunun nedeninin, iyi beslenmeleri, erken adet görmeleri, geç evlenmeleri, 30 yaştan sonra doğum yapmaları ve çocuklarını emzirmemeleri olarak yorumlanmaktadır (Dozier and Mahon 2002, American Cancer Society, 2010).

**Alkol Kullanımı:** Alkolik kadınlar arasında yapılan çalışmada alkol kullanımının meme kanseri riskini %15 arttırdığı gözlemlenmiştir (Kuper 2000). Günlük az miktarda alkol tüketmenin riski arttırmadığını fakat miktar arttıkça riskin arttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Güllüoğlu 2008).

**Sigara Kullanımı:** Sigara kullanımı ve meme kanseri riski arasında ilişki tam olarak ortaya konulamamıştır. Bazı çalışmalar genel popülasyonda pozitif ilişkinin olduğunu gösterirken bazıları ilişkinin olmadığını vurgulamaktadır. Elliüç ayrı epidemiyolojik araştırma analizinde, 58 515 meme kanserli hasta ve 95 067 hastalık taşımayan bireyde meme kanseri gelişim riskinde sigara kullanımının etkisinin çok az olduğu veya hiç olmadığı belirtilmektedir (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer, 2002). İlk hamilelikten önce sigara kullanımı ve pasif içiciliğin meme kanseri riskini arttırabileceği belirtilmektedir (Terry and Rohan 2002).

## 2.4. Meme Kanseri Genetiği

Meme kanseri ve diğer kanserler hücre büyümesi ve gelişmesine katılan önemli hücresel yolları etkileyen genetik değişimler ile çok adımlı işlemler sonucu ortaya çıkmaktadır. Kanseri oluşturmaktan sorumlu iki gen proto-onkogen ve tümör baskılayıcı genlerdir. Çoğu genetik değişimler, sadece kanserli dokudaki kanser hücrelerinde gözlenirken, daha az sıklıkla da olsa germ hücrelerindeki genetik değişimlerle ortaya çıkan kanserler kalıtsal özellik taşımaktadır. Genomda ortaya çıkan kalıtsal ve kalıtsal olmayan değişimlerden onkogenler sorumludur (Osborne 2004). Gen ekspresyonunu hızlandıran ya da kodladıkları proteinlerde kontrolsüz aktivite artışına neden olan genetik değişiklikler anormal hücre çoğalmasına neden olmaktadır (Cooper 2004). Onkogenler, normal işleve sahip proto-onkogenlerden çeşitli mekanizmalarla oluşmaktadır. Proto-onkogende meydana gelen nokta mutasyonu, gen amplifikasyonu ve kromozomal translokasyonlar proto-onkogenin aktivasyonunu etkileyen mekanizmalardır (Osborne 2004). Proto-onkogenler, DNA dizilerinde sadece bir bazın değişmesi (nokta mutasyonu) ile onkogenlere dönüşerek somatik hücrelerde anormal gen ürününün (onkoprotein) sentezine yol açmaktadır. Bu ürün, hücre bölünmesini ve gelişimini uyararak kansere neden olmaktadır. Kromozomlardaki yapısal mutasyonlar proto-onkogenlerin aktivasyonunu etkileyen mekanizmalardan biridir. Çeşitli kanser türlerinde, bir kromozomun her zaman aynı yerinde kırık veya translokasyonun meydana gelmesi o kanser türü için ayırıcı bir özellik olarak gözlenmektedir (Gelman 1998). Kanseri oluşturmaktan sorumlu bir diğer gen grubu da tümör baskılayıcı genlerdir (Osborne 2004). Onkogenlerin aksine normal koşullarda hücre çoğalmasını ve tümör gelişimini baskılamaktadırlar (Cooper 2004). Onkogenler hücre seviyesinde dominant etkiye sahiptir ve aktive edildiklerinde veya ekspresyonları arttığında, tek bir mutant allel bir hücreyi normalden malign fenotipe dönüştürmeye yetebilir. Tümör baskılayıcı genlerdeki mutasyonlar çekinik karakterdedir. Tek bir normal allel normal hücre fenotipinin oluşması için yeterlidir (Nussbaum et al., 2005).

Meme kanserinde rol oynayan genler yüksek geçişli genler ve düşük geçişli genler olmak üzere iki sınıfta toplanabilir. Populasyonda yüksek geçişli genlerde mutasyonların nadir görüldüğü ve bu mutasyonların özellikle ailesel meme kanserine

neden olduğu bilinmektedir. Oysa düşük geçişli genlerdeki mutasyonların, meme kanserinin büyük çoğunluğunu oluşturan sporadik meme kanserlerinin oluşumunda etkili olduğu düşünülmektedir (Mitrunen et al., 2003).

Breast Cancer Susceptibility Gene 1 (BRCA1), Breast Cancer Susceptibility Gene 2 (BRCA2), Mutant Ataksi-Telanjiyektazi (ATM) ve p53 genleri ailesel meme kanserine neden olan yüksek geçişli tümör süpresör genler olup erken yaşta görülen ailesel meme kanserlerinin %50'sinden ve tüm meme kanserlerinin yaklaşık %5-10'undan sorumludur (Oesterreich and Fuqua 1999).

Hem normal hem de kanserli meme dokularında çoğunlukla saptanan özel onkogenler ras, myc ve cerbB-2 (veya HER2/neu) olarak sıralanabilir. Ayrıca, büyüme faktörü reseptörlerinden Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (EGFR), CerbB-2 (HER2/Neu), sinyal iletimi ile ilişkili çekirdek onkogenleri (c-fos, c-myc, c-myb ve c-jun proto-onkogenleri, ras) siklinler, sikline bağımlı kinazlar(CDK) ve inhibitörleri (CDKI), steroid reseptörleri, östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü meme kanseri üzerinde etki etmektedir (Klijin et al., 1992).

#### **2.4.1. Meme Kanserinde Etkili Olan Genler**

BRCA1 ve BRCA2 başta olmak üzere p53, PTEN, CHEK gibi yüksek penetranslı kanser yatkınlık genlerinin bir allelinde meydana gelen mutasyonun nesilden nesile aktarılmasıyla kalıtsal meme kanseri ortaya çıkmaktadır (Manguoglu et al., 2003, Yoshida and Yoshio 2004).

#### **BRCA-1 ve BRCA-2 Genleri:**

Kalıtsal meme kanserinde nadir gözlenen yüksek penetransa sahip meme kanserine yatkınlık genleri olarak BRCA1 ve BRCA2 genleri bulunmuştur (Öztürk 2006). Bu genler kadın ve erkek meme epitelinde üretilmekte ve hücre döngüsünü kontrol eden proteinleri kodlamakta, ayrıca DNA tamirinde de tümör baskılayıcı gen olarak rol almaktadırlar (Marmorstein et al., 2001). Tümör baskılayıcı genler, hücre döngüsü bölümlerinin birbirine geçişini baskılar ya da inaktive eder ve hücre bölünmesini durdurur. Eğer bu genler kalıcı olarak inaktive edilir ya da



mutasyonlarla ortadan kaldırılırsa, hücre bölünmesinin kontrolü kaybolur, hücre kontrolsüz bir şekilde bölünüp çoğalmaya başlar (Manguoglu et al., 2003).

BRCA1 geninin 17. kromozom üzerinde q12-21 lokusunda yerleştiği bilinmektedir. 24 ekzondan oluşan gen 1863 aminoasit içeren bir protein kodlar. BRCA1 ailevi meme kanseri vakalarının %45'inden, meme ve over kanserinin birlikte olduğu vakaların ise %90'ından sorumludur. BRCA2 geni 13. kromozomun q12-13 lokusunda tespit edilmiştir. 27 ekzondan oluşur ve 3418 aminoasit kodlar. Ailevi meme kanseri vakalarının %35'inden sorumludur (Haberal 2004).

BRCA1 ve BRCA2 proteinlerinin; hücre proliferasyonunun kontrolünde tümör baskılayıcı proteinler, DNA hasarına ve tamirine katılan proteinler, transkripsiyonun düzenlenmesinde rol alan proteinler, hücre siklusunun kontrol noktalarının önemli proteinleri ve DNA'da rekombinasyonda iş gören proteinler ile yakın ilişkileri gösterilmiştir (Öztürk 2006). BRCA1/2 genlerinin kodladıkları proteinlerin, RAD51 proteini ile birlikte DNA kırıklarının tamirinde rol oynadığı belirtilmiştir (www.klinikgelisim.org.tr Erişim tarihi: 23.11.2011).

BRCA1 ve BRCA2 genlerindeki mutasyonlar otozomal dominant tipte geçiş gösterir, fakat kalıtım şekli inkomplettir. Otozomal dominant kalıtımda özellikler kısaca özetlenirse:

1. Kanser vertikal geçiş gösterir.
2. Mutant gen hem erkek hem de kız çocuklara geçebilir.
3. Kalıtım riski %50'dir (Haberal 2004).

Meme kanseri olgularının yaklaşık %5-10'unun genetik yatkınlığa bağlı olduğu saptanmıştır. Bu olguların da büyük çoğunluğunu BRCA1 ve BRCA2 genlerinin mutasyonlarının izlendiği 'herediter meme ve over kanseri sendromu'nun oluşturduğu bilinmektedir (Mincey 2003). BRCA1 ve BRCA2 genlerindeki mutasyonlar ve buna bağlı olarak oluşan inaktif tümör baskılayıcı proteinler ve inaktif genom koruyucu proteinler hücreyi tümör oluşumuna götürmektedir. Bugüne kadar yapılan çalışmalar ile BRCA1 ve BRCA2 genlerinde 1000'den fazla birbirinden farklı DNA dizi değişikliğine dayanan mutasyonlar tespit edilmiştir.

BRCA1 veya BRCA2 mutasyonu olasılığını arttıran bulgular:

- Erken yaşta meme kanseri tanısı
- Bilateral meme kanseri
- Meme ve over kanseri öyküsü
- Ailede birden fazla sayıda meme kanseri görülmesi
- Ailede meme ve over kanseri
- Bir veya daha çok erkek aile fertlerinde meme kanseri varlığı
- Bir veya daha fazla aile bireylerinde iki primerli kanser
- Aşkenazi Yahudi ırkından gelme (Haberal 2004) olarak sıralanabilir.

Herediter meme kanserlerinin %80'inden bu iki gen sorumludur. Meme kanseri gelişiminde en güçlü etiyolojik faktörlerden biri aile hikayesi olarak gösterilmiş, sonrasında keşfedilen BRCA1 ve BRCA2 genlerindeki mutasyonların meme, over ve diğer kanserlere yatkınlığı arttırdığı sonucuyla kalıtsal faktörlerin payı artmıştır (Venkitaraman 2002). Bu iki genin mutasyonu hem meme hem de over kanserinin birlikte görüldüğü ailelerin büyük çoğunluğunda ortaya çıkmakla beraber sadece meme kanserinin görüldüğü ailelerin yarısında izlenmektedir (Narod et al., 1995). Germ hücrelerindeki mutasyonlar over kanserlerinde %10, meme kanserlerinde %7 oranında dominant olarak kalıtım göstermektedir (Öztürk 2006). Bu genlerde saptanan mutasyon memede ve overde yüksek olasılıkla kanser gelişebileceğine işaret etmektedir. BRCA1 ve BRCA2 genlerinde mutasyon olan kadınların %66 ile 83'ünde meme kanseri, %22 ile 45'inde de over kanseri görülebilmektedir. Erkeklerdeki meme kanseri de genetik mutasyonla ilişkilidir (Güllüoğlu 2008).

BRCA1/2 mutasyonlarının kalıtsal meme kanseri olgularının yaklaşık %30'undan sorumlu olduğu tahmin edilmektedir (Lynch et al., 2008). Bu mutasyonları taşıyan kadınlar yaşamlarının bir döneminde %50-80 oranında meme kanseri geliştirme riski taşımaktadır (Öztürk 2006). BRCA1/2 mutasyon taşıyıcılarında yaşam boyu kanser riskleri Tablo 3'de gösterilmiştir.

**Tablo 3.** BRCA1/2 mutasyon taşıyıcılarında yaşam boyu kanser gelişme riski

70 YAŞINDA KÜMÜLATİF RİSK %				
	Kadın		Erkek	
	Meme kanseri	Over kanseri	Meme kanseri	Prostat kanseri
BRCA1 mutasyon taşıyıcılığı	40-87	16-63	?	25
BRCA2 mutasyon taşıyıcılığı	28-84	27	6-14	20
Genel popülasyon	8-10	1.5	<0.1	10

(www.klinikgelisim.org.tr Erişim tarihi: 23.11.2010)'den modifiye edilmiştir.

Bir meta-analizde, 20 yaşındaki BRCA1 mutasyon taşıyıcısı etkilenmemiş bir kadının ilerideki yaşamında meme kanserine yakalanma riskinin %54, 50 yaşında bir taşıyıcının ise %37 olduğu bildirilmiştir (www.klinikgelisim.org.tr Erişim tarihi: 23.11.2010). Meme kanseri insidansı BRCA1 taşıyıcılarında 30 yaşında %3,6, 40 yaşında %18; BRCA2 için kümülatif meme kanseri insidansı ise 30 yaş için %0,6 ve 40 yaşta %12'dir (Haberl 2004). Ailesinde 60 yaşından önce meme kanseri teşhisi konan en az dört kadın bireyin veya herhangi bir yaşta meme kanserli erkek bireyin olduğu ailelerde BRCA1 (%52) ve BRCA2 (%32) mutant allellerinin meme kanseri ile yakın ilişkisi gösterilmiştir. Ailelerdeki özellikler daha alt gruplara bölündüğünde örneğin ailede hem meme hem over kanserini bir arada taşıyanlar olduğunda BRCA1 bu gruptan %81 oranında, hem kadın hem erkek meme kanseri taşıyan ailelerde BRCA2'nin %76 oranında sorumlu olduğu bulunmuştur. BRCA1 ve BRCA2 mutasyon taşıyıcılarında kanser gelişiminde genetik veya çevresel faktörler rol oynamakta fakat değişik popülasyonlarda genin penetransındaki çeşitlilik, klinik gidişte farklılık göstermektedir. BRCA1 veya BRCA2 mutasyonu taşıyan bir kadın kanser olmadan 80 yaşına kadar yaşayabilir veya daha 20'li yaşlarda kanser gelişebilir (Öztürk, 2006).

Meme kanseri için uzun yıllar kullanılan histopatolojik sınıflandırma artık yerini genetik sınıflandırmaya bırakmaktadır. Yapılan mikro-dizi ve immün histokimya çalışmaları sonrasında meme tümörleri aktif olan genlerine ve ifade ettikleri hormon reseptörlerine göre sınıflandırılmıştır. Ailesel meme kanseri için en

şiddetli etkiye sahip mutasyonları taşıyan bu iki gen, meme kanseri risk tespitinde mutasyon analizlerinin yapılmasında ön sırada yer almaktadır (Öztürk 2006).

**p53 geni:** 17. kromozomun kısa koluna lokalizedir. Hücre büyümesi, diferansiasyonu ve programlı hücre ölümünde rol oynar. p53 geni DNA hasarı olduğunda hücre siklusunun G1 fazında durmasını ve DNA onarım genlerinin yapımını sağlar. Li-Fraumeni sendromuna yol açar. Bu sendromda premenopozal meme kanseri ile birlikte çocukluk sarkomu, beyin tümörleri, lösemi ve adrenokortikal karsinom görülür (Haberal 2004). Meme kanserlerinin yaklaşık %20-40'ında p53 genleri mutasyona uğramıştır (Hollstein et al.,1997).

**ATM geni:** ATM geni 11. kromozomun q22-23 bandında bulunmaktadır ve resesif olarak kalıtılır (Ahmed and Rahman 2006). ATM geni c-Abl, DNA-PK ve p53 ile etkileşime girerek DNA tamirinde ve hücre siklusu kontrolünde rol oynamaktadır (Banin et al., 1998). Bu gende çeşitli mutasyonlar gözlenmektedir ve iki mutant allel hastalık gelişimine neden olmaktadır. Meme kanseri için yüksek risk taşımaktadır. Bir mutant allel taşıyanlarda ise meme kanseri riskinin çok yüksek olduğu bildirilmiştir. Toplumdaki meme kanserinin %2-7'sinden bu gen sorumludur (Ahmed and Rahman 2006).

**PTEN geni:** PTEN germline mutasyonu 10. kromozomun 10q23 lokusunda bulunur. Tümör baskılayıcı etkisini apoptozise neden olarak ve hücre siklusunun G1 fazını durdurarak göstermektedir (Agrawal and Eng 2006). Cowden sendromuna neden olur. Bu sendrom mukokutanöz lezyonlar, meme, tiroid ve genitoüriner sistem kanserleri ile karakterizedir (Haberal 2004).

Tablo 4'de bu genlerin ilişkili olduğu herediter meme kanseri sendromları gösterilmiştir.

**Tablo 4.** Herediter meme kanseri sendromları

Sendrom ismi	Kalıtımsal yapı	Kişisel ve ailevi öykü
Hereditör meme ve over kanser otozomal dominant (BRCA1)		kadın veya nadiren erkek meme kanseri, over, fallop tüpü kanseri, kolon, mide, pankreas, nadiren prostat kanseri
Hereditör meme over kanseri (BRCA2)	otozomal dominant	kadın ve erkekte meme kanseri, over, fallop tüpü, prostat, pankreas kanseri
Cowden Sendromu (PTEN)	otozomal dominant	bilateral meme kanseri, intestinal polip, tiroid kanseri, mental retardasyon
Li-Fraumeni sendromu (p53)	otozomal dominant	Erken yaşta görülen meme kanseri (%50'si 30 yaşaltı), beyin kanserleri, sarkomlar, lösemiler, adrenokortikal Karsinomlar
Peutz-Jeughers sendromu (STK11)	otozomal dominant	meme, kolon, mide, pankreas kanseri, benign ve malign over tümörleri, nadiren servikal ve testiküler kanserler, dudak ve yanak mukozasında pigmentasyon, gastrointestinal kanamalar
Ataksi-telanjiyektazi (ATM) heterozigote	otozomal resesif	meme ve hematolojik kanserlere yatkınlık, immün sistem bozuklukları, nörolojik dejenerasyonlar, ailevi AT

(Haberal 2004, Korde et al.,2004)'den modifiye edilmiştir.

#### 2.4.2. Meme Kanserinde Etkili Olan Onkogenler

Meme kanserinin ortaya çıkışına, ilerlemesine ve metastazına katılan birçok faktörün varlığı bilinmektedir. Meme kanserlerinin bir bölümü, bazı onkogenlerde ve tümör baskılayıcı genlerde meydana gelen çeşitli değişimler sonucu ortaya çıkar. Meme hücresi için ayırıcı özellikler taşıyan onkogenler bulunmaktadır. Hem normal hem de kanserli meme dokularında çoğunlukla saptanan bu özel onkogenler *ras*, *myc* ve *cerbB-2* (veya *HER2/neu*) olarak sıralanabilir (Öztürk 2006).

**Epidermal Büyüme Faktör Reseptörleri (EGFR):** Hücre membran reseptörü olan EGFR ailesi; EGFR, HER2, HER3 ve HER4'den oluşur. EGFR, tirozin kinaz aktivitesine sahiptir. Bu aileye ait üyeler transfosforilasyon sonucu bir seri etkileşimler ile heterodimerler oluşturabilirler ve farklı protein ailelerinin aktivasyonunu düzenlerler. Epidermal Büyüme Faktör (EGF)'ün reseptörüne

bağlanması reseptörü uyarır ve EGF hücre içine alınır. Bununla birlikte EGFR'nin otofosforilasyonuna ve diğer hücre içi substratların fosforilasyonuna yol açar. Bu yol ile aktivasyon sonucunda nükleusta bulunan transkripsiyon faktörleri uyarılır (Öztürk, 2006). Meme ve çeşitli karsinom tiplerinin progresyonu ve patogenezinde EGF ve EGFR'nin merkezi bir role sahip olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Normanno et al., 2006). EGFR gen amplifikasyonun kötü prognoz ile ilişkili olduğu birçok karsinomda gözlemlenmiştir. Meme kanserlerinde EGFR amplifikasyon bulgularına karşılık herhangi bir mutasyon bildirilmemiştir. Tüm meme kanserlerinin yaklaşık olarak yarısında EGFR aşırı ekspresyona edilmekte ancak amplifikasyon oranı %0 ile 14 arasında değişmektedir (Öztürk 2006).

**cerbB-2 (HER2/Neu):** “HER-2/Neu, diğer adı ile cerbB-2 veya p185 olarak isimlendirilen bu onkogen 17.kromozomda q12'ye yerleşmiş olup hücre bölünmesi ve farklılaşmasına katılmaktadır. Gen amplifikasyonu ve aşırı ekspresyon nedeniyle kanser patogenezinde katılan bu onkogen, meme kanserleri için önemli bir prognostik belirteç olarak kabul edilmektedir. CerbB-2 onkoproteini plazma membranına yerleşmiş EGFR'ne benzer bir membran reseptördür. HER2 ve diğer üyeler (HER1, HER3 veya HER4) arasındaki liganda bağlı bir heterodimerizasyon cerbB-2 sinyal yolunu aktifler. CerbB-2 geninin amplifikasyonu veya proteinin aşırı ekspresyonu meme kanserlerindeki neoplastik hücrelerin %10-40'ında gösterilmiştir. HER-2/neu proteininin aşırı ifadenmesi ya da genin amplifikasyonu meme kanserlerinde kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir” (Öztürk 2006).

**c-Myc:** c-myc geni kromozom 8q24'e yerleşmiştir. c-myc proteini hücre proliferasyonu, hücre farklılaşması ve apoptoz ile ilişkili genlerin transkripsiyonlarını düzenleyen bir fosfoproteindir. c-myc'in gen amplifikasyonu hücre döngüsünün bozulmasına neden olur ve p53'e bağlı yoldan hücrenin apoptoza gönderilmesinde rol oynar. c-myc geninin aşırı üretimi veya gen yapısındaki değişiklikler meme kanserine neden olabilmektedir. c-myc gen amplifikasyonu meme kanserindeki en sık rastlanan genetik değişikliklerden biridir. Meme kanserlerinin 1/3'ü bu genetik değişikliği taşımaktadır (Öztürk 2006).

**Ras:** ras bir protoonkogen ürünüdür. Aktif GTP bağlı halde ya da inaktif GDP- bağlı durumda bulunmaktadır. Plazma membranından, nükleusa sinyal

iletiminde önemli bir aracı moleküldür. Ras mutasyonları malign transformasyona öncülük eder. Çeşitli kanserlerde ras mutasyonları saptanmıştır. Meme kanserinde, ras onkogeninde en sık rastlanan mutasyon aşırı ekspresyondur. Ras mutasyonları meme kanserlerinin %50'sinde görülmektedir (Von et al., 2000).

**Siklinler, Sikline Bağımlı Kinazlar ve İnhibitörleri:** Siklinler, sikline bağımlı kinazlar (CDK) ve inhibitörleri (CDKI) hücre döngüsünü doğrudan kontrol eden proteinlerdir. Meme kanserinde siklin-D1 (PRAD-1) ve siklin-E'nin %30 oranında aşırı üretimi saptanmış ve prognostik faktör olabileceği ileri sürülmüştür. Meme kanserinde tespit edilen bir diğer gen kromozom 9p21'e yerleşen CDK-2'dir. Meme kanseri hücrelerinde bu genin yerleştiği kromozom bölgesinin mutasyonu ve homozigot delesyonu bildirilmiştir (Öztürk 2006).

## 2.5. Kardeş Kromatid Değişimi

Kardeş kromatid değişimi, DNA replikasyonu sırasında kardeş kromatidlerin karşılıklı yer değiştirmesi olarak tanımlanmaktadır. İlk olarak Taylor 1957 (Taylor 1957) yılında, mitotik bitki kromozomlarında (*Vicia faba* ve *Bellenalia romana*) yaptığı otoradyografik çalışmalarda KKD'yi gözlemlemiştir. Bu yöntem, duyarlılığın az olması ve otoradyografinin uzun zaman gerektiren bir işlem olması nedeniyle KKD oluşumunu etkileyen ajanları belirlemede ilgi görmemiştir (Rodriguez-Reyes and Morales-Remirez 2003). 1972 yılında Zakharov ve Egolina, Çin Hamster hücrelerinde, timidin analogu olan 5-Bromo-2-deoksiuridin (BrdU) kullanarak replike olan kromozomların yapısını incelemiştir. Latt (1973), insan hücreleri ile çalışıp hazırladığı preparatları bir floresan boya olan bisbenzimidazol (Hoechst 33258) kullanarak boyamış ve preparatlarda KKD rezolusyonunun daha da arttığını göstererek insan kromozomları için floresan tekniği tanımlamıştır. Perry ve Wolf, 1974 yılında DNA ile birleşen BrdU'nun, kromozom yapısına Giemsa girişini azalttığını göstermişlerdir. Bu bulgulara dayanılarak günümüzde kardeş kromatidleri ayırt etmek için kullanılan Fluoresans Plus Giemsa tekniği (FPG) geliştirilmiştir (Rodriguez-Reyes and Morales-Remirez 2003). Bu teknikte KKD incelemeleri için, BrdU ile kültür tekniği kullanılmaktadır. 5-Bromo-2-deoksiuridin, timidinin bir baz analogudur. 5-Bromo-2-deoksiuridin bulunan ortamda hücre bu maddeyi DNA'sına katmaktadır. 5-Bromo-2-deoksiuridin eklemenin avantajı, Hoechst 33258 boyasının

BrdU içeren zincire bağlandığında daha az floresan vererek kromatidlerin soluk renkte görülmesini sağlamasıdır. Günümüzde KKD'nin incelenmesi için en fazla tercih edilen hücreler lenfositlerdir. Çünkü lenfositler kolay elde edilebilir, spontan kromozom hatalarını son derece az içerir ve KKD başarıyla gösterilebilir (Landi et al., 1999, Pitaque et al., 1997).

Kardeş kromatid değişimi, fiziksel veya kimyasal etkenlerle meydana gelen DNA hasarlarının tamir edilmesi sırasında, kromozom kırıklarının oluşup tekrar bir araya gelmesiyle gerçekleşmektedir. Moleküler mekanizması ve biyolojik anlamı tam olarak bilinmemektedir. Kardeş kromatid değişimi hücre bölünmesinin normal bir özelliği olarak meydana gelebilmekle birlikte, kromozom morfolojisinde değişikliğe neden olmamakta, fakat hücre DNA'sı genotoksik ajanlar tarafından zarar gördüğünde oranı artmaktadır (Altıntaş ve ark., 2005). Çeşitli fiziksel ve kimyasal etkenlerle kromozom DNA'sında meydana gelen, replikasyon sırasında onarılmayan hatalar KKD'lerin ortaya çıkmasını ya da artmasını sağlar. DNA hasarına neden olan pek çok ajanın KKD sıklığını arttırdığı ancak her DNA hasarının KKD'ye neden olmadığı bilinmektedir. Genellikle kabul edilen görüş, KKD'nin hasarlı DNA'nın replikasyonunun gerçekleştiği hücre döngüsünün S fazında meydana geldiği şeklindedir. S fazını etkileyen mitomicin-C ve UV ışınları gibi ajanlar KKD'nin en etkili uyarıcılarıdır. Kardeş kromatid değişimini arttıran etkenler çoğunlukla DNA ile kovalent bağlar yapan veya DNA tamir mekanizmalarını etkileyen maddelerdir (Shiraishi and Sandberg, 1980). Bu maddeler DNA replikasyonunu dolaylı ve doğrudan etkilerler. Kromozom instabilitesinin in vitro göstergesi olarak kabul edilen ve sağlıklı hücrelerde belli bir oranda oluşan KKD, ultraviyole ışınlar, viral enfeksiyonlar, iyonize edici radyasyon, kemoterapötikler, sigara içiciliği gibi çeşitli fiziksel, biyolojik ve kimyasal faktörlerin etkisiyle artmaktadır (Emery and Mueller 1988, Egeli 1998, Erol ve ark. 2002). Kardeş kromatid değişimi testi, mutajen ve karsinojen madde aktivitesinin kromozomlara olan etkilerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır (Landi et al., 1999, Pitaque et al., 1997). Kromozom kırık sendromları (Bloom sendromu, Fanconi anemisi, Ataxia telangiectasia ve Xeroderma pigmentosum) ve neoplazinin gelişimine yatkınlık gösteren çeşitli kalıtsal hastalıkların klinik tanısının konmasında yardımcı bir test olarak değerlendirilmektedir (Barch 1991). Mutajene maruz kalan bireylerin ve



kanser gelişimine yatkın olan bireylerin hücrelerinde, normal spontan KKD sıklığından daha yüksek oranda artmış KKD değerini bildiren birçok çalışma vardır (Emery and Mueller 1988, Egeli 1998, Erol ve ark. 2002).

## 2.6. Mikronükleus Yöntemi

Mikronükleuslar hücrenin mitoz bölünmesi sırasında ortaya çıkan, esas çekirdeğe dahil olmayan, tam kromozom veya asentrik kromozom fragmanlarından köken alan oluşumlardır.

Mikronükleus testi 1950'lerde bitki hücrelerinde kromozom hasarının ölçülmesinde, 1970'lerde hayvan hücrelerinde ve daha sonra Haddle ve arkadaşları tarafından kültüre edilmiş insan lenfositlerinde kimyasal karsinojenleri belirlemeye yönelik bir test olarak kullanılmaya başlanmıştır (Demirel ve Zamani 2002). Fenech ve Morley tarafından geliştirilen Sitokinezi-Blok (Cytokinesis-Blocked) Metodu, bazı kinetik problemlerin ortadan kalkmasını ve tekniğin uygulanmasındaki güvenilirliğin artmasını sağlamıştır. Bu metot, küf mantarlarının metabolitlerinden biri olan Cytochalasin-B (Cyt-B) ile mitoz geçiren hücrelerde sitokinezi durdurma esasına dayanmaktadır. Standart lenfosit kültürlerine uygun konsantrasyonda Cyt-B ilavesiyle, çekirdek bölünmesini tamamlamış, ancak sitoplazmik bölünmesini gerçekleştirememiş çift çekirdekli hücreler kolaylıkla tanınarak sayılabilmekte ve MN bulduran hücrelerin oranı saptanabilmektedir (Fenech and Morley 1985). İncelenen alanda, kültür süresi içinde ikinci bölünmesini tamamlamış 4 çekirdekli hücrelere de rastlanmaktadır; ancak MN sayımında Heddle ve Countryman'ın kriterleri kullanıldığından bu hücrelerde görülen MN'ler değerlendirme dışı bırakılmaktadır. Heddle ve Countryman'ın kriterlerine göre:

1. Mikronükleus çapının esas çekirdeğin 1/3'ünden küçük olması;
2. Boya alma yoğunluğunun esas çekirdek ile aynı olması;
3. Sadece sitokinezi bloke edilmiş çift çekirdekli hücrelerdeki MN'lerin sayılması esas alınmaktadır (Demirel ve Zamani 2002).

Mikronükleuslar, sitoplazma içinde ana nükleusdan ayrı, nuklear orjinli küçük küresel yapılardır. Mikronükleuslar şekil, yapı ve boyanma özellikleri açısından nükleusa benzemekle birlikte; büyüklük açısından değişiklik gösterebilmektedirler (Rooney and Czepulkowski, 1992). Mikronükleus, asentrik kromozom ya da kromatid kırıklarından ve bir yada birkaç kromozom ya da kromatidin anafazda geri kalmasından dolayı telofazda oluşan esas nükleusun dışında rastlanan küçük nükleuslardır (Surrallés ve ark., 1995). Ayrıca multipolar anafaz ve telofaz da, MN oluşumuna sebep olmaktadır (Topaktaş ve Rencüzoğulları 1995). Mikronükleus oluşumuna neden olabilen kromozom kaybı ya da kromozomların ayrılamaması (non-disjunction) kanser ve yaşlanmada gözlenen önemli olaylardan biridir. Bu durum, muhtemelen iğ iplikçiklerinde ve sentromerde bozulma ya da metafazdan önce kromozom yapısının yoğunlaşması sonucu oluşmaktadır (Dellarco ve ark., 1985).

Mikronükleusun oluşumunda tanımlanmış 4 mekanizma;

- mitotik asentrik fragmentlerin kaybı
- kromozomal kırık ve değişimlerin mekanik sonuçlarındaki çeşitlilik
- -mitoz sırasındaki mitotik iğ iplikçiklerindeki hatadan veya anafazdaki kompleks konfigürasyonlardan dolayı bütün kromozomun kaybı
- apoptozis olarak verilmektedir.

Mikronükleus oluşumunda hem klastojenik ajanlar hemde mitotik inhibitörler rol oynamaktadır (Norppa and Falck 2003). Mikronükleus sayısındaki artış, çeşitli ajanların hücrelerde oluşturduğu sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin indirekt göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Anöploidiyi uyaran ajanlar, sentromer bölünme hatalarına ve iğ iplikçiklerinde fonksiyon bozukluklarına yol açarken, klastojenler kromozom kırıkları oluşturarak MN oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin indirekt göstergesi olarak değerlendirilen MN testi, organizmayı etkileyen çeşitli fiziksel ve kimyasal ajanların sitogenetik etkilerini belirlemek için yapılabilecek büyük çaplı tarama çalışmalarında güvenle kullanılabilir (Demirel ve Zamani 2002).

Mikronukleus sıklığı kanser hastalarının radyoterapi ve kemoterapiye duyarlılıklarının araştırılmasında ve bir çok maddenin kromozomlar üzerindeki etkilerini araştırmakta kullanılan, güvenilir biyolojik sonuçlar gösteren, çok geniş kullanım alanına sahip bir yöntemdir. Yapılan çalışmalarda, kanser hastalarından alınan periferel kan lenfositlerindeki MN frekansında belirlenen artış, kanser oluşan hedef dokudaki MN frekansı kadar bulunmuştur (Duffaud et al., 1997, Bonassi et al., 2007). Ayrıca, Fenech et al. (1999)'nın uluslararası işbirliği ile yaptıkları bir araştırmada, insanlarda MN ile kanser arasındaki ilişkiyi açıkça göstermişlerdir. İnsan hücrelerinde 'mikronukleus indeksi' genetik toksikoloji araştırılmasında kullanılan standart sitogenetik testlerinden biridir (Güven ve ark., 2006). Bu hücreler ait oldukları dokularda meydana gelen morfoloji bozukluğunu, kromozom kırıklarını, premalign değişiklikleri ve kanseri gösterebildiklerinden bir biyomarkır olarak değerlendirilebilmekte ve karsinojenlere maruz kalmış bireylerde artmış kanser riskini göstermek amacıyla kullanılabilir.

Mikronukleus testi sitogenetik harabiyetin tespitinde, kromozom analizine göre kolay uygulanabilmesi, daha fazla sayıda hücre sayılması ve istatistiksel yönden daha anlamlı sonuçlar elde edilmesi avantajı sağlamasıyla yaygın kullanım alanı bulan bir teknik olmuştur (Demirel ve Zamani 2002).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

Çalışmamızda olgu grubunu 2009-2011 yılları arasında Isparta Devlet Hastanesi Genel Cerrahi kliniğine ve Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı poliklinik ve servisine başvuran yeni tanı konulmuş, tedaviye başlanmamış ve cerrahi uygulanmamış meme kanseri tanısı alan kadın hastalar oluşturdu. Aşağıdaki anket formu değerlendirilerek olgu grubu için bireyler seçildi. 30 kadın hasta ve bunların birinci derece yakını (annesi, kızı, kızkardeşi) olan 22 kadından, heparinize enjektör ile alınan venöz periferal kan materyal olarak kullanıldı. Kontrol grubu Isparta Devlet Hastanesi Kan Alma Birimine rutin tetkikler için gelen sağlıklı kadınlardan heparinize enjektör ile alınan venöz periferal kan örnekleri ile oluşturuldu. Kontrol grubu, meme kanseri tanısı alan kadınlar ve bunların birinci derece yakınlarına uygulanan anketteki verilere uygun olmak şartıyla 20 sağlıklı gönüllü kadından seçildi. Hastalar, birinci derece yakınları ve kontrol grubu çalışma hakkında bilgilendirilerek onamları alındı.

Meme kanseri tanısı alan kadınlardan, bunların birinci derece yakınlarından ve kontrol grubundan alınan venöz periferal kan örnekleri KKD ve MN sıklığı açısından incelendi. PI hesaplandı.

## Meme Kanserli Hastalarda Sitogenetik Çalışma Formu

Adı – Soyadı :

Doğum Tarihi, Yeri :

Adres, Telefon :

Sosyoekonomik durum :

Sigara Kullanımı: Evet ( ) Hayır ( )

Kullanım Süresi:

Miktar:

Alkol Kullanımı: Evet ( ) Hayır ( )

Miktar:

Boy: cm

Ağırlık: kg

Menarş Yaşı:

Adet Düzeni:

Gravida:

Abortus:

Evlilik Yaşı:

İlk Tam Gebelik Yaşı:

Laktasyon Süresi:

Menapoz durumu: Premenapoz ( ) Postmenapoz ( )

Kaç yıldır menapozda?

Hormon replasman tedavisi yapıyor mu?

Menapoz Yaşı:

İşinde herhangi bir kimyasal maddeye maruz kalıyor mu?

Son 6 aydır röntgen / tomografi çekildi mi? Evet ( ) Hayır ( )

Son 1 aydır antibiyotik tedavisi aldı mı? Evet ( ) Hayır ( )

Lenf Nodülleri: Sağ aksilla  
Sol aksilla  
Sağ supraklavikular  
Sol supraklavikular

Tümör yerleşimi: Sağ meme  
Sol meme  
Bilateral

Ailede başka kanser hikayesi var mı?

Hastada başka kanser hikayesi var mı?

## Meme Kanserli Hastanın Birinci Derece Yakını İçin Sitogenetik Çalışma Formu

Adı – Soyadı :

Doğum Tarihi, Yeri :

Adres, Telefon :

Sosyoekonomik Durum :

Meme kanserli bireye yakınlık derecesi:

Annesi ( )

Kızı ( )

Kız kardeşi ( )

Teyzesi ( )

Anneannesi ( )

Sigara Kullanımı: Evet ( ) Hayır ( )

Kullanım Süresi:

Miktar:

Alkol Kullanımı: Evet ( ) Hayır ( )

Miktar:

Medeni durumu: Evli ( ) Bekar ( )

Çocuğu var mı? Evet ( ) Hayır ( )

Çocuğu varsa sayısı:

Çocuk /çocuklarını emzirme süresi:

İşinde herhangi bir kimyasal maddeye maruz kalıyor mu?

Son 6 aydır röntgen/tomografi çekildi mi? Evet ( ) Hayır ( )

Son 1 aydır antibiyotik tedavisi aldı mı? Evet ( ) Hayır ( )

NOT: Meme kanserli hastanın birinci derece yakınında herhangi bir kanser hikayesi bulunmamalıdır.

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Kültürün Oluşturulması

#### Kullanılan Solüsyonlar

##### Besiyerinin Hazırlanması:

RPMI 1640 Medium (Biological Industries, BİO1-106-1B)	100 ml
Fetal Calf Serum (Biological Industries, BİO4-001-1B)	20 ml
Fitohemaglutinin (Biological Industries, BİO12-006-1H)	2,5 ml
Penisilin / Streptomisin (Biological Industries, BİO3-031-1B)	1 ml
L- Glutamin (Biological Industries, BİO3- 020-1B)	1,5 ml

##### Fetal Calf Serumun Hazırlanması:

Fetal calf serum çözdürüldükten sonra 65<sup>0</sup>C'de 1 saat inaktive edildi.

##### Fitohemaglutinin Hazırlanması:

Ticari olarak gelen 5 ml fitohemaglutinin şişesi içinde 5 ml steril su ile sulandırıldı. Steril enjektör ile 2,5 ml çekilerek besiyerine eklendi. Kalan miktar - 20<sup>0</sup>C'de buzdolabında saklandı.

##### 5- Bromo-2 deoksiuridine Solüsyonunun Hazırlanması:

30,70 mg BrdU (Sigma, B5002) 10 ml distile su ile çözüldü, filtre edildi. Stok olarak hazırlanan bu solüsyon steril, ağzı kapaklı bir tüpe konup üzeri alimünyum folyo ile kaplanarak +4<sup>0</sup> C'de buzdolabında saklandı. Kültürde son konsantrasyon 10<sup>-2</sup> M'di.

##### Sitokalsin B Solüsyonunun Hazırlanması:

Ticari olarak gelen 1 mg sitokalsin B (Serva 1801501) şişesi içerisinde 0,5 ml ile çözüldü. 5 ml'ye steril distile su ile tamamlandı. Ependorflara 0,15 ml



bölündü. -20<sup>0</sup>C’de buzdolabında saklandı. Son konsantrasyon 6 µg/ml olacak şekilde hazırlandı.

### **Lenfosit Kültürü**

Besiyeri hazırlandıktan sonra ağzı kapaklı, konik steril doku kültürü tüplerine (Falcon, 15 ml) 5 ml olacak şekilde dağıtıldı. Bu tüpler 37<sup>0</sup>C etüve yerleştirilerek ısılarının 37<sup>0</sup>C’ye ulaşması sağlandı. LaminAir flow kabin içinde, steril ortamda, meme kanserli bireyler, birinci derece yakınları ve kontrol grubundan heparinli enjektörlere alınan venöz kanın, ilk iki damlası atılmak kaydıyla enjektörün iğnesi çıkartılarak kalın uçla 10-12 damla ekim yapıldı. Her hasta ve yakını için üçü KKD testi üçü de MN testi için olmak üzere toplam altı kültür oluşturuldu. Kanların kullanılmayan miktarları herhangi bir olumsuz durumda kullanılmak üzere enjektör içinde buzdolabında +4<sup>0</sup>C’de saklandı. Ekim yapılan tüpler 37<sup>0</sup>C etüvde 72 saat kültüre edildi. Ekim yapıldıktan sonraki 48. saatte KKD testi için kültüre edilen her tüpe stok BrdU solüsyonundan 0,1 ml eklenerek tüpler yavaşca alt üst edildi, kapakları parafilm ile sarıldı ve tüpler alüminyum folyo ile ışık görmeyecek şekilde kaplandı. Böylece fotodegradasyon önlenildi. Tüpler, 37<sup>0</sup>C’deki etüve kaldırılarak inkübasyona devam edildi. Kültürün 68. saatinde MN testi için kültüre edilen tüplere Cyt-B solüsyonundan 150 µl eklendi. Tüpler alt üst edilerek homojen hale getirildi ve 37<sup>0</sup>C etüve kaldırılarak inkübasyona devam edildi. Kardeş kromatid değişimi testi için kültüre edilen tüplere, kültürün 70. saatinde 10 µg/ml kolçisin (Biological Industries, 12-003-1C) eklendi. Ekim yapıldıktan sonraki 72. saatte KKD ve MN testi için kültüre edilen tüplerde aynı şekilde çıkarım işlemine geçildi.

### **3.2.2. Çıkarım**

#### **Kullanılan Solüsyonlar**

#### **Hipotonik Solüsyonu**

0,075 M KCl (Merck, 104936) olacak şekilde 0,56 gr KCl tartılarak 100 ml bidistile suda çözüldü. Kullanılacağı saatten en az 1 saat önce hazırlanarak 37<sup>0</sup>C’lik etüve konuldu.

## **Fiksatif Solüsyonu**

1 birim glisial asetik asit (Merck, 100056) üzerine 3 birim methanol (Merck, 106008) ilave edilerek karıştırıldı. Karışım kullanılmadan önce ve çalışma aralarında  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı. Her deney aşamasında taze olarak hazırlandı. Bu solüsyonun taze olması içindeki alkolün uçuculuğu açısından önemlidir.

## **Çıkarım:**

Kromozom preperasyonu için Moorhead ve arkadaşlarının tekniği (Lüleci ve ark., 1990), mikronükleus sayısını saptamak için Fenech (2000) ve Kirsch-Volders et al., (2003) tarafından geliştirilen metod modifiye edilerek kullanılmıştır. Kardeş kromatid değişimi testi için BrdU eklenerek kültüre edilen tüpler çıkarım sırasında da alimünyum folyoya sarılı olarak çalışıldı. 72. saatin sonunda etüvden çıkarılan tüpler 1200 rpm'de 10 dakika santrifüj (Hetich, universal 32R) edildi. Süpernatant kısmı pastör pipeti ile atıldı. Çökelti ile üzerinde kalan 0,5 ml'lik sıvı vortekslendi ve bu sırada üzerine yavaşça hipotonik (0,075 M KCl) solüsyon toplam hacim 6 ml olana kadar eklendi. Tüpler 20 dakika  $37^{\circ}\text{C}$  etüvde bekletildi. Süre bitiminde 1200 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi, pastör pipeti ile süpernatant kısmı atıldı. Çökelti ile üzerinde kalan 0,5 ml'lik sıvı vortekslendi. Tüpe yavaşça vurularak kalan çökelti homojenize edildi. Vorteksleme işlemi devam ederken tüplerin yan duvarından taze hazırlanan  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de buzdolabında saklanan soğuk fiksatif toplam hacim 6 ml olana kadar damla damla ilave edildi. Fiksatif eklendikten sonra tüpler en az 1 saat süreyle  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de bekletildi. Bu bekleme basamağı sadece ilk fiksatifle yıkama için önemlidir, diğer fiksatif aşamalarında bekleme yapılmadan renk şeffaf olana kadar yıkama işlemine devam edildi. Rengi açılan tüplerin üzerinden 4 ml süpernatant kısmı atıldı ve kalan 2 ml kısım yayma için kullanıldı. Kalan miktar yavaş yavaş pipetaj yapılarak karıştırıldı. Lamlar çıkarım işleminden bir gün önce bidistile suda yıkandı ve etil alkol içinde  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı. Yayma işlemine başlamadan önce etil alkol içerisinden çıkarılan lamlar gazlı bezle kurulandı, etiketlendi, kuru olarak şaleyeye dizildi. Buzdolabında  $-20^{\circ}\text{C}$ 'ye kaldırıldı. Yayma sırasında şaleyeye dizilen lamlar  $-20^{\circ}\text{C}$  çıkartılır ve soğuk lamların üzerine hafifçe üflendi. Yaklaşık 30 cm yukarıdan  $45^{\circ}\text{C}$ 'lik açı ile lam üzerine pastör pipeti dik tutularak 10-12 damla damlatıldı. Lamin

üzeri hızlıca üflendi. Kuruması için elde sallandıktan sonra kurutma kağıdı üzerine konuldu. Lamlar kuruduktan sonra boyama işlemine geçildi.

### **3.2.3. Kardeş Kromatid Değişimi ve Mikronükleus Boyama Tekniği**

#### **Kullanılan solüsyonlar**

##### **Hoechst (Bisbenzimid) stok solüsyonu**

0,5 mg Bisbenzimid (Serva, 1509001) 10 ml bidistile suda çözüldü. Bir tüpe koyularak ağzı parafilm ile sarılıp, alüminyum folyo ile sarılı olarak buzdolabında +4<sup>0</sup> C’de saklandı.

##### **2XSSC solüsyonu**

0,87 gr Na-sitrat (0,03 M Merck, 106448) ve 0,44 gr NaCl (0,3 M Merck, 106404) 100 ml bidistile suda çözüldü.

##### **Söranson tamponu**

A solüsyonu: 6,85 gr KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Merck, 104873) 500 ml bidistile suda çözüldü.

B solüsyonu: 18 gr NaHPO<sub>4</sub>. 2 H<sub>2</sub>O (Merck, 106586) 1000 ml bidistile suda çözüldü.

Balon jöjeye 44 ml A solüsyonundan, 56 ml B solüsyonundan konularak Söranson tamponu hazırlandı.

##### **Giemsa boya solüsyonu**

5 ml Giemsa lösing (Merck, 109204) mezura alınarak, üzeri 100 ml’ye Söranson tamponu ile tamamlandı.

##### **PBS stok solüsyonu**

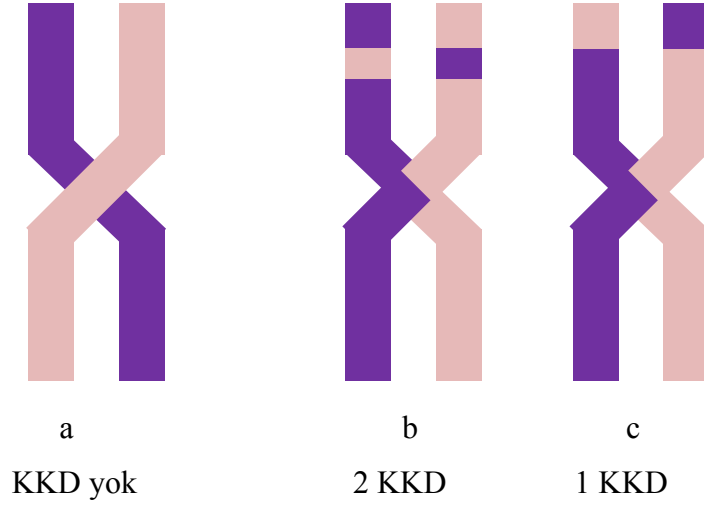
1 PBS tableti (Amresco, AIE404-100) 100 ml bidistile suda çözüldü.

## **Boyama**

Kardeş kromatid değişimi testi için Korenberg ve arkadaşlarının önerdikleri modifiye boyama yöntemi kullanıldı (Lüleci ve ark., 1990). Balon jodede iki PBS tableti 200 ml bidistile su içerisinde çözüldü ve 100 ml'si şaleye alınarak üzerine 0,1 ml stok Hoechst solüsyonu eklendi. Lamlar Hoechst solüsyonu bulunan şaleye ikili olarak yerleştirildi. Şale alüminyum folyo ile kaplandı ve karanlık ortamda preparatlar solüsyon içerisinde 10 dakika bekletildi. Süre sonunda Hoechst solüsyonu döküldü ve preparatlar kalan PBS solüsyonundan geçirilerek yıkandı. Preparatların üzeri ıslak bırakıldı. Preparatlar lam kutusunun kapağına dizilerek 13 cm yükseklikteki 366 nm UV lambası altında 45 dakika bekletildi. Süre sonunda preparatlar karanlık bir ortama alındı ve 1 gece bekletildi. Ertesi gün şale içerisine 100 ml 2XSSC konuldu ve su banyosunda 60<sup>0</sup>C'de ısıtıldı. Preparatlar karanlık ortamdan çıkartılarak 60<sup>0</sup>C'deki 2XSSC solüsyonu içerisinde 15 dakika bekletildi. Süre sonunda preparatlar tek tek distile sudan geçirildi. %5'lik Giemsa içerisinde 25 dakika bekletilerek boyandı. Mikronükleus testi için hazırlanan preparatlar %5'lik Giemsa içerisinde 15 dakika bekletilerek boyandı. Boyanan preparatlar distile sudan geçirildi ve dik olarak kurutuldu. Karanlıkta muhafaza edildi. Kardeş kromatid değişimi sıklığı mikroskopta (Olympus) immersiyon yağı ile 100'lük objektifte, MN oranı ise 40'lük objektifte incelendi.

### **3.2.4. Kardeş Kromatid Değişiminin Değerlendirilmesi**

Kardeş kromatid değişimi sayısı, meme kanseri hastaları, onların birinci derece yakınları ve kontrol grubu bireyleri için, iyi dağılmış ikinci mitozu geçiren uygun metafazlar seçilerek saptandı. İncelemeler sırasında kromatidlerin primer boğum bölgelerinden dönüm yapıp yapmadıklarına dikkat edildi. Bu durumdaki kromozomlarda KKD olmadığı için (Şekil 2.a) değerlendirmeye dahil edilmedi. İnterstisyel değişimler iki KKD olarak (Şekil 2.b), terminal parça değişimleri bir KKD (Şekil 2.c) olarak sayıldı. Her bir metafazda gözlenen toplam değişim değeri belirlendi ve her birey için 30 metafaz değerlendirilerek değişimlerin ortalaması alındı.



**Şekil 2.** Kardeş kromatid değişiminin olduğu ve olmadığı durumun şematik olarak gösterilmesi (Topaktaş ve Speit, 1990)'dan modifiye edilmiştir.

### 3.2.5. Proliferasyon İndeksinin (PI) Saptanması

Proliferasyon indeksini saptamak için tesadüfi seçilmiş 100 hücre incelenmiştir. Bu incelemeler sırasında gözlenen birinci, ikinci ve üçüncü metafaz evresindeki hücreler sayılmıştır. Proliferasyon indeksi şu şekilde hesaplanmıştır:

$M_1$ : 1. Mitozdaki hücre sayısı

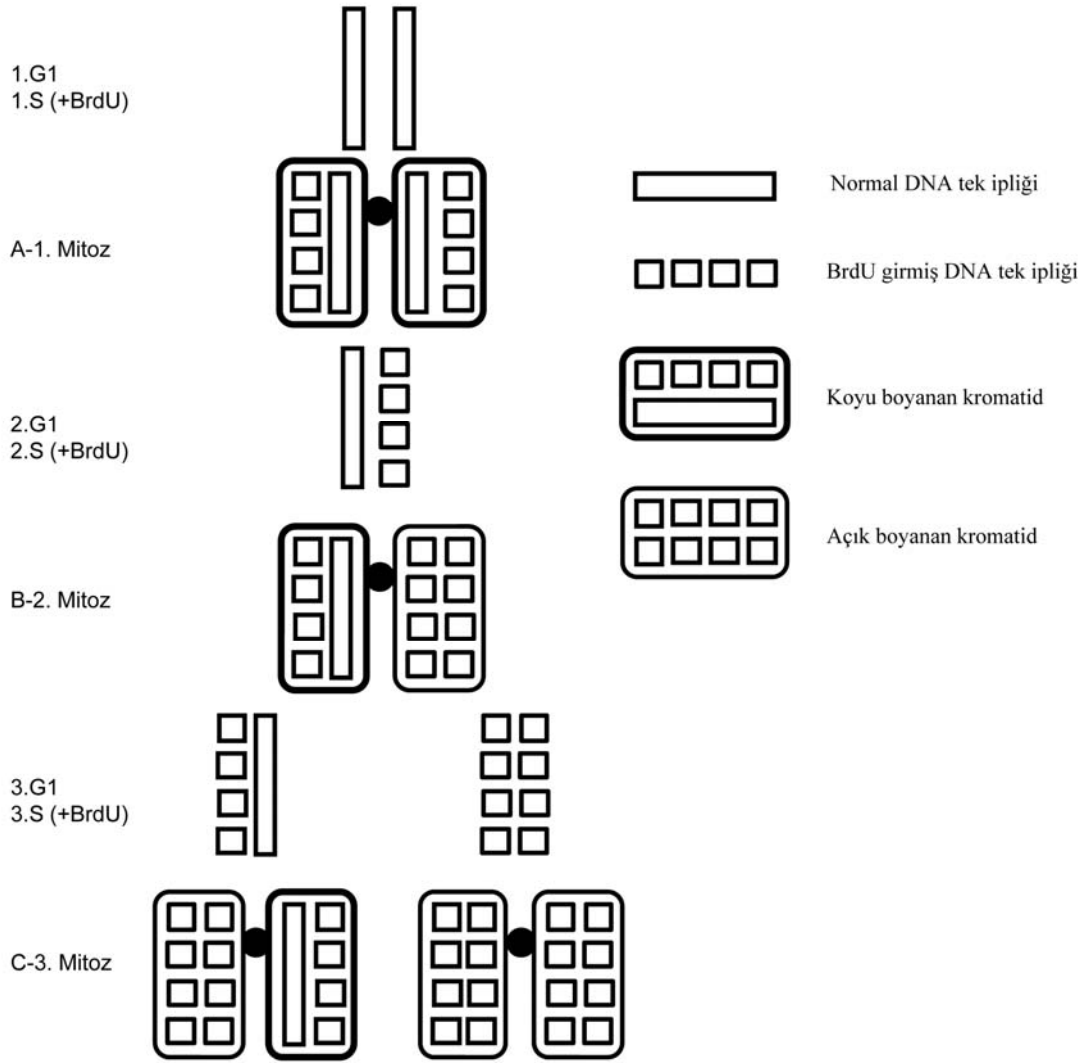
$M_2$ : 2. Mitozdaki hücre sayısı

$M_3$ : 3. Mitozdaki hücre sayısı

PI:  $1 \times M_1 + 2 \times M_2 + 3 \times M_3 / 100$

Birinci, ikinci ve üçüncü metafazlar şu şekilde ayırt edilmiştir: BrdU, deoksitimidin (dT) ve deoksiuridin (dU) birbirlerinin analogu olan bileşiklerdir. 5-Bromo-2 deoksiuridin, dT ve dU arasındaki tek fark taşıdıkları benzen halkasındaki 5.C atomuna dT'de  $CH_3$ , 5-Bromo-2-deoksiuridin'de Br ve dU'de H atomunun bağlı olmasından kaynaklanmaktadır (Topaktaş ve Speit, 1990). 5-Bromo-2-deoksiuridin, DNA'nın yapısında bulunan timin bazlarının analogu olduğundan dolayı kültür ortamına BrdU koyduğumuzda hücre DNA'sını replike ettiği sırada (1.S fazında) yeni sentezlenen polinükleotid ipliği içine timinin yerine ortamda bulunan BrdU'ü alacaktır. Böyle hücrelerinin kromozomları boyandığında bir kromozomun her iki

kromatidi de (dT/BrdU:dT/BrdU) homojen koyu renkte boyanacaktır. Bu hücreler birinci mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerdir (Şekil 3.A). Birinci mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerden meydana gelen yavru hücreler tekrar S fazına girdiğinde (BrdU'li ortamda 2.S fazı) timin ihtiva eden polinükleotid ipliğine komplementer olarak sentezlenen yeni DNA ipliğinde BrdU yer alacaktır. Bu iki polinükleotid ipliği bir kromozomun koyu boyanan kromatidini (dT/BrdU) oluşturacaktır. 5-Bromo-2-deoksiuridin'li ipliğe komplementer olarak sentezlenen yeni ipliğe de BrdU girecektir ve bir kromatidi oluşturan bu iki polinükleotid ipliği de BrdU ihtiva ettiklerinden (BrdU/BrdU) bu kromatid aynı kromozomun açık boyanan kromatidini oluşturacaktır. Bu hücrenin metafaz evresinde preparat yapıldığında hücrenin tüm kromozomlarının (dT/BrdU:BrdU/BrdU) kromatidlerinden biri koyu diğeri açık boyanacaktır. Bunlar da ikinci mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerdir (Şekil 3.B). Bu hücreler tekrar S fazına girdiğinde (BrdU'li ortamda 3.S fazı) ikinci mitozda açık boyanan kromatidden tüm polinükleotid ipliklerine BrdU girmiş olan bir kromozom meydana gelecektir. Bu kromozomun her iki kromatidi de açık renkte boyanacaktır (BrdU/BrdU:BrdU/BrdU). İkinci mitozda koyu boyanan kromatidden ise, bir kromatidin her iki ipliği BrdU'li ve diğeri kromatidin bir ipliği BrdU'li diğeri ipliği timinli olan bir kromozom oluşacaktır. Bu kromozom da boyandığında bir kromatidi koyu renkte, bir kromatidi de açık renkte boyanacaktır (dT/BrdU:BrdU/BrdU/BrdU). Bu hücrelerin metafaz evresinde preparat yapıldığında bazı kromozomların her iki kromatidi de açık renkte, bazı kromozomların bir kromatidi açık, diğeri kromatidi de koyu renkte boyanacaktır. Bu hücrelerde 3. mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerdir (Şekil 3.C). Proliferasyon indeksi 100 hücre içinde sayısı saptanmış, 1., 2. ve 3. mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerde yukarıda belirtilen formüle göre hesaplanmıştır.



**Şekil 3.** BrdU'nin DNA yapısına girmesi ile 1.,2. ve 3. mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerin ayırt edilmesinin şematik olarak açıklanması (During 1985'e göre Topaktaş ve Speit 1990'den modifiye edilmiştir).

### 3.2.6. Mikronükleus Oranının Değerlendirilmesi

Mikronükleus sayısı, meme kanseri hastaları, onların birinci derece yakınları ve kontrol grubu bireyleri için hazırlanmış olan preparatlarda iki nükleuslu hücreler seçilerek saptandı. Her bir kişiden hazırlanan preparatlardan 1000 iki nükleuslu (binükleer) hücre sayıldı. Bu iki nükleuslu hücrelerden mikronükleuslu olanlar saptandı.

### **3.2.7. İstatistik Yöntem**

Araştırma verileri SPSS versiyon 18.0 ile değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler olarak; sayı, %, ortalama ve standart sapma değerleri kullanıldı. Gruplar arası ölçüm verilerinin karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis varyans analiz testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık için  $p < 0,05$  sınır değer olarak kabul edildi. Anlamlılık bulunduğu durumda farkın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek amacıyla Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı. p değeri için sınır değer 0,0167 olarak alındı. Gruplar arası isimsel verilerin karşılaştırılmasında ki-kare testi yapıldı. KKD, MN, PI skorları ile yaş, menarş yaşı, emzirme süresi, çocuk sayısı değerlerin birbiriyle ilişkileri Spearmann korelasyon testi ile incelendi.

### **3.2.8. Fotoğrafik İşlemler**

Tezde örnek olarak verebilmek için meme kanseri hastaları, onların birinci derece yakınları ve kontrol grubu bireylerinden seçilen metafazlardan ve mikronükleus içeren hücrelerden, KKD için 100X objektifte immersiyon yağı altında, MN için 40X objektifte Olympus marka mikroskop ve Sony marka dijital fotoğraf makinesi kullanılarak fotoğraflar çekildi.



#### 4. BULGULAR

Çalışmamızda 2009-2011 yılları arasında Isparta Devlet Hastanesi Genel Cerrahi kliniğine ve Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı poliklinik ve servisine başvuran yeni tanı konulmuş, tedaviye başlanmamış ve cerrahi uygulanmamış meme kanseri tanısı alan 30 kadın hastadan alınan kan örneklerinden KKD ve MN sıklığı açısından sitogenetik analiz yapılmıştır. Bununla birlikte bu hastaların birinci derece yakını olan 22 kadından alınan kan örneklerinde de KKD ve MN sıklığı değerlendirilmiştir. Kontrol grubu olarak Isparta Devlet Hastanesi Kan Alma Birimine rutin tetkikler için başvuran 20 sağlıklı kadından kan örnekleri alınarak KKD ve MN sıklığı açısından sitogenetik inceleme yapılmıştır. Kontrol grubunu, kendisinde ve ailesinde kanser hikayesi olmayan, en az bir çocuk sahibi ve emziren, son bir ay içerisinde antibiyotik tedavisi almayan ve radyasyona maruz kalmayan, sigara ve alkol alışkanlığı bulunmayan kadınlar oluşturmuştur.

Hasta grubunun yaş, tümör yerleşimi, menarş yaşı, ilk tam gebelik yaşı, çocuk sayısı, emzirme süresi, menopoz durumu, sigara kullanımı, ailede kanser hikayesi ve sosyoekonomik durumu Tablo 5’de gösterilmiştir.

Tablo 5. Hasta grubunun demografik özellikleri

Hasta No	Ya ú	Tümör Yeri ümi Sa#Sol meme	Menar ú Ya úü	ølk Tam Gebelik Ya úü	Çocuk Sayışö	Emzirme süresi (Ay)	Menopoz Durumu Pre/post	Sigara Kullan öñö /Süresi	Ailede kanser hikayesi	Sosyo Ekonomik Durum
1	84	Sol	12	22	1	8	Post	Yok	Yok	øi
2	55	Sa-	16	24	1	6	Post	Yok	Var	øi
3	45	Sol	13	20	1	10	Pre	Yok	Yok	øi
4	48	Sol	13	23	1	12	Pre	Yok	Yok	Orta
5	62	Sol	14	18	1	8	Post	Yok	Yok	Kötü
6	55	Sa-	15	30	2	36	Post	Yok	Yok	Orta
7	53	Sa-	14	26	1	12	Post	Yok	Var	Orta
8	82	Sa-	16	20	1	18	Post	Yok	Var	Orta
9	50	Sol	16	21	1	12	Pre	Yok	Var	Orta
10	46	Sa-	14	0	0	0	Pre	Yok	Var	Kötü
11	55	Sa-	14	0	0	0	Pre	Yok	Var	øi
12	66	Sa-	16	18	2	28	Post	Yok	Var	øi
13	45	Sol	12	24	2	30	Pre	Yok	Var	øi
14	62	Sa-	12	25	1	2	Post	Yok	Yok	øi
15	37	Sol	13	19	1	12	Pre	Yok	Var	øi
16	62	Sa-	14	23	3	29	Post	Yok	Yok	Orta
17	57	Sol	15	24	3	28	Post	Yok	Yok	øi
18	60	Sol	16	0	0	0	Post	Yok	Yok	øi
19	64	Sa-	13	18	4	26	Post	Yok	Var	Orta
20	57	Sa-	14	18	3	36	Post	Yok	Yok	øi
21	38	Sa-	12	25	2	18	Pre	Yok	Yok	Orta
22	61	Sa-	14	0	0	0	Post	Yok	Yok	øi
23	45	Sol	11	21	1	9	Pre	Yok	Yok	øi
24	50	Sa-	14	19	2	8	Pre	Yok	Var	Orta
25	41	Sol	14	21	2	6	Pre	Yok	Var	Orta
26	35	Sa-	13	0	0	0	Pre	Yok	Var	Kötü
27	75	Sa-	15	17	2	16	Post	Yok	Yok	øi
28	44	Sa-	13	22	1	5	Pre	Yok	Yok	øi
29	77	Sol	16	26	4	36	Post	Yok	Yok	øi
30	50	Sol	11	26	2	4	Post	Yok	Var	Kötü

Meme kanserli hastaların birinci derece yakınlarında, yaş, hastaya yakınlık derecesi, menarş yaşı, çocuk sayısı, emzirme süresi, menopoz durumu, sigara kullanımı, sosyoekonomik durumu Tablo 6’da gösterilmiştir.

**Tablo 6.** Birinci derece yakınların demografik özellikleri

1.derece yakın No	Yaş	Hastaya yakınlık derecesi	Menarş Yaşı	Çocuk Sayısı	Emzirme süresi (Ay)	Menopoz Durumu Pre/post	Sigara Kullanımı/Süresi	Sosyo Ekonomik Durum
1	42	Kızı	12	3	40	Pre	Yok	Orta
2	38	Kızkardeşi	14	2	28	Pre	Var-15 yıl	Kötü
3	40	Kızı	10	2	18	Pre	Yok	Orta
4	37	Kızı	14	1	24	Pre	Yok	İyi
5	36	Kızı	12	1	10	Pre	Yok	İyi
6	59	Annesi	10	2	0	Post	Yok	Kötü
7	16	Kızı	11	0	0	Pre	Yok	Orta
8	23	Kızı	13	1	24	Pre	Var	Orta
9	56	Kızkardeşi	14	2	9	Post	Yok	Orta
10	51	Kızkardeşi	16	2	24	Post	Yok	Orta
11	48	Kızkardeşi	14	2	28	Pre	Yok	Orta
12	58	Annesi	15	8	24	Post	Var	Kötü
13	22	Kızı	12	0	0	Pre	Yok	Orta
14	38	Kızkardeşi	14	2	24	Pre	Var	Kötü
15	28	Kızı	12	0	0	Pre	Yok	İyi
16	64	Kızkardeşi	13	3	54	Post	Yok	Orta
17	61	Kızkardeşi	15	3	54	Post	Yok	Orta
18	33	Kızkardeşi	13	3	29	Pre	Yok	Orta
19	57	Annesi	12	2	20	Post	Yok	Kötü
20	44	Kızı	14	0	0	Pre	Yok	Orta
21	40	Kızkardeşi	10	2	36	Pre	Yok	İyi
22	56	Kızı	11	2	12	Post	Var	İyi

Kontrol grubunun yaş, menarş yaşı, çocuk sayısı, emzirme süresi, menopoz durumu, sigara kullanımı ve sosyoekonomik durumu Tablo 7’da gösterilmiştir.

**Tablo 7.** Kontrol grubunun demografik özellikleri

Kontrol No	Yaş	Menarş Yaşı	Çocuk Sayısı	Emzirme süresi (Ay)	Menopoz Durumu Pre/post	Sigara Kullanımı/Süresi	Sosyo Ekonomik Durum
1	53	12	2	12	Post	Yok	İyi
2	45	11	1	6	Pre	Yok	Orta
3	57	15	1	9	Post	Yok	İyi
4	54	16	2	12	Post	Yok	İyi
5	60	13	1	12	Post	Yok	İyi
6	66	10	1	9	Post	Yok	Kötü
7	54	10	2	18	Post	Yok	İyi
8	38	14	1	24	Pre	Yok	İyi
9	58	12	4	36	Post	Yok	İyi
10	65	16	2	18	Post	Yok	Orta
11	59	15	1	12	Post	Yok	Kötü
12	61	15	1	6	Post	Yok	İyi
13	54	12	1	12	Post	Yok	İyi
14	52	14	2	24	Pre	Yok	İyi
15	49	11	2	12	Pre	Yok	Orta
16	57	13	1	6	Post	Yok	Orta
17	29	15	2	18	Pre	Yok	Kötü
18	37	12	1	24	Pre	Yok	Kötü
19	45	11	2	12	Pre	Yok	İyi
20	51	13	3	18	Post	Yok	Orta

Grupların yaşlara göre dağılımına bakıldığında, hasta grubunun yaşları 35-84 arasında değişmekte olup yaş ortalaması  $56.36 \pm 2.32$  olarak saptanmıştır. Meme kanserli hastaların birinci derece yakınlarında yaşlar 16-64 arasında değişmekte olup yaş ortalaması  $43.04 \pm 2.91$  olarak bulunmuştur. Kontrol grubunun ise yaşları 29-66 arasında değişmekte olup yaş ortalaması  $52 \pm 2.12$ 'dir (Tablo 8).

Grupların menarş yaşı dağılımına bakıldığında, hasta grubunun menarş yaş ortalaması  $13,83 \pm 0,27$ , birinci derece yakınların  $12,77 \pm 0,36$  ve kontrol grubunun  $13 \pm 0,42$  olarak bulunmuştur (Tablo 8).

Grupların çocuk sayısı dağılımına bakıldığında, hasta grubunun çocuk sayısı ortalaması  $1,5 \pm 0,20$ , birinci derece yakınlarında  $1,95 \pm 0,35$  ve kontrol grubunda  $1,65 \pm 0,18$  olarak tespit edilmiştir (Tablo 8).

Grupların emzirme süreleri dağılımına bakıldığında ise, hasta grubunda  $13,83 \pm 2,17$ , birinci derece yakınlarında  $20,81 \pm 3,46$  ve kontrol grubunda  $15,00 \pm 1,69$  olarak saptanmıştır (Tablo 8).

Hastaların tümör yerleşimi olarak %43,33'ü sol ve %56,66'sı sağ meme lokalizasyonundaydı.

Menapozal duruma bakıldığında, hastaların %43,33'ü premenapozal, %56,66'si postmenapozal dönemdeydi. Birinci derece yakınların %63,63'sü premenapozal, %36,36'sı postmenapozaldı. Kontrol grubunun ise %35'i premenapozal, %65'i postmenapozal dönemdeydi.

**Tablo 8.** Grupların yaş, menarş yaşı, çocuk sayısı ve emzirme sürelerine göre değerlendirilmesi

	Yaş Ort ± Ss	Menarş Yaşı Ort ± Ss	Çocuk Sayısı Ort ± Ss	Emzirme Süreleri
Hasta	56,36±2,32	13,83±0,27	1,50±0,20	13,83±2,17
1.derece yakını	43,04±2,91	12,77±0,36	1,95±0,35	20,81±3,46
Kontrol	52,00±2,12	13,00±0,42	1,65±0,18	15,00±1,69

Hasta, birinci derece yakını ve kontrol grubunun yaş ortalamalarında Kruskal-Wallis varyans analizi testine göre anlamlı farklılık bulunmuştur ( $p=0.01$ ;  $p<0,05$ ). Yapılan Mann-Whitney U testine göre yaş ortalamasında farklılığı oluşturan grubun birinci derece yakınlar olduğu bulunmuştur ( $p<0,01$ ). Grupların menarş yaşı dağılımına bakıldığında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p=0.08$ ;  $p>0,05$ ). Çocuk sayısı dağılımına bakıldığında gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ( $p=0.44$ ;  $p>0,05$ ).

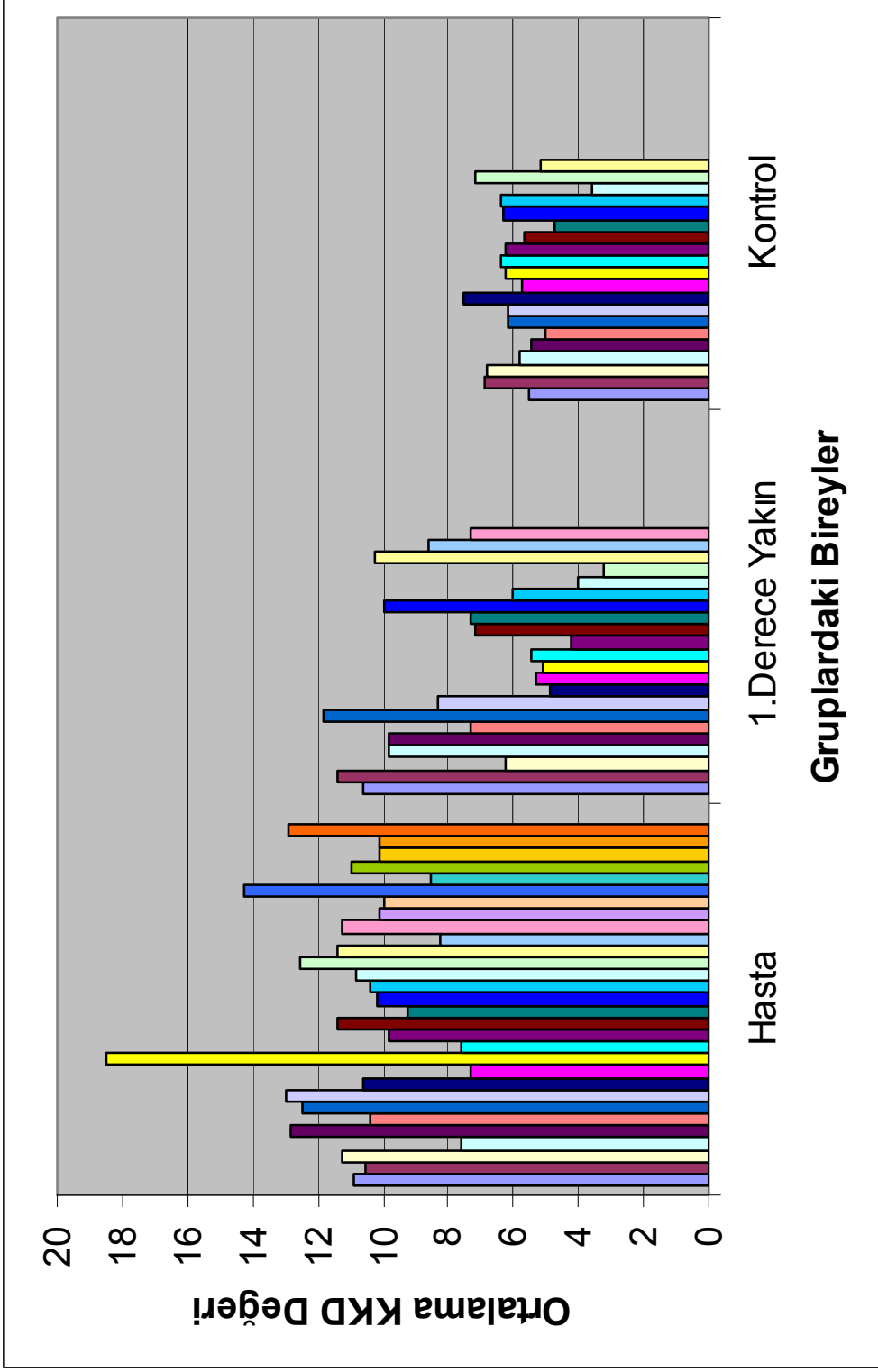
Hasta ve kontrol grubunda sigara alışkanlığı olan birey bulunmazken, birinci derece yakınlarında 22 bireyden 5'inde sigara alışkanlığı bulunmaktadır. Birinci derece yakınlarında bulunan bu farklılık ki-kare testinde anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

Çalışmamızda ortalama KKD değerleri hasta grubunda  $10,84±0,40$ , birinci derece yakınında  $7,45±0,54$  ve kontrol grubunda  $5,94±0,20$  olarak bulunmuştur. Şekil 4'de bireylerin ortalama KKD değerlerinin karşılaştırılması gösterilmiştir. Ortalama PI değerleri hasta grubunda  $1,48±0,01$ , birinci derece yakınlarında  $1,74±0,03$  ve kontrol grubunda  $1,61±0,02$  olarak hesaplanmıştır. Ortalama MN değerleri hasta grubunda  $9,6±0,72$ , birinci derece yakınlarında  $7±0,64$  ve kontrol

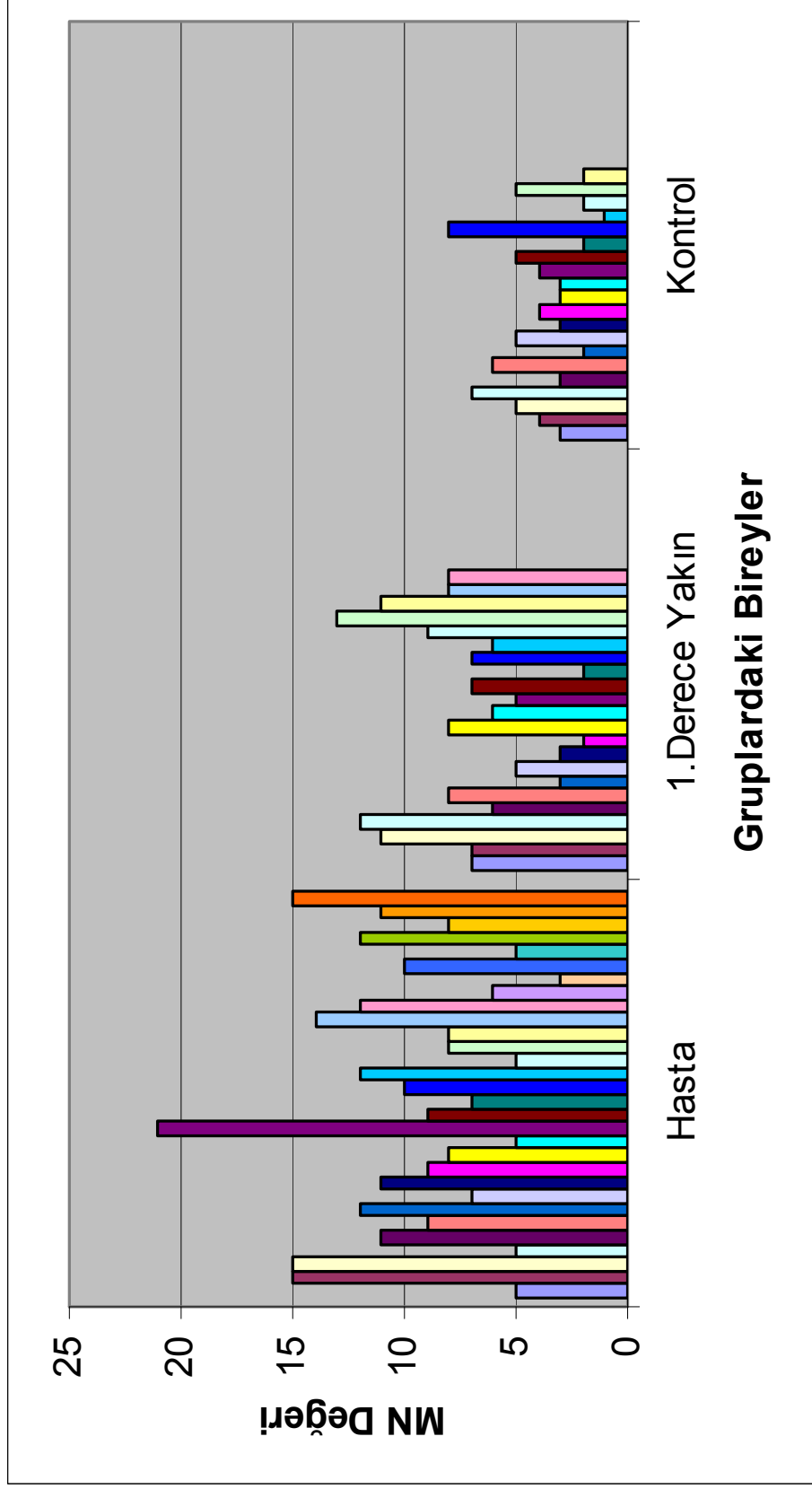
grubunda  $3,85\pm0,40$  olarak bulunmuştur (Tablo 9). Şekil 5’de bireylerin MN değerlerinin karşılaştırılması gösterilmiştir.

**Tablo 9.** Grupların ortalama KKD, PI ve MN değerleri

	KKD Ort±Ss	PI Ort±Ss	MN Ort±Ss
Hasta	10,84±0,40	1,48±0,01	9,60±0,72
1.derece yakını	7,45±0,54	1,74±0,03	7,00±0,64
Kontrol	5,94±0,20	1,61±0,02	3,85±0,40



Şekil 4. Ortalama KKD değerlerinin gruplara göre dağılımı



Şekil 5. MN sıklığının gruplara göre dağılımı



Yapılan Kruskal-Wallis varyans analiz testinde gruplar arasında KKD, PI ve MN değerleri arasında anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,00$ ;  $p<0,05$ ). Yapılan Mann-Whitney U testinde aşağıda Tablo-10'da gösterildiği gibi hasta ile birinci derece yakınlarının ve hasta ile kontrol gruplarının KKD değerlerinin karşılaştırılmasında ileri düzeyde anlamlılık tespit edilmiştir ( $p<0,01$ ). Birinci derece yakınları ile kontrol grubu karşılaştırılmasında ise anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,01$ ). PI değerleri gruplar arası karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde farklılık gözlenmiştir ( $p<0,01$ ). Mikronükleus değerleri açısından hasta ile kontrol grubu ve birinci derece yakın ile kontrol grubu karşılaştırıldığında anlamlı farklılık gözlenirken ( $p<0,01$ ), hasta ile birinci derece yakın karşılaştırmasında ise anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ( $p>0,01$ ).

**Tablo 10.** KKD, PI ve MN değerlerinin gruplar arasında istatistiksel karşılaştırılması

Karşılaştırılan gruplar	KKD(p)*	PI(p)*	MN(p)*
Hasta - 1.derece yakın	0,000	0,000	0,020
Hasta –kontrol	0,000	0,000	0,000
1.derece – kontrol	0,074	0,001	0,001

\* $p<0,05$

Hasta grubu KKD sıklığının yaş, menarş yaşı, çocuk sayısı ve emzirme süresi sperman korelasyon testi ile değerlendirildiğinde KKD sıklığı ve yaş arasında pozitif yönde zayıf bir korelasyon saptanmıştır ( $p<0,05$ ). Menarş yaşı, çocuk sayısı ve emzirme süresi arasında anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır ( $p>0,05$ ). Birinci derece yakınlarda KKD sıklığının yaş, menarş yaşı, çocuk sayısı ve emzirme süresi ile korelasyonu anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Kontrol grubunda KKD sıklığı ile yaş, menarş yaşı, çocuk sayısı ve emzirme süresi ile anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır ( $p>0,05$ ) (Tablo11).

**Tablo 11.** KKD'nin gruplarda yaş, menarş yaşı, çocuk sayısı ve emzirme süresi ile korelasyonu

KKD	Hasta		1.Derece Yakın		Kontrol	
	Korelasyon katsayısı(r)	p*	Korelasyon katsayısı(r)	p*	Korelasyon katsayısı(r)	p*
Yaş	0,36	0,04	-0,21	0,34	-0,008	0,97
Menarş Yaşı	0,68	0,72	-0,20	0,36	0,14	0,55
Çocuk Sayısı	-0,11	0,95	-,0,25	0,25	-0,22	0,92
Emzirme Süresi	-0,17	0,34	0,02	0,90	-0,20	0,38

\*p< 0,05

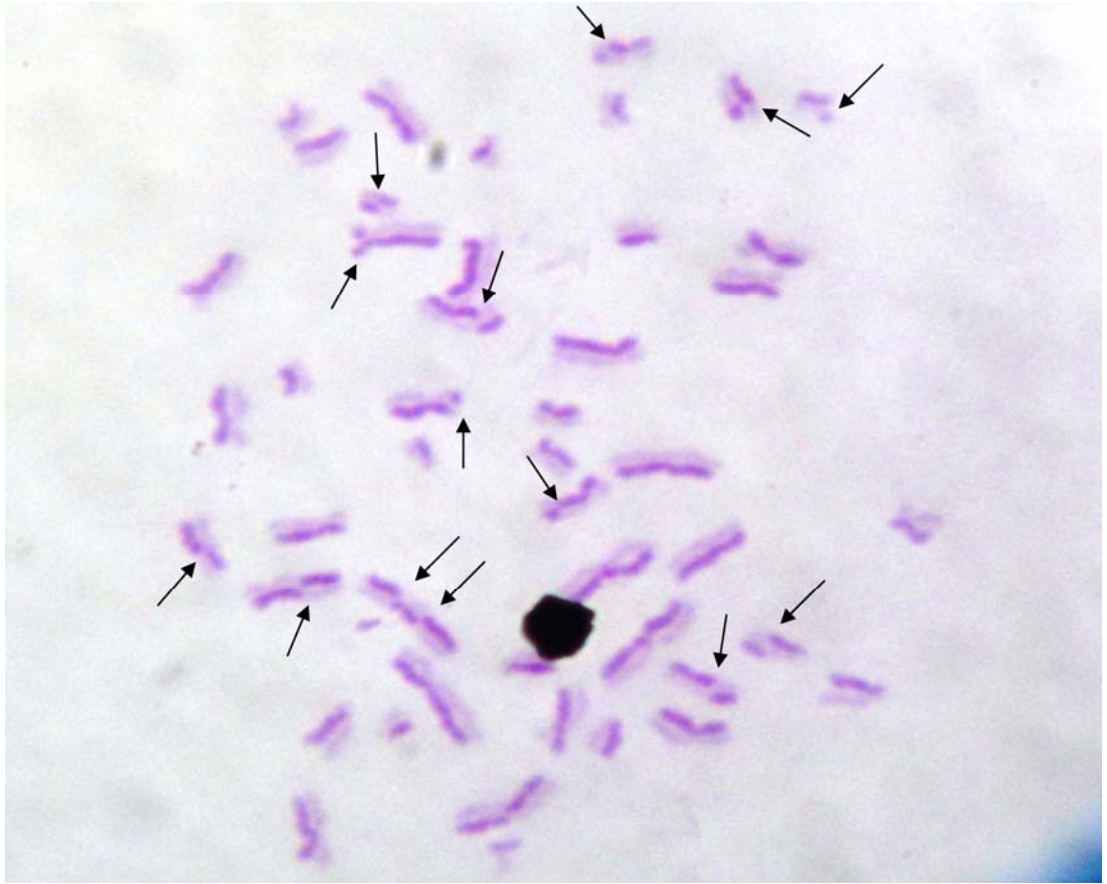
Mikronükleus sıklığı hasta, birinci derece yakın ve kontrol grubunda yaş, menarş yaşı, çocuk sayısı ve emzirme süresi ile anlamlı bir korelasyon göstermemiştir (p>0,05) (Tablo 12).

**Tablo 12.** MN'nin gruplarda yaş, menarş yaşı, çocuk sayısı ve emzirme süresi ile korelasyonu

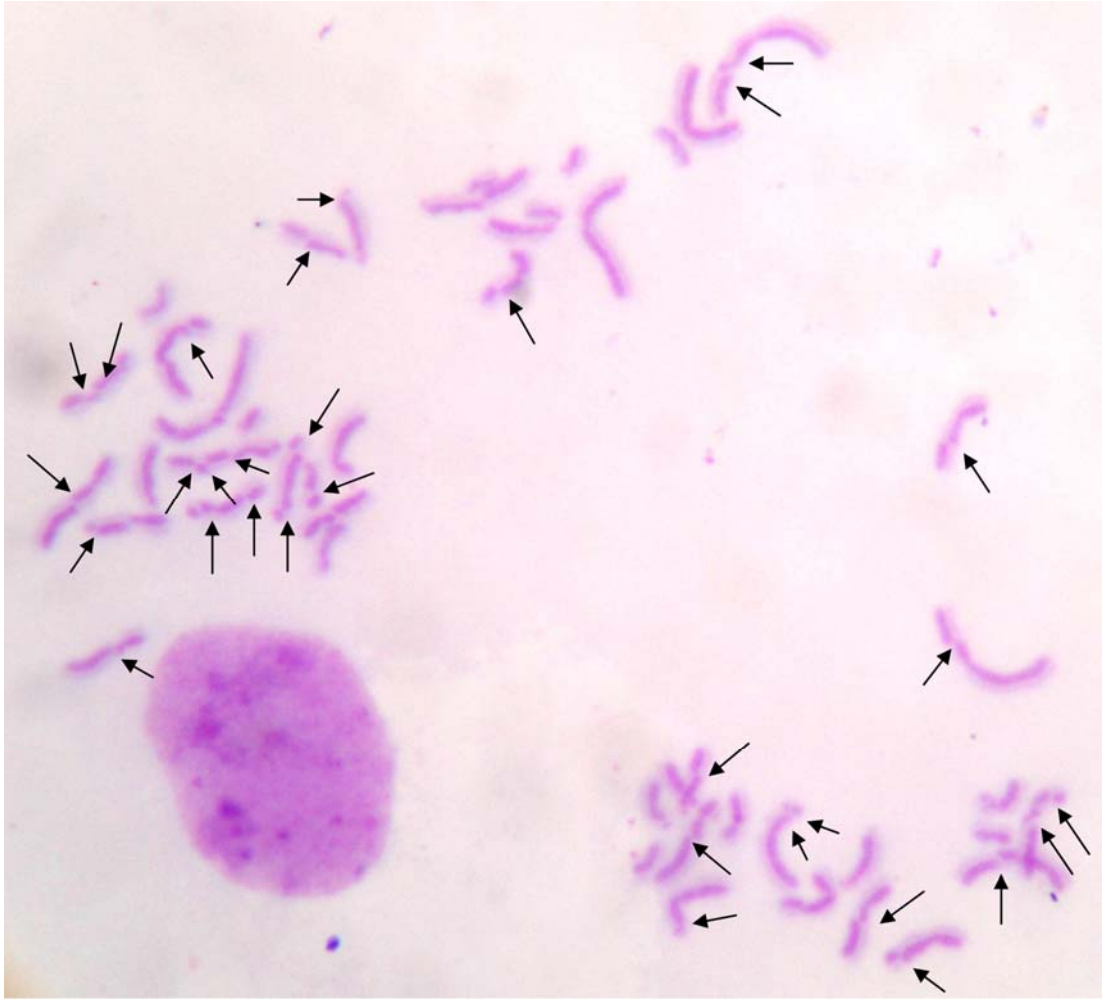
MN	Hasta		1.Derece Yakın		Kontrol	
	Korelasyon katsayısı(r)	p*	Korelasyon katsayısı(r)	p*	Korelasyon katsayısı(r)	p*
Yaş	-0,081	0,67	0,22	0,31	0,29	0,21
Menarş Yaşı	-0,014	0,94	-0,22	0,31	0,14	0,54
Çocuk Sayısı	0,22	0,23	0,17	0,42	-0,31	0,17
Emzirme Süresi	0,15	0,42	0,17	0,43	-0,37	0,10

\*p< 0,05

Hasta, birinci derece yakın ve kontrol grubunda KKD ve MN sıklığının tümör yerleşimi, aile hikayesi, menopozal durum, sosyoekonomik durum ve sigara kullanımı ile ilişkisi ki-kare testi ile analiz edilmiş ve anlamlı bir sonuç bulunamamıştır (p>0,05).



**Resim 1.** Hasta grubuna ait metafaz örneği.



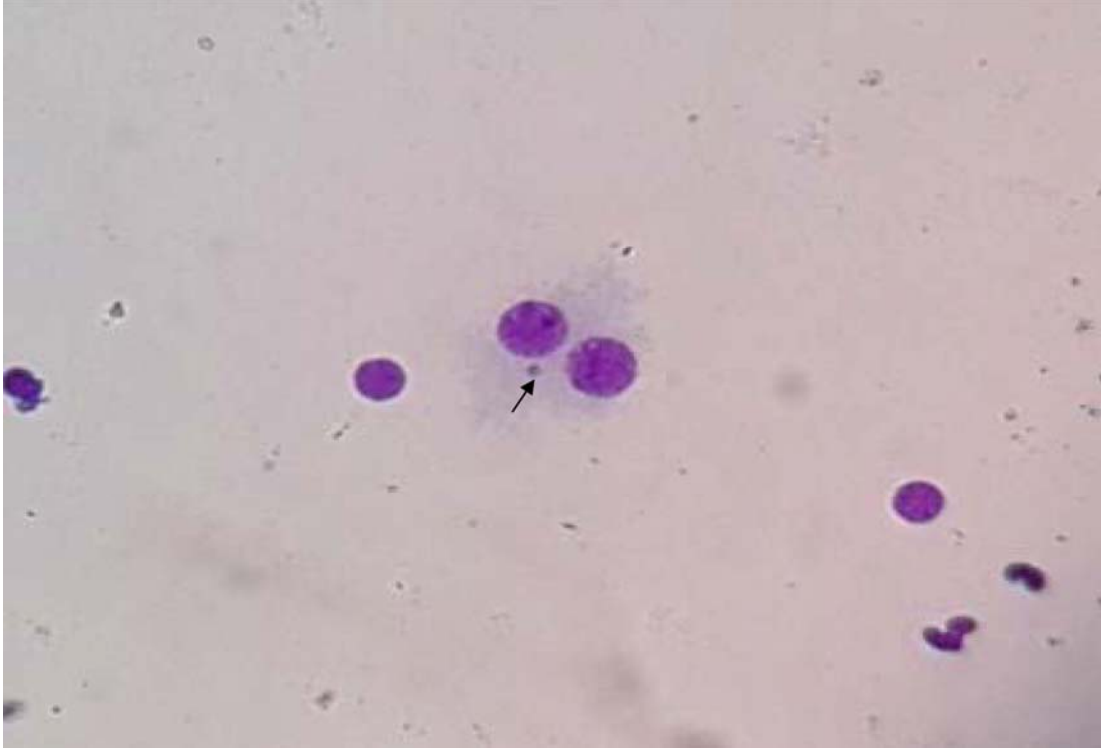
**Resim 2.** Hasta grubuna ait metafaz örneği.



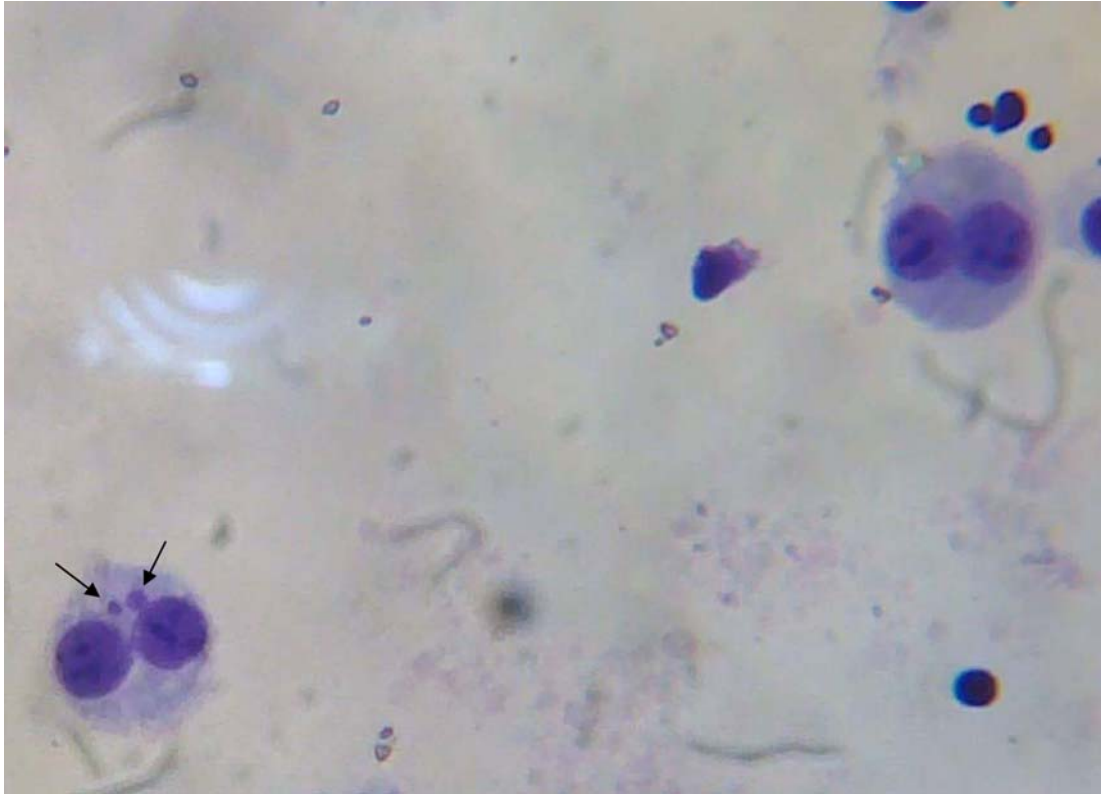
**Resim 3.** Birinci derece yakınlara ait metafaz örneği.



**Resim 4.** Kontrol grubuna ait metafaz örneği.



**Resim 5.** İnsan periferal lenfositlerinde bir mikronükleus içeren binükleer hücre

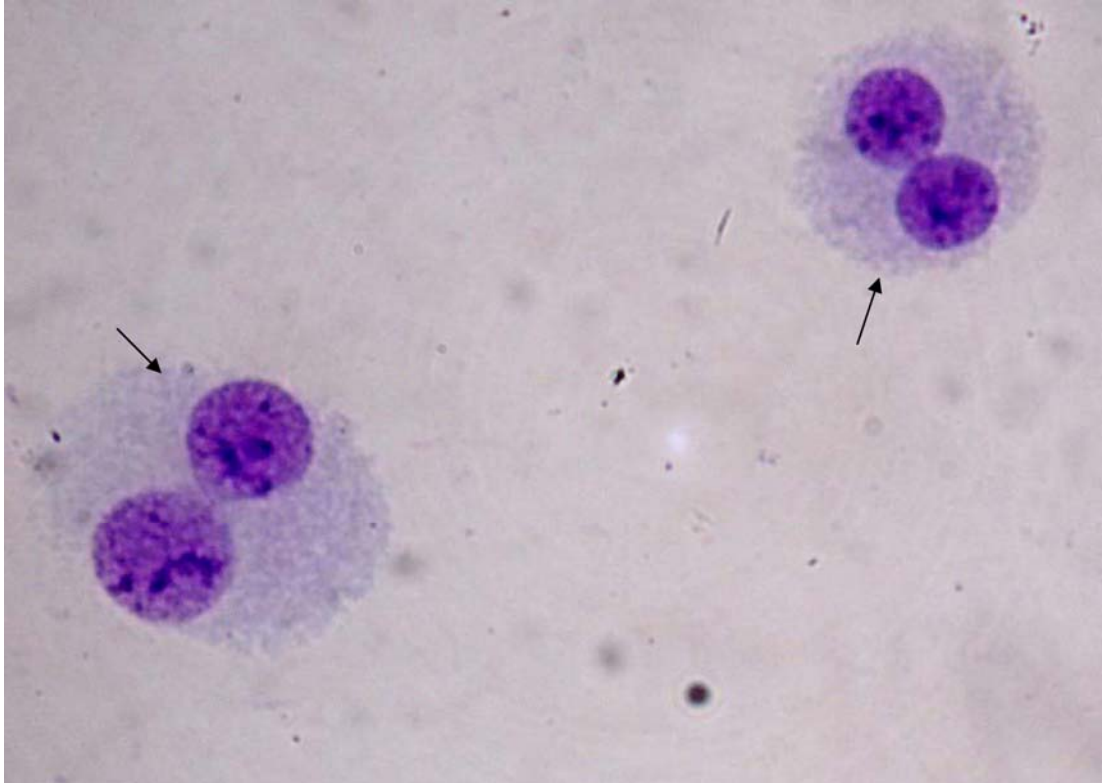


**Resim 6.** İnsan periferal lenfositlerinde iki mikronükleus içeren binükleer hücre





**Resim 7.** İnsan periferel lenfositlerinde iki mikronükleus içeren binükleer hücre



**Resim 8.** İnsan periferel lenfositlerinde binükleer hücreler



## 5. TARTIŞMA

Kanser, hücre ölümü, hücre farklılaşması ve hücre bölünmesini doğrudan ya da dolaylı yollarla kontrol eden çok çeşitli genlerde meydana gelen genetik ve epigenetik değişimler sonucu oluşur (Sandberg, 1991). Kanserın sık görülen formlarından olan meme kanseri, çevresel ve genetik faktörlerin etkisi sonucu meydana gelen multifaktöriyel bir hastalıktır. Meme tümörü hikayesinin anlaşılmasında, gelişiminin engellenmesinde ve tedavisinde genetik değişiklikler ve bunların biyolojik sonuçları kritik öneme sahiptir (Deshpande, 2008). Kanser için genetik yatkınlığın yapısal kromozom kararsızlığı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Kromozomal düzenlenme proto-onkogen aktivasyonunda ve tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonunda etkili olup, tümörün başlamasında ve ilerlemesinde anahtar bir rol alır (Deshpande, 2008). Kanser genetiği araştırmalarında sitogenetik, moleküler sitogenetik ve moleküler genetik gibi yöntemlerle yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Kardeş kromatid değişimi ve mikronükleus testi pek çok tümörün gelişimine neden olan kromozomal kararsızlığı belirlemede kullanılan sitogenetik işaretleyicilerdir (Aristei et al., 2009).

Kardeş kromatid değişim testi ve lenfosit proliferasyonu in vitro olarak çeşitli malign ve malign olmayan hastalıklarda genotoksik kimyasallara maruz kalmanın göstergesi, genom instabilitesi ve hastalık evresinin markırı olarak kullanılmaktadır (Kopjar et al., 2007). DNA hasarının ve indüklenmiş DNA tamirinin gösterilmesinde basit, duyarlı ve kısa zamanda sonuç veren bir yöntem olarak kullanılmakta olan kardeş kromatid değişim sıklığı, yaş, cinsiyet, bireylerin genetik yapısı, sigara, alkol, radyasyon, bazı kimyasallar ve kültür koşulları gibi birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir (Cleaver et al., 1996, Stoilov et al., 2002). Bu nedenle, KKD sıklığı analizi yapılırken, çok dikkatli olunmalı ve mümkün olduğunca bu faktörler çalışma ve kontrol grupları arasında standardize edilmelidir. Kardeş kromatid değişimi, DNA'da çok küçük harabiyetlerin bile hassas göstergesi olarak kabul edilmektedir. Sağlıklı hücrelerde belli bir oranda izlenmekte ancak DNA hasarına yol açan etkenler, bazı kronik hastalıklar, çeşitli virüs ve bakteri enfeksiyonları KKD'de anlamlı derecede artışa yol açmaktadır (Egeli, 1998, Emery and Mueller, 1988, Erol ve ark., 2002). Ayrıca KKD sıklığındaki artışın kanser riskini ifade eden ve

genotoksik bir maruziyetin göstergesi olduğunu kabul eden çalışmalar da mevcuttur. Serviks uteri, over, meme, prostat, nazofarinks (Aristei et al.,2009) ve sindirim sistemi kanseri gibi çeşitli kanserlerde KKD sıklığında artış gözlenmiştir (Deshpande, 2008).

Mikronükleus testi, sitogenetik harabiyetin tespitinde, kromozom analizine göre kolay uygulanabilmesi, daha fazla sayıda hücre sayılması ve istatistiksel yönden anlamlı sonuçlar elde edilmesi avantajlarından dolayı yaygın kullanılan bir tekniktir (Labay et al., 2001, Naccarati 2000). Mikronükleuslar ait oldukları hücrelerde kromozom kırıklarını, premalign ve malign değişiklikleri gösterebildiklerinden bir biyomarkır olarak değerlendirilebilmekte ve karsinojenlere maruz kalmış bireylerde artmış kanser riskini göstermek amacıyla kullanılabilir (Demirel ve Zamani, 2002).

Aristei et al. (2009) erken evre 20 meme kanserli hasta ( $8,2\pm 0,9$ ) ve 12 sağlıklı kadından ( $6,6\pm 0,6$ ) oluşan kontrol grubu ile yaptıkları çalışma neticesinde KKD sıklığı açısından iki grup arasında anlamlı farklılık bulmuşlardır. Hasta grubunu oluşturan kadınların 11'inde, ailede kanser hikayesi tespit edilmesi üzerine aile hikayesinin KKD sıklığına etkisi değerlendirilmiş, kanser hikayesi olanlarla olmayanlar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p=0,67$ ).

Roy et al. (2000) iki birinci ve/veya ikinci derece yakınında ailesel meme kanseri hikayesi olan 11 meme kanseri kadın, bunların sağlıklı 36 yakını ve 22 ailesel kanser hikayesi olmayan sağlıklı kontrol olmak üzere 69 kadında yaptıkları çalışmada KKD sıklığı ve kromozomal aberasyon (KA) analizi yapmışlardır. KKD sıklığı, hasta grubunda ( $11,01\pm 0,5$ ), hasta yakınları ( $9,36\pm 0,16$ ) ve kontrol grubuna ( $7,67\pm 0,15$ ) göre anlamlı olarak yüksek bulunurken ( $p<0,001$ ), hasta yakınlarının KKD sıklığı da kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek olduğu saptanmıştır. Kromozomal aberasyon değerlerine bakıldığında ise hasta grubunda ( $0,13\pm 0,01$ ), hasta yakınlarına ( $0,09\pm 0,005$ ) ve kontrol bireyelerine ( $0,06\pm 0,005$ ) oranla, hasta yakınlarında ise kontrole oranla anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,001$ ).

Total veya kısmen mastektomi ve aksillar lenf nodu diseksiyonu uygulanmış 30 meme kanseri hastasında kemoterapi öncesi ve sonrasındaki KKD değerleri, 30 sağlıklı gönüllü kadından oluşan kontrol grubuna ait değerler ile karşılaştırılmıştır. Hasta grubunda sigara içme alışkanlığı olan birey bulunmazken, kontrol grubunda 11 kişinin sigara kullandığının belirlenmesi üzerine KKD sıklığı hasta grubu ( $4,91\pm 0,05$ ) ve sigara içmeyen kontrol grubundaki 19 birey ( $3,75\pm 0,03$ ) arasında değerlendirilmiş ve anlamlı fark saptanmıştır. Kontrol grubunun KKD değerinin sigara kullanımıyla artmış olabileceği belirtilmiştir. Hastaların kemoterapi öncesi KKD değerleri, farklı kemoterapi protokolleri aldıktan sonraki değerleri ile karşılaştırıldığında, kemoterapi sonrası KKD değerleri, anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur ve bu durumun genomik hassasiyetinin artmasıyla bağlantılı olduğu sonucuna varılmıştır (Kopjar et al., 2007).

Kırk yaş ve altı 20 meme kanserli kadın, bunların birinci derece yakını 20 birey ve 20 kontrol bireyde KKD sıklığının değerlendirildiği bir diğer çalışmada ise meme kanserli hastalarla ( $7,17\pm 1,81$ ) birinci derece yakınları ( $6,44\pm 0,98$ ) arasında anlamlı bir farklılık saptanamamıştır. Bununla birlikte, hasta ve birinci derece yakınlar ile kontrol grubu arasında ( $5,85\pm 0,72$ ) anlamlı bir farklılık bulunmuştur (Cefle et al., 2006).

Çalışmamızda, yeni tanı konmuş, tedaviye başlanmamış ve cerrahi uygulanmamış meme kanseri tanısı alan 30 kadın hasta ile bunların 22 birinci derece yakını ve 20 kontrol bireyde KKD sayısı, PI ve MN sıklığı değerlendirilmiştir. KKD sıklığı açısından değerlendirildiğinde, hasta grubu ( $10,84\pm 0,40$ ) ile birinci derece yakınları ( $7,45\pm 0,54$ ) ve hasta grubu ile kontrol ( $5,94\pm 0,20$ ) grubu arasında anlamlı bir farklılık saptanmıştır ( $p<0,01$ ). Birinci derece yakınlar ve kontrol grubu karşılaştırıldığında ise anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,01$ ). Farklılığın hasta grubundan kaynaklandığı tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda, meme kanserli hastalarda elde edilen artmış KKD sıklığı değerinin literatürle de uyumlu olduğunun bulunması üzerine, kardeş kromatid değişimi artışının kanser ile ilişkisi olduğu bilinen genomik kararsızlıktan kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Bununla birlikte birinci derece yakınlarda KKD sıklığı ortalamasının kontrol grubuna göre yüksek olması, bu kişilerin hasta grubu ile benzer genotoksik etkenlere maruz kalabileceğini

ve genotoksik etkenlere karşı kalıtılmış duyarlılığa sahip olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, meme kanseri riskinde etkili bir faktör olan yüksek geçişli genlerde mutasyon varlığına işaret edebilir. Birinci derece yakınların uzun süre takip edilmesi, genetik kararsızlığın meme kanserine yatkınlık oluşturup oluşturmadığını belirlemede önem taşımaktadır.

Kopjar et al. (2007), total veya kısmen mastektomi ve aksillar lenf nodu diseksiyonu uygulanmış 30 meme kanseri hastasında kemoterapi öncesi ve sonrasında PI değerlerini, 30 sağlıklı gönüllü kadından oluşan kontrol grubuyla karşılaştırmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında meme kanserli hastaların lenfosit proliferasyonunun daha yavaş olduğu belirtilmiştir. PI değeri hasta grubunda kontrol grubuna göre düşük bulunmuş olup, bunun hücre döngüsündeki gecikmelerden kaynaklandığı öne sürülmüştür. Sigara içme alışkanlığı olan sağlıklı kontrol bireylerinin PI değeri, sigara içme alışkanlığı olmayan bireylere göre düşük bulunmuştur. Bu durumun sigaranın DNA replikasyonu üzerindeki olumsuz etkisinden kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir (Kopjar et al., 2007).

Çalışmamızda gruplar arasında PI değerleri karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde farklılıklar tespit edilmiştir ( $p<0,01$ ). Meme kanserli hastaların ortalama PI değerleri ( $1,48\pm0,01$ ) birinci derece yakın ( $1,74\pm0,03$ ) ve kontrol grubuna ( $1,61\pm0,02$ ) göre düşük bulunmuştur. Kanser oluşumu sırasında DNA'da meydana gelmesi muhtemel hataların çeşitli tamir mekanizmaları ile düzeltilmeye çalışılması hücre döngüsünde gecikmeye neden olmaktadır. Meme kanseri hastalarının hücre döngüsünde çeşitli nedenler ile meydana gelen gecikmelerin PI değerlerinin düşük olmasına sebep olduğu düşünülmektedir. Birinci derece yakınların ortalama PI değerinin kontrol grubuna göre yüksek olması birinci derece yakınların DNA replikasyonunu etkileyecek ajanlara daha az maruz kaldığı düşüncesini akla getirmiştir.

Meme kanserli hastalarda MN sıklığının değerlendirildiği bir çalışmada, erken evre 20 meme kanserli hastada ( $22,3\pm11,3$ ) ve 12 sağlıklı kadından oluşan kontrol grubunda ( $6,2\pm2,7$ ) MN sıklığı açısından anlamlı bir farklılık bulunmuştur. Bununla birlikte hasta grubunu oluşturan kadınların 11'inde ailede kanser hikayesi tespit edilmiştir. Aile hikayesinin MN sıklığına etkisine bakıldığında ise kanser

hikayesi olanlarla olmayanlar arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ( $p=0,52$ ) (Aristei et al., 2009).

Tedavi olmamış meme kanserli hastalar ( $23,2\pm 1,4$ ) ile sağlıklı kontrol grubu ( $10,4\pm 0,7$ ) arasındaki MN sıklığının değerlendirildiği bir çalışmada ise gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (Santos et al., 2000).

Tez çalışmamızda gruplar, MN sıklığı açısından değerlendirildiğinde, hasta grubu ( $9,60\pm 0,72$ ) ile kontrol grubu ( $3,85\pm 0,40$ ) ve birinci derece yakınlar ( $7,00\pm 0,64$ ) ile kontrol grubu karşılaştırıldığında anlamlı farklılık tespit edilmiştir ( $p<0,01$ ). Hasta grubu ile birinci derece yakınların karşılaştırılmasında ise anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p<0,01$ ). Mikronükleus sıklığının birinci derece yakınlarda kontrol grubuna göre anlamlı farklı olmasına karşın hasta grubuyla anlamlı bir farklılığın olmaması, meme kanserine yakınlıkta kişisel etkenlerin yanında kalıtsal faktörlerin etkili olabileceğini ve birinci derece yakınlarda genomik bütünlüğü etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Ailesel meme kanserinde, ailesinde 40 yaşın altında meme kanseri tanısı almış birinci derece akrabası bulunan kadınlarda, meme kanseri riskinin 2 kattan fazla arttığı belirtilmektedir (Mcpherson et al., 2000). Hasta grubumuzun % 46'sında ailesel kanser hikayesi vardı ve bunların da %21'i meme kanseriydi. Çalışmamızda hasta grubunun yaş ortalamasının  $56,36\pm 2,32$  olması ve ailede meme kanseri hikayesi bulunan kadın sayısının az olmasından dolayı hasta grubunda aile hikayesinin meme kanseri riski üzerine etkisi değerlendirilememiştir. Bununla birlikte, birinci derece yakınlarda bireysel KKD ve MN sıklığı ortalamalarının kontrol grubundan yüksek olması aile hikayesinin etkisinin olabileceğini düşündürmektedir.

Meme kanserine yakalanmada etkili olan faktörler incelendiğinde ileri yaşın önemli bir risk faktörü olarak ele alındığı görülmektedir (Somonoğlu, 2007). Meme kanseri ile yapılan pek çok çalışmada vakaların %70'nin 50 yaş ve üstü olduğu ve 50 yaş üzerindeki kadınların meme kanseri görülme sıklığının 50 yaş altı kadınlara göre 4 kat fazla olduğu belirtilmektedir (Somonoğlu, 2007).

Çalışmamızda hasta grubunun yaşları 35-84 arasında değişmekte olup yaş ortalaması 50 yaşın üzerindedir. KKD sıklığı ve yaş arasında zayıf bir korelasyon saptanmıştır. Ancak hasta grubunu oluşturan bireylerin yaşlarının birbirine oldukça yakın olması, yaşın meme kanseri ve KKD sıklığı ile ilişkisinin değerlendirilmesini zorlaştırdığı düşünülmektedir.

Sigara kullanımı ve meme kanseri riski arasında ilişkiyi gösteren kanıtlar değişkendir. Bazı çalışmalar pozitif ilişkinin olduğunu gösterirken bazıları ilişkinin olmadığını vurgulamaktadır. Elliüç epidemiyolojik araştırma analizinde, 58515 meme kanserli hasta ve 95067 hastalığı taşımayan bireyde meme kanseri gelişim riskinde sigara kullanımının çok az etkisinin olduğu veya etkisinin olmadığı belirtilmektedir (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer, 2002). Bununla birlikte çalışmalarda sigara tüketiminin KKD sıklığını etkileyen bir faktör olduğu bildirilmektedir (Lei et al., 2002, Karaoğuz et al.,2005, Kopjar et al.,2007). Çalışmamızda hasta ve kontrol grubunda sigara içme alışkanlığı olan birey bulunmazken, birinci derece yakın 22 kadından 5'i sigara içmektedir. Sigara içme alışkanlığı gruplar arasında anlamlı fark oluşturmaktadır. Ancak sigara içme alışkanlığının KKD ve MN sıklığı ile anlamlı bir ilişkisi saptanamamıştır. Çalışmamızda gruplar arasında KKD ve MN sıklığındaki farklılıkların elde edilen veriler ile sigara içme alışkanlığından bağımsız gerçekleştiği gösterilmiştir.

Meme kanserinde risk faktörleri arasında erken menarş, geç menapoz, çocuk sayısı, emzirme süresi de yer almaktadır. Literatür araştırmalarında, meme kanserli hastalarda KKD ve MN sıklığının bu risk faktörleriyle ilişkisini gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda, risk faktörleri ile KKD ve MN sıklığının ilişkisi de değerlendirilmiştir. Ancak anlamlı bir ilişki saptanamamıştır. Bununla birlikte BRCA1 ve 2 gen mutasyonu taşıyan kadınlarda bu risk faktörleri ile meme kanseri arasında ilişkiyi gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Puberte ve hamilelikte BRCA1/2 gen ekspresyonunun artması östrojen üretimini yükseltmekte ve östrojeninde BRCA1/2 genini uyardığı ileri sürülmektedir (Welch and King, 2001). BRCA1/2 mutasyon taşıyıcılarında, hamileliğin meme kanseri ile ilişkili olduğu ve 40 yaş altındaki her hamilelikte riskin arttığı belirtilmektedir (Johannsson et al.,1998). Emzirmenin BRCA1 mutasyon taşıyıcılarında meme kanseri riskini azaltabileceği

fakat BRCA2 mutasyon taşıyıcılarında bu koruyuculuğun gözlemlenmediği bildirilmektedir (Nkondjick and Ghadirian 2004). Menapoz öncesi dönemde BRCA1 gen mutasyonuna sahip olanlarda riskin daha fazla olduğu belirtilmiştir. Menapoz sonrasında BRCA1/2 gen mutasyonlarına sahip olanlarda kontrolateral meme kanseri riskinin genel popülasyona göre önemli derecede yüksek olduğu saptanmıştır (Nkondjick and Ghadirian 2004). BRCA1 ve BRCA2 gen mutasyonları moleküler analizlerle tespit edilmekte olup, KKD ve MN gibi genomik kararsızlığı belirleyen sitogenetik analizlere göre daha ayrıntılı sonuçlar vermektedir. Çalışmamızda hasta grubunda KKD ve MN sıklığı artışının bu risk faktörleriyle korelasyonunun saptanamaması sitogenetik düzeyde yapılan test tekniklerinin yetersiz olabileceğini düşündürmektedir.

Kanser tüm dünyada olduğu gibi toplumumuzda yaygın görülen bir hastalıktır. Kanser araştırmalarında erken tanı ve tedavi önemlidir. Meme kanserine bağlı ölümlerin azaltılması hedeflendiğinde, hastalığın erken dönemde teşhis edilmesi ve risk altında bulunan bireylerin tespit edilmesi önem taşımaktadır. Özellikle ailesel kanser hikayesi bulunan ve risk faktörlerinden en az birini taşıyan bireylerin belli periyotlarda meme kanseri açısından taramalara tabi tutulması gereklidir. Ailesinde meme kanseri hikayesi olan kadınların risk tespiti için genetik analizler önerilmektedir. BRCA1 ve BRCA2 gen mutasyon analizleri meme kanseri risk tahmininde kullanılan önemli testlerdir. Ancak ailesel meme kanseri hikayesi bulunan tüm kadınlar aynı derecede meme kanseri riski taşımamaktadır. Bu nedenle moleküler analizlerin popülasyon seviyesinde yapılmasının yüksek maliyetli olması sebebiyle kanser hastalarının sağlıklı akrabalarında, öncül taramada kullanılması gereksizdir. Moleküler analizlerin yerine hale etkili sonuçlar veren sitogenetik analizlerin birincil olarak yapılması daha doğru bir yaklaşımdır.

Meme kanserli kadınlar ve bunların birinci derece yakınlarında yaptığımız KKD ve MN testleri sonucunda kontrollere göre artmış KKD ve MN oranları genomik instabilitenin varlığına işaret etmektedir. Bu sonuç meme kanserli kadınlar ve birinci derece yakınlarında sitogenetik analizlerin öncül bir test olarak kullanılabilmesini göstermektedir. Ancak sonuçların gerek genetik danışma gerekse

hasta yakınlarının risklerinin belirlenip takiplerinde kullanılabilmesi için hasta yakınları ile yapılacak daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Bununla beraber, ailesinde kanser hikayesi bulunan ve meme kanseri açısından risk faktörlerinden en az birini taşıyan bireylerde kullanılan konvensiyonel sitogenetik yöntemlerin yanında gen düzeyinde daha spesifik sonuçlar veren moleküler yöntemlerin uygulanması gerektiğini düşünmekteyiz.

İlerleyen çalışmalarda meme kanserli hastalar ve birinci derece yakınlarda elde ettiğimiz sitogenetik bulguları desteklemek için moleküler analizler ile DNA tamir mekanizmasından sorumlu olan BRCA1 ve BRCA2 gibi diğer tamir genlerindeki mutasyonları değerlendirmeyi hedeflemekteyiz.



## ÖZET

### Isparta Yöresindeki Meme Kanseri Vakalarında Sitogenetik Bulgular

Meme tümörünün hikayesinin anlaşılmasında, gelişiminin engellenmesinde ve tedavisinde genetik değişiklikler ve bunların biyolojik sonuçları kritik öneme sahiptir. Meme karsinomlu hastaların periferal kan lenfositlerinde yapılan sitogenetik analizler hastalığın karakteristiğinin belirlenmesinde kullanışlı bir test olarak kabul edilmektedir.

Bu çalışmanın amacı meme kanseri teşhisi konmuş hastalarda ve bu hastaların sağlıklı birinci derece yakınlarında KKD ve MN sıklığını belirlemektir.

Çalışmamızda yeni tanı konulmuş, tedaviye başlanmamış ve cerrahi uygulanmamış meme kanseri tanısı alan 30 kadın hasta, bu hastaların 22 sağlıklı birinci derece yakını ve 20 kontrol grubu olmak üzere 72 kadın olgunun periferal kan lenfositlerinde KKD ve MN sıklığı açısından değerlendirme yapıldı.

KKD analizinde hasta grubunun hücre başına düşen ortalama KKD sıklığı  $10,84 \pm 0,40$  iken, birinci derece yakınlarında  $7,45 \pm 0,54$  ve kontrol grubunda  $5,94 \pm 0,20$  olarak bulundu. Hasta ile birinci derece yakınlarının ve hasta ile kontrol gruplarının KKD değerlerinin karşılaştırılmasında ileri düzeyde anlamlılık saptandı ( $p < 0,01$ ). MN sıklığı ise hasta grubunda  $9,6 \pm 0,72$ , birinci derece yakınlarında  $7 \pm 0,64$  ve kontrol grubunda  $3,85 \pm 0,40$  olarak bulundu. MN değerleri açısından hasta ile kontrol grubu ve birinci derece yakın ile kontrol grubu karşılaştırıldığında anlamlı farklılık gözlenirken ( $p < 0,01$ ), hasta ile birinci derece yakın karşılaştırmasında anlamlı bir farklılık saptanmadı. Ortalama PI değerleri hasta grubunda  $1,48 \pm 0,01$ , birinci derece yakınlarında  $1,74 \pm 0,03$  ve kontrol grubunda  $1,61 \pm 0,02$  olarak bulundu. PI değerleri gruplar arası karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde farklılık gözlemlendi ( $p < 0,01$ ).

Meme kanserli hastalarda genomik instabiliteye bağlı olarak KKD ve MN sıklığının artması beklenen bir değişiktir. PI değeri ise hücre döngüsündeki gecikmelere bağlı olarak meme kanserli hastalarda düşük bulunmuştur. Birinci derece yakınlarında ise KKD ve MN sıklığının kontrol grubundan yüksek olması ailesel geçişe bağlı olarak ortaya çıkan bir genomik kararsızlığın olabileceğini akla getirmektedir.

Sonuç olarak sağlıklı birinci derece yakınların taşıdıkları kalıtsal risklerin tespitinde yüksek maliyetli moleküler analizler yerine öncelikle daha ucuz sitogenetik analizlerin kullanılmasının faydalı olabileceğini düşünmekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Meme kanseri, Kardeş Kromatid Değişimi, Mikronükleus

## ABSTRACT

### **Cytogenetic Finding of Breast Cancer Cases Around The Province of Isparta**

The genetic changes and their biological results are important to understand the breast tumours history, to prevent its further development and its treatment. The cytogenetic analysis of the peripheral blood lymphocytes of the patients diagnosed with breast carcinoma is a useful method to determine the characteristics of the disease.

The aim of this study is to research the sister chromatid exchange and micronucleus rates in the patients diagnosed to have breast cancer and their first-degree relatives.

There were 72 subjects in total to research the sister chromatid exchange and micronucleus rates at the peripheral blood lymphocyte. There were 30 female patients who are diagnosed to have breast cancer and are not treated or had any kind of operations, 22 female family members of these patients and 20 females who are the control group. The sister chromatid exchange rate analysis results suggest that the mean sister chromatid exchange rate for a cell in patients is calculated as  $10,84 \pm 0,40$ , the same rate in the family members calculated as  $7,45 \pm 0,54$  and in the control group, it is calculated as  $5,94 \pm 0,20$ . It has been observed that the sister chromatid exchange rates of patients and family members are significantly related ( $p < 0,01$ ). The micronucleus rate analysis results indicate that the incidence of micronucleus in patients calculated as  $9,6 \pm 0,72$ , in the family members calculated as  $7,0 \pm 0,64$  and in the control group calculated as  $3,85 \pm 0,40$ . The micronucleus incidence rates of both patient group-control group and family member group-control group are significantly differ from each other ( $p < 0,01$ ). There is no significant difference between micronucleus incidence rates of patients and family members. The means of prodifferentiation index of the patient group  $1,48 \pm 0,01$ , the family member group  $1,74 \pm 0,03$  and the control group  $1,61 \pm 0,02$ . The relationship of the PI means among all the groups are found significantly different from each other ( $p < 0,01$ ).

The sister chromatid exchange rate and the micronucleus incidence occur as a result of genetic instability in the breast cancer patients. And the low PI value occurs as a result of the delays in the cell cycle of the breast cancer patients. It has been observed that the sister chromatid exchange rates and micronucleus incidence in the family member group is higher than the control group values suggesting that the genetic instabilities may be inherited among families.

We conclude that using the cheaper cytogenetic analysis is profitable for detecting the risks that the families may inherit. However we recommend that using more comprehensive molecular analysis techniques are necessary in order to gain more credible results.

**Keywords:** Breast cancer, Sister chromatid exchange, Micronucleus

## KAYNAKLAR

- Agrawal S and Eng C. Differential expression of novel naturally occurring splice variants of PTEN and their functional consequences in Cowden syndrome and sporadic breast cancer. *Hum. Mol. Genet* 2006; 15(5): 777-787.
- Ahmed M and Rahman N. ATM and breast cancer susceptibility. *Oncogene* 2006; 25(43): 5906-5911.
- Albertini RJ, Anderson D, Douglas GR, Hagmar L, Hemminki K, Merlo F, et al. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. International Programme on Chemical Safety. *Mutat Res* 2000; 463(2): 111-172.
- Albertini RJ. Sister Chromatid exchanges (SCE)s in lymphocytes. *Mutat Res* 2000; 463: 165-172.
- Altıntaş N, Örenay S, Aşçı M, Reyhan E, Türk M, Yolasığmaz A. Karaciğer Kist Hidatiği tedavisinde albendazol kullanan hastalarda kardeş kromatid değişimi (KKD) çalışması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2005; 29 (4): 235-237.
- American Cancer Society. Cancer Facts&Figures 2008. Atlanta (GA): American Cancer Society; 2008 (www.cancer.org/.../CancerFactsFigures/cancer-facts-figures-2008 Erişim Tarihi: 01.04.2011)
- American Cancer Society. Cancer Facts&Figures 2009- 2010. Atlanta (GA): American Cancer Society; 2010 (www.cancer.org/acs/groups/content/.../f861009final90809pdf.pdf Erişim Tarihi: 26.04.1 )
- Aristei C, Stracci F, Guerrieri P. Frequency of sister chromatid exchanges and micronuclei monitored over time in patients with early-stage breast cancer: results of an observational study. *Cancer Genet Cytogenet* 2009; 192 :24-29.
- Aslan FE ve Gürkan A. Kadınlarda Meme Kanseri Risk Düzeyi. *Meme Sağlığı Dergisi* 2007; 3(2): 63-68.
- Banin S, Moyal L, Shieh SY, Taya Y, Anderson CW, Chessa L, et al. Enhanced Phosphorylation of p53 by ATM in response to DNA damage. *Science* 1998; 281: 1674-1677.
- Barch JM. The act cytogenetic laboratory manual. Gustashow KM: Chromosome stains. Second edition. Raven pres. 1185 avenue of the America, New york,1991
- Berardo MD, Allred DC, O'Connell P. Breast Cancer. *Principles of molecular medicine* 1998; 31: 625-632.
- Berkarda B. Meme Kanseri. İstanbul: İÜ Basımevi ve Film Merkezi, 2000
- Bonassi S, Znaor A, Ceppi M, Lando C, Chang W.P Holland S. An Increased Micronucleus Frequency in Peripheral Blood Lymphocytes Predicts the Risk of Cancer in Humans. *Carcinogenesis* 2007; 28: 625-631.
- Carpenter CL, Ross RK, Paganini-Hill A, Bernstein L. Effect of family history, obesity and exercise on breast cancer risk among postmenopausal women. *Int. J. Cancer* 2003; 106(1): 96-102.
- Cefle K, Uçur A, Güney N, Öztürk Ş, Palandüz Ş, Taş F et al. Increased sister chromatid exchange frequency in young women with breast cancer and in their first degree relatives. *Cancer Genet Cytogenet* 2006; 171: 65-67.

- Clavel-Chapelon F, Gerber M. Reproductive factors and breast cancer risk. Do they differ according to age at diagnosis? *Breast Cancer Res Treat* 2002; 72(2):107-115.
- Cleaver JE, Mitchell DL, Feeney L, Afzal V. Chromatid exchanges may be induced by damage in sites of transcriptional activity. *Mutagenesis* 1996; 11(2): 183-187.
- Colditz GA. Fat, estrogens and the time frame for prevention of breast cancer. *Epidemiology* 1995; 6(3): 209-211.
- Colditz GA. Relationship between estrogen levels, use of hormone replacement therapy and breast cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 1998; 90 (11): 814-823.
- Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer, 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* 2002; 87: 1234-1245.
- Cooper GM. *The Cell: a Molecular Approach*. Third Edition. 2004; p. 657
- Couch FJ, DeShano ML, Blackwood MA, Calzone K, Stopfer J, Campeau L et al. BRCA1 mutations in women attending clinics that evaluate the risk of breast cancer. *New England Journal Of Medicine* 1997; 336(20):1409-1415.
- Dellero VL, Mavournin H, Tice RR. Aneuploidy and health risk assessment: current status and future directions. *Environ Mutagen*, 1985; 7: 405-424.
- Demirel S ve Zamani A.G. Mikronükleus tekniği ve kullanım alanları. *Genel Tıp Derg.* 2002; 12 (3): 123-127.
- Deshpande TM, Shyama SK, Pandey AK. Genetic studies of breast cancer patients in Goa. India. *Int J Hum Genet* 2008; 8(3): 263.-268.
- Dozier KJ, Mahon SM. Cancer prevention, detection and control: a nursing perspective. *Oncology Nursing Society* 2002; 389-443.
- Duffaud F, Orsiere T, Villani P, Pelissier A.L, Volot F, Favre R, et al. Comparison Between Micronucleated Lymphocytes Rates Observed in Healthy Subject and Cancer Patients. *Mutagenesis* 1997; 12: 227-231.
- Edwards B K, Brown M L, Wingo P A, Ward H L H E, Ries L A G . Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, 1975-2002, Featuring Population-Based Trends in Cancer Treatment. *J Nail Cancer Inst* 2005; 97: 1407-1427
- Edwards BK, Howe HL, Ries LA, Thun MJ, Rosenberg HM, Yancik R, et al. Annual report to the nation on the status of cancer 1973-1999, featuring implications of age and aging on US cancer burden. *Cancer* 2002; 94: 2766-2792.
- Egeli Ü. Induction of sister chromatid exchanges by pyrimethamine in human lymphocyte cultures. *Teratog Carcinog Mutagen* 1998; 18: 163-169.
- Emery AEH and Mueller RF. *Elements of Medical Genetics*. 7th edition. Melbourn and New York: Churchill Livingstone, 1988
- Erol MK, Oztas S, Bozkurt E, Karakelleoglu S. Sister chromatid exchange analysis and chromosomal aberration studies in interventional cardiology laboratory workers. *Jpn Hearth J* 2002; 43(2): 159-165.
- Fenech M, Morley AA. Measurement of micronuclei in lymphocytes. *Mutat. Res.* 1985; 147: 29-36.
- Fenech M. The in vitro micronucleus technique. *Mutat. Res.* 2000; 455: 81-95.

- Fenech M, Holland N, Chang WP, Zeiger E, Bonassi S. The human micronucleus Project- an international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. *Mutat Res* 1999; 428: 271-283.
- Ferlay J, Autier P, Boniol M, Heanue M, Colombet M, Boyle P. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Annals of Oncology* 2007; 18(3): 581-592.
- Fookens JA, Wang Y, Martens JW, Berns EM, Klijn JG. The use of genomic tools for the molecular understanding of breast cancer and to guide personalized medicine. *Drug Discov Today* 2008; 13(11-12): 481-487.
- Ford D, Easton DF, Stratton M, Narod S, Goldgar D, Devilee P, et al. The Breast Cancer Linkage Consortium. Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 676-689.
- Frank TS, Deffenbaugh AM, Hulick M, Gumpfer K. Hereditary susceptibility to breast cancer: significance of age of onset in family history and contribution of BRCA1 and BRCA 2. *Disease Markers* 1999; 16: 89-92.
- Furberg H, Newman B, Moorman P, Millikan R. Lactation and breast cancer risk. *Int J Epidemiol* 1999; 28(3):396-402.
- Gelmann EP. Oncogenes in human breast cancer in the breast comprehensive management of benign and malignant diseases. Vol I. Ed: Bland KI, Copeland EM W.B. Saunders Company, 1998: p .499-517
- Ghadirian P, Narod S, Fafard E, Costa M, Robidoux A, Nkondjock A. Breast cancer risk in relation to the joint effect of BRCA mutations and diet diversity. *Breast Cancer Res Treat* 2009; 117: 417-422.
- Göksel H. Meme Hastalıkları. ‘Temel Cerrahi Cilt 1’ 2.Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi 1996: s. 859-70.
- Greenlee RT, Murray T, Bolden S. Cancer statistics 2000. *CA Cancer J Clin* 2000; 50: 7-33.
- Güllüoğlu B. Meme hastalıklarına yaklaşım: Meme kanseri için risk değerlendirilmesi ve tarama stratejileri. *Türk Aile Hek Derg* 2008; 12(1): 9-17.
- Güven GS, Cuna T, Birinci N, Güven M, Onaran I, Hacıhanefioğlu S, Ulutin T. 17-  $\beta$  Estradiol ile indüklenen insan lenfositlerindeki mikronükleus sıklığının incelenmesi. *Cerrahpaşa Tıp Derg.* 2006; 37: 10-13.
- Haberal A. Meme ve Over Kanserlerinde Genetik Tarama: Yalnız Araştırma Amaçlı mı Yoksa Rutin Tarama mı Olmalıdır? *TJD Uzmanlık Sonrası Eğitim Dergisi* 2004; 6: 26-29.
- Hagmar L, Strömberg U, Tinnerberg H, Mikoczy Z. The usefulness of cytogenetic biomarkers as intermediate endpoints in carcinogenesis. *Int J Hyg Environ Health* 2001; 204: 43-47.
- Hanf V, Gonder U. Nutrition and primary prevention of breast cancer: foods, nutrients and breast cancer risk. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol* 2005; 123(2):139-149.
- Harvey JA, Bovbjerg VE. Quantitative assessment of mammographic breast density: relationship with breast cancer risk. *Radiology* 2004; 230(1): 29-41.
- Henderson IC. Risk factors for breast cancer development. *Cancer* 1993; 71: 2127-2140.
- Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris C.C. p53 mutations in human cancers. *Science* 1997; 253 (5015): 49-53.
- Hopper JL. Genetic susceptibility to breast cancer. *Cancer Forum* 1997; 21: 2-7.

- Hrvoje L, Crtomir V, Biserka RS. Chromosomal instability and double minute chromosomes in a breast cancer patient. *Acta Med Okayama* 2004; 58(1): 51-58.  
<http://www.cancer.gov/cancertopics/types/breast> (Erişim:12.01.2011 )  
<http://www.kanser.gov.tr/index.php?cat=11> (Erişim Tarihi: 09.03.2011)  
[http://www.klinikgelisim.org.tr/eskisayi/kg22\\_3/9.pdf](http://www.klinikgelisim.org.tr/eskisayi/kg22_3/9.pdf) (Erişim Tarihi: 23.11.10  
<http://www.saglik.gov.tr/extras/birimler/KSBD/BelgeGoster.aspx?>(Erişim Tarihi: 04.12.2010)  
<http://who.int/infobase/report.aspx?iso=TUR&rid=119&goButton=Go> Erişim Tarihi: 16.04.2011)
- Hulka BS, Moorman PG. Breast cancer: hormones and other risk factors. *Maturitas* 2001; 38 (1): 103-113.
- Jakubowska A, Jaworska K, Cybulski C, Janicka A, Pasternak J.S, Lener M. Do BRCA1 modifiers also effect the risk of breast cancer in non-carriers? *European Journal Of Cancer* 2009; 45: 837-842.
- Johannsson O, Loman N, Brog A, Olsson H. Pregnancy-associated breast cancer in BRCA1 and BRCA2 germline mutation carriers. *N.Engl.J.Med.*1998; 352: 1359-1360.
- Kalaycı G. Genel Cerrahi. Cilt 1. İstanbul: Tayf Ofset, 2002: s. 557-561
- Karaoğuz MY, Coşar B, Arikan Z, Başaran E, Menevşe A, Menevşe S. Increased frequency of sister chromatid exchange in peripheral lymphocytes of alcoholics and cigarette smokers. *Cell Biol Int.* 2005; 2: 165-168.
- Klijn JGM, Berns PMJJ, Schmits PLM, Foekens JA. The Clinical significance of epidermal growth factor receptor (EGF-R) in human breast cancer: a review on 5232 patients. *Endocr Rev.* 1992; 13: 3-17.
- Kopjar N, Milas I, Garaj-Vrhovac V, Gamulin M. Cytogenetic outcomes of adjuvant chemotherapy in non-target cells of breast cancer patients. *Human &Experimental Toxicology*, 2007; 26: 391-399
- Korde LA, Calzone KA, Zujewski J. Assessing breast cancer risk: genetic factors are not the whole story. *Postgrad Med* 2004; 116(4): 6-8, 11-4, 19-20.
- Krisch-Volders M, Sofuni T, Aardemac M, Albertini S, Eastmond D, Fenech M, et al 2003. Report from the in vitro micronucleus assay working group. *Mutat. Res.* 2003; 540: 153-163.
- Kumaraguruparan R, Mohan K V P C, Nagini S. Xenobiotic-metabolising enzymes in patients with adenocarcinoma of the breast: Correlation with clinical stage and menopausal status. *The breast* 2006;15: 58-63.
- Kuper H, Ye W, Weiderpass E, Ekblom A, Trichopoulos D, Nyren O et al. Alcohol and breast cancer risk: the alcoholism paradox. *Br. J. Cancer* 2000; (83): 949-951.
- Labay K, Ould-Elhkim M, Kles V, Guffroy M, Poul JM, Sanders P. Effects of griseofulvin in medium-term liver carcinogenesis assay and peripheral blood micronucleus test in rat. *Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis.* 2001; 21: 441-451.
- Landi S, Frenzilli G, Millilo C.P. Spontaneous sister chromatid exchange and chromosome aberation frequency in humans. The familial effect. *Mutation Research* 1999; 444: 337-345.
- Lee IM. Physical activity and cancer prevention-data from epidemiologic studies. *Med Sci Sports Exerc* 2003; 35(11):1823-1827.

- Lei YC, Hwang SJ, Chang CC, Kuo HW, Luo JC, Chang MJ, et al. Effects on sister chromatid exchange frequency of polymorphisms in DNA repair gene XRCC1 in smokers. *Mutat res.* 2002; 519(1-2): 93-101.
- Lester J. Breast cancer in 2007: Incidence, risk assessment and risk reduction strategies. *Clinical Journal of Oncology Nursing* 2007; 11(5): 619-622.
- Lipworth LR and Bailey D. Trichopoulos. History of breast-feeding in relation to breast cancer risk: a review of the epidemiologic literature. *J. Natl. Cancer Inst.* 2000; 92: 302-312.
- Lüleci G, Başaran S, Bağcı G, Keser İ. Sitogenetik uygulama yöntemleri. Ankara: Meteksan, 1990: s. 22-31
- Lynch HT, Silva E, Snyder C, Lynch JF. Hereditary breast cancer: part 1. Diagnosing hereditary breast cancer syndromes. *Breast J* 2008; 14: 3-13.
- Manguoglu AE, Lüleci G, Özçelik T, Çolak T, Schayek H, Akaydın M, et al. Germline mutations in the BRCA1 and BRCA2 genes in Turkish Breast / Ovarian Cancer Patients. *Human Mutations* 2003; 21: 444-451
- Marmorstein LY, Kinew AV, Chan GK, Bochar DA, Beniya H, Epstein JA, Yen TJ, Shiekhattar R. A human BRCA2 complex containing a structural DNA binding component influences cell cycle progression. *Cell* 2001; 104(2): 247-257.
- McPherson K, Steel C M, Dixon J M. Breast cancer-epidemiology, risk factors and genetics. *ABC of breast diseases* 2000; 321: 624-628.
- Mincey BA. Genetics and the management of women at high risk for breast cancer. *Oncologist* 2003; 8(5): 466-473.
- Mitrunen K and Hirvonen A. Molecular epidemiology of sporadic breast cancer. The role of polymorphic genes involved in oestrogen biosynthesis and metabolism. *Mutat. Res.* 2003; 544(1): 9-41.
- Naccarati A, Molinu S, Mancuso M, Siciliano G, Migliore L. Cytogenetic damage in peripheral lymphocytes of mitochondrial disease patients. *Neurol Sci* 2000; 21: 963-965.
- Narod SA, Ford D, Devilee P, Barkardottir RB, Lynch HT, Smith SA, Ponder BA, Weber BL, Garber JE, Birch JM. An evaluation of genetic heterogeneity in 145 breast-ovarian cancer families. Breast Cancer Linkage Consortium. *Am. J Hum Genet* 1995; 56(1): 254-264.
- Nkondjick A and Ghadirian P. Epidemiology of breast cancer among BRCA mutation carriers: an overview. *Cancer Letters* 2004; 205: 1-8.
- Normanno N, De Luca A, Bianco C, Strizzi L, Mancino M, Maiello MR, et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling in cancer. *Gene* 2006; 366(1) :2-16.
- Norppa H and Falck G.C.M. What Do Human Micronuclei Contain? *Mutagenesis* 2003; 18 (3): 221-233.
- Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Thompson & Thompson *Tibbi Genetik* 6. Baskı, 2005; s 313-325
- Oesterreich S and Fuqua SA. Tumor suppressor genes in breast cancer. *Endocr. Relat. Cancer* 1999; 6(3): 405-419.
- Osborne C, Wilson P, Tripathy D. Oncogenes and tumor suppressor genes in breast cancer: Potential diagnostic and therapeutic applications. *Oncologist* 2004; 9(4): 361-377.

- Özmen V. Dünya’da ve Türkiye’de Meme Kanseri Tarama (Screening) ve Kayıt Programları. *Meme Sağlığı Dergisi*, 2006; 2: 55-58.
- Öztürk M. Meme kanserinin genetiği ve risk faktörleri. İÜ. Cerrahpaşa tıp fakültesi sürekli tıp eğitimi etkinlikleri.2006; 54: 15-26.
- Page DL, Jensen RA, Simpson JF, Dupont WD. Historical and epidemiologic background of human premalignant breast disease. *J. Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2000; 5(4): 341-349
- Paoletti X, Clavel – Chapelon F. Induced and spontaneous abortion and breast cancer risk: results from the E3N cohort study. *Int J Cancer* 2003; 106(2): 270-276.
- Pike MC, Spicer DV, Dahmouch L, Pres MF. Estrogens, progestogens, normal breast cell proliferation, and breast cancer risk. *Epidemiol Rev* 1993; 15(1): 17-35.
- Pitaque M, Carbonell E, Lapene N. SCE analysis in peripheral blood lymphocytes of a group of filling station attendants. *Mutation Research* 1997; 390: 153-159.
- Rodriguez-Reyes R, Morales-Remizes P. Sister chromatid exchanges induction and the course of DNA duplication, two mechanisms of sister-chromatid exchange induction by ENU and the role of BrdU. *Mutagenesis* 2003; 18(1): 65-72.
- Rooney DE and Czepulkowski BH. Human Cytogenetic Constitutional Analysis Volume 1. Tawn EJ., Holdsworth D. Mutagen induced chromosomes damage in human lymphocytes. New York: Oxford University Press,1992
- Ross RK, Paganini-Hill A, Wan PC, Pike MC. Effect of hormone replacement therapy on breast cancer risk: estrogen versus estrogen plus progestin. *J. Natl. Cancer Inst.* 2000; 92 (4): 328-332.
- Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML et al. Writing Group for the Women’s Health Initiative Investigators. Risks and benefits of estrogens plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women’s Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 2002; 288(3): 321-323.
- Roy SK, Trivedi AH, Bakshi SH, Patel RK, Shukla PH, Patel JS, et al. Spontaneous chromosomal instability in breast cancer families. *Cancer Genet Cytogenet* 2000; 118: 52-56.
- Sakofaras GH, Glinatsis MT. Oncogens and cancer. The genetic basis of cancer. *Latriki* 1994; 65: 36-51.
- Sandberg AA. Chromosome abnormalities in human cancer and leukemia. *Mutat Res* 1991; 247: 231–240.
- Schairer C, Lubin J, Troisi R, Sturgeon S, Brinton L, Hoover R. Menopausal estrogen and estrogen-progestin replacement therapy and breast cancer risk. *JAMA* 2000; 283: 485-491.
- Shiraishi Y, Sandberg AA. Effects of caffeine induced defective DNA replication on SCE and chromosome aberrations produced by Alkylating agents. *Mutation Research* 1980; 72: 251-256.
- Simons JW. Genetic, epigenetic, dysgenetic and non-genetic mechanism in tumorigenesis. *Crit. Rev. Oncog.* 1995; 6: 261-273.
- Singletary KWI, Gapstur SM. Alcohol and breast cancer: review of epidemiologic and experimental evidence and potential mechanisms. *JAMA* 2001; 286: 2143-2151.
- Solomon E, Borrow J, Goodard AD. Chromosome aberration and cancer. *Science* 1991; 254: 1153–1160.



- Somonoğlu S. Meme Kanserinde Risk Faktörleri. Fırat Sağlık Hizmetleri Dergisi. 2007; 2: 2-12 .
- Stoilov L, Wojcik A, K. Giri A, Obe G. SCE formation after exposure of CHO cells prelabeled with BrdU or biotin- Dntp to various DNA-damaging agents. *Mutagenesis* 2002; 17(5): 399-403.
- Surralles J, Xamena N, Creus A, Marcos R. The Suitability of the Micronucleus Assay in Human Lymphocytes as a New Biomarker of Excision Repair. *Mutat. Res.* 1995; 342: 43-59.
- Taylor JH, Woods PS, Hughes ML. The organization and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium-labeled thymidine. *Proc : Natl Acad Sci* 1957; 43: 122.
- Terry P.D., Rohan T.E. Cigarette smoking and the risk of breast cancer in women: a review of the literature, *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev* 2002;11: 953–971.
- Toh GT, Kang P, Lee S, et al. BRCA1 and BRCA2 Germline Mutations in Malaysian Women with Early-Onset Breast Cancer without a Family History. *Plos One* 2008; 3(4): 1-5.
- Topaktaş M ve Rencüzoğulları E.Sitogenetik. Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü,1995: s.68
- Topaktaş M and Speit G. Sister Chromatid Exchange (SCE) Testinin Mutajenite ve Kanserojenitenin Belirlenmesinde Kullanılması. *Ç.Ü. Sağlık Bil. Der.* 1990; 5(1,2,3): 73-84.
- Topuz E, Aydiner A, Dinçer M. Meme Kanseri. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2003: s. 224-225
- Topuz E. *Meme Kanseri Biyoloji, Tanı, Evreleme, Tedavi*. İ.Ü Onkoloji Enstitüsü Yayınları, 1997
- Trentham-Dietz A, Newcomb PA, Egan KM, Titus-Emstoff L, Baron JA, Storer BE, et al. Weight change and risk of postmenopausal breast cancer (United States). *Cancer Causes Control* 2000; 11: 533-542.
- Ünal G, Ünal H, Çerçel A. *Meme Hastalıkları*. İstanbul: İstanbul Ofset, 2001: s. 246-250.
- Venkitaraman AR. Cancer susceptibility and the functions of BRCA1 and BRCA2. *Cell* 2002; 108 (2):171-182.
- Vesvev MP. Effect of endogenous and exogenous hormones on breast cancer. *Epidemiology VerhDtsch-Ges-Pathol* 1997; 81: 493-501.
- Von Lintig FC, Dreilinger AD, Varkı NM, Wallace AM, Casteel DE, Boss GR. Ras activation in human breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment* 2000; 62(1): 51-62.
- Welsh PL and King MC. BRCA1 and BRCA2 and the genetics of breast and ovarian cancer. *Hum. Mol. Genet.* 2001; 10: 705-713.
- Yip C.H, Taib N.A, Choo W.Y, Rampal S, Thong M.K, Teo S.H. Clinical and pathologic differences between BRCA1-, BRCA2-, Non- BRCA- associated breast cancers in a multiracial developing country. *World J Surg* 2009; 33: 2077-2081.
- Yoshida K, Yoshio M. Role of BRCA1 and BRCA2 as regulators of DNA repair, transcription and cell cycle in response to DNA damage. *Cancer Science* 2004; 95: 866-871.

- Zijno A, Marcon F, Leopardi P, Salvatore G, Carere A, Crebelli R. An assessment of the in vivo clastogenicity of erythrosine. *Fd Chem Toxic* 1994; 32: 159-63.
- Ziogas A, Gildea M, Cohen P. Cancer risk estimates for family members of a population-based family registry for breast and ovarian cancer. *Cancer Epidemiological Biomarkers Prevention* 2000; 9: 103-111.

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı - Soyadı** : DİLEK AŞCI

**Doğum Tarihi** : 01.04.1985

**Doğum Yeri** : Isparta

**Uyruğu** : T.C.

### **Eğitim Durumu :**

2007 - ..... **Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü**  
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Eğitimi

2007 - 2008 **Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi**  
Yüksek Lisans Bilimsel Hazırlık Programı Dahilinde Tıp  
Fakültesi Dönem 2 Dersleri

2003 - 2007 **Gazi Üniversitesi**  
Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Lisans Eğitimi

2000 - 2003 **Isparta Milli Piyango Anadolu Lisesi**

**Görev Durumu :** **Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi**  
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi

**Yabancı Dil** : İngilizce

**Bilgisayar Bilgisi :** Microsoft Office (Word, Excel, Powerpoint), İnternet