

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MEME KANSERLİ KADINLARDA TTK GEN
EKSPRESYONUNUN ÖNEMİ**

EVİRİM ŞİMŞEK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. M. Selman YILDIRIM

KONYA 2017

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MEME KANSERLİ KADINLARDA TTK GEN
EKSPRESYONUNUN ÖNEMİ**

Evrin ŞİMŞEK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. M. Selman YILDIRIM

Bu araştırma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafındanproje numarası ile desteklenmiştir.

TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi Evrim Şimşek'in "Meme Kanserli Kadınlarda TTK Gen Ekspresyonunun Önemi" başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

.... Kasım 2017

Tez Danışmanı

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Başkanı, Prof. Dr. M. Selman Yıldırım

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

İmzası

Jüri Üyesi

Prof. Dr. M. Selman Yıldırım

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Başkanı

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Ali Ünlü

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Ayşegül Zamani

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 09/Kasım/2017 tarih ve 23/18 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Enstitü Müdürü

İmzası

APPROVAL

We certify that we have read this dissertation entitled "The Importance of TTK Gene Expression in Women with Breast Cancer" by Evrim Şimşek that in our opinion it is fully adequate, in scope and quality, as dissertation for the degree of Master of Science in the Department of Medical Genetics, Institute of Health Sciences, University of Necmettin Erbakan

.../ November 2017

Principal Advisor

Head of Department of Medical Genetics, Prof. Dr. M. Selman Yıldırım
Necmettin Erbakan University Faculty of Medicine Department of Medical Genetics

Signature

Examination Committee Member

Prof. Dr. M. Selman Yıldırım
Head of Department of Medical Genetics
Necmettin Erbakan University Faculty of Medicine Department of Medical Genetics

Examination Committee Member

Prof. Dr. Ali Ünlü
Head of Department of Medical Biochemistry
Selçuk University Faculty of Medicine Department of Biochemistry

Examination Committee Member

Doç. Dr. Ayşegül Zamani
Necmettin Erbakan University Faculty of Medicine Department of Medical Genetics

This thesis has been approved for the Necmettin Erbakan University Institute of Health Sciences.

Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Director of Institute of Health Sciences

Date and Signatur

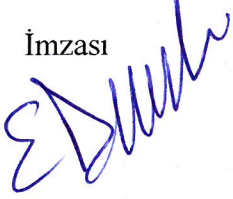
TEZ BEYAN SAYFASI

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

24.10.2017

Evrin ŞİMŞEK

İmzası



[Ödevler](#)[Öğrenciler](#)[Not Defteri](#)[Kütüphaneler](#)[Takvim](#)[Tartışma](#)[Tercihler](#)

Bu sayfa hakkında

Bu sizin ödev gelen kutunuzdur. Bir ödevi görüntülemek için, ödev başlığına tıklayın. Orijinallik Raporu'nu görmek için, benzerlik kolonundaki orijinallik raporu ikonuna tıklayın. Bu ikon tıklanabilir durumda değilse, orijinallik raporu henüz oluşturulmamış demektir.

MEME KANSERLİ KADINLARDA TTK GEN EKSPRESYONUNUN ÖN...

Gelen Kutusu | Görüntüleniyor: yeni ödevler ▼

Dosyayı Gönder GradeMark Raporu | Ödev ayarlarını düzenle | E-posta bildirmeyenler

Sil İndir Şuraya taşı...

<input type="checkbox"/>	Yazar	Başlık	Benzerlik	web	yayın	student papers	Puanla	cevap	Dosya	Ödev Numarası	Tarih
<input type="checkbox"/>	Evrım Şimşek	tez	%12 %12	11%	2%	7%	--	--	ödev indir	867359287	23-Eki-2017

ÖNSÖZ

Eğitimim süresinde bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren başta tez danışmanım Prof. Dr. M. Selman Yıldırım'a, desteklerini gördüğüm, Onkoloji Uzm. Dr. S. Şefik Atebekoğlu'na, Patolog Dr. Aliye Sarı ve ekibine, Tıbbi Genetik Bölümü hocalarına ve teknisyenlerine, yüksek lisans dönemim süresinde desteklerini her zaman yanımda hissettiğim aileme teşekkür ederim.

2004 yılında kolon kanserinden dolayı aramızdan ayrılan babama..



İÇİNDEKİLER

<i>İç Kapak</i>	<i>i</i>
<i>Tez Onay Sayfası</i>	<i>ii</i>
<i>Tez Beyan Sayfası</i>	<i>iii</i>
<i>Önsöz</i>	<i>iv</i>
<i>İçindekiler</i>	<i>v</i>
<i>Kısaltmalar Listesi</i>	<i>vii</i>
<i>Şekiller Listesi</i>	<i>ix</i>
<i>Grafik ve Tablolar Listesi</i>	<i>x</i>
<i>Özet</i>	<i>xi</i>
<i>Abstract</i>	<i>xii</i>
<i>1. GİRİŞ VE AMAÇ</i>	<i>1</i>
<i>2. GENEL BİLGİLER</i>	<i>3</i>
<i>2.1. Memenin Anatomisi ve Fizyolojisi</i>	<i>4</i>
<i>2.2. Meme Kanserinin Epidemiyolojisi ve Etyolojisi</i>	<i>6</i>
<i>2.3. Meme Kanserinin Histopatolojik Sınıflandırılması</i>	<i>9</i>
<i>2.4. Meme Kanserinde Evreleme</i>	<i>11</i>
<i>2.5. Meme Kanseri Tedavisi</i>	<i>13</i>
<i>2.6. Meme Kanserinin Moleküler Genetiği</i>	<i>14</i>
<i>2.7.TTK Geni</i>	<i>16</i>

<i>3. MATERYAL VE METOD</i>	18
<i>3.1 Araştırma Tipi</i>	18
<i>3.2. Araştırma Bölgesi ve Zamanı</i>	18
<i>3.3. Araştırma Evreni ve Yeri</i>	18
<i>3.4. Örnek Seçme Kriterleri</i>	18
<i>3.5. Örnek Gruplarının Randomizasyonu</i>	18
<i>3.6. Araştırma Öncesi Bilgilendirme</i>	19
<i>3.7. Araştırmanın İzni ve Etik Kurulu</i>	19
<i>3.8. Kullanılan Yöntem</i>	19
<i>3.9. Ön Hazırlıklar</i>	21
<i>3.10. Parafinden Uzaklaştırma</i>	21
<i>3.11. RNA İzolasyonu</i>	22
<i>3.12. cDNA Sentez Aşaması</i>	24
<i>3.13. Real Time PCR Aşaması</i>	25
<i>3.14. İstatistiksel Analiz</i>	26
<i>4. BULGULAR</i>	27
<i>TARTIŞMA VE SONUÇ</i>	32
<i>KAYNAKLAR</i>	35
<i>EKLER</i>	39

KISALTMALAR LİSTESİ

ATM	Ataxia Telangiectasia Mutated
BRCA	Meme Kanseri Geni
C-ERB-B2	Avian Erythroblastosis Oncogene B2(HER2/neu protoonkogeni)
CT	Cycle Threshold
CMYC	Myelocytomatosis Viral Oncogene
DKİS	Duktal Karsinoma In Situ (DCIS)
EGFR	Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü
ER	Östrojen Reseptör
GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
GTP	Guanosine 5'-Triphosphate
HER-2	Human Epidermal Growth Factor Receptor 2
N	Bölgesel Lenf Düğümleri
NCCN	Ulusal Kapsamlı Kanser Ağı
pN	Lenf Nodlarının Patolojik Sınıflaması
RAF	Rapidly Accelerated Fibrosarcoma
RAS	Bir proto-onkogen ailesinin ve bunları kodlayan genin özel adıdır
RNA	Rybonucleic Acid
RT-PCR	Real-Time Polymerase Zincir Reaksiyon
SPSS	Statistical Package for The Social Science
T	Primer Tümör Boyutu

T.C.	Türkiye Cumhuriyeti
TNM	Tumor Node Metastasis
TP53	Tumor Protein-53
TTK	TTK Protein Kinase (Monopolar Spindle-1 Kinase)
vd.	ve diğerleri
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Memenin tanjensiyel ve sagital kesimi.....	5
Şekil 2. Meme anatomisi	6
Şekil 3. Meme kanseri çeşitleri ve oluştuğu yerler.....	9
Şekil 4. Meme kanseri hücresi çeşitleri	20
Şekil 5. Araştırmamızda kullandığımız Roche Light Cyclor 480 II Real Time PCR cihazı.....	20
Şekil 6. TTK geninin Real Time PCR Monitör görüntüsü.....	21
Şekil 7. Doku gruplarına ait grafik.....	27
Şekil 8. TTK ct değerlerinin normallik sınaması.....	29

GRAFİK VE TABLOLAR LİSTESİ

Grafik 1. Erkeklerde en sık görülen 10 kanserin yaşa göre standardize edilmiş hızları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2013) (Dünya Standart Nüfusu, 100.000 kişide)..... 7

Grafik 2. Kadınlarda en sık görülen 10 kanserin yaşa göre standardize edilmiş hızları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2013) (Dünya Standart Nüfusu, 100.000 kişide)..... 8

Grafik 3. Tüm yaş gruplarındaki kadınlarda en sık görülen bazı kanserlerin bu grup içindeki yüzde dağılımları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2013)..... 8

Tablo 1. Hastaların normal ve tümörlü dokuya ait, TTK ve kontrol olarak seçilen değerleri..... 28

Tablo 2. TTK ct değerlerinin normallik sınaması. 28

Tablo 3. Normal ve tümörlü dokuda TTK gen ekspresyonunun farklılaşması. 29

ÖZET

T.C. NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Meme Kanserli Kadınlarda TTK Gen Ekspresyonunun Önemi

Evrım ŞİMŞEK

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ / KONYA-2017

Meme kanseri kadınlarda en sık görülen kanser türüdür. Meme kanserleri etyolojisinde; cinsiyet, yaş, ırk, erken menarş, geç menapoz, ilk hamilelik yaşı, genetik yatkınlık değiştirilemeyen; sigara, alkol, obezite, fiziksel inaktivite, hormon replasman tedavisi ise değiştirilebilen faktörler arasında yer almaktadır. Meme kanseri; karakteristik moleküler özellikleri, prognoz ve tedaviye yanıtlarına göre heterojen gruplar oluşturmaktadır.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, hücre döngüsünün düzenlenmesinde meydana gelen hasarların, meme kanseri ve diğer kanserlerin oluşmasındaki önemi vurgulanmaktadır. Hücre döngüsü biri G2/M geçişi, bir diğeri S fazına girmeden önceki geç G1 fazının da dahil olduğu nokta ve M kontrol noktası olmak üzere farklı aşamalarda denetlenmektedir. Bu denetim noktalarının her birinde, ilgili proteinlerce döngünün ilerlemesine veya durmasına karar verilmektedir. Bu kararların verilmesinin kontrolü, hedef proteinleri seçip fosforilize eden bir enzim ailesinden olan protein kinazlar ve hücre döngüsünün işlerliğini kontrol eden siklin proteinleri tarafından yapılmaktadır. Hücre döngüsünün düzenlenmesinde meydana gelen aksaklıklar, meme kanseri ve diğer kanserlerin oluşmasında başlıca nedenler arasında gösterilmektedir. Meme kanserlerinde normal meme dokusuna göre daha fazla bulunan TTK geni (human protein kinase monopolar spindle 1 geni) çift fonksiyonlu kinaz ailesinden olup serine/threonine ve tirozin kinaz aktivitesi taşımaktadır.

Günümüzde; meme kanseri alt gruplarını, buna bağlı prognoz ve tedavi alacak hastaları belirlemede kullanılmaya başlanan genetik bilgiler, gelecekte meme kanserli hastalardaki moleküler olarak tarif edilen alt grupları için hedefe yönelik geliştirilecek ilaçlarla tedaviler gerçekleştirebileceği ve artmış TTK gen ekspresyonunun inhibisyonu ile meme kanserinin tedavisi üzerindeki çalışmalarda devam etmektedir.

Bu çalışmada da, TTK geninin meme kanseri tanısı konan kadın hastaların, normal doku ve tümörlü doku ekspresyon miktarlarına bakıldı. Preparatlardan ışık mikroskopu ile normal ve tümörlü dokular işaretlendi. Parafin bloklardan kesitler alınarak RNA izolasyonu ve RT-PCR analizi yapıldı.

Araştırmamız 30 meme kanserli kadın hasta üzerinde yürütüldü. Aynı hastanın, normal meme dokusu ile tümörlü meme dokusunda ekspre olan TTK gen miktarına bakıldı. İstatiksel olarak tümörlü dokuda ekspresyon miktarı normal dokuya göre daha fazla bulundu. Dolayısıyla meme kanseri üzerinde etkileri araştırılan TTK geninin, inhibisyonu yeni tedavi yaklaşımlarında rol oynayabileceği sonucuna varıldı. Ayrıca araştırmamız çok az miktarda yayınlanmış çalışmalarla benzer nitelikte olup literatürü desteklemektedir.

Anahtar sözcükler: Meme Kanseri, TTK Gen Ekspresyonu, RT-PCR

ABSTRACT

T.C. NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Meme Kanserli Kadınlarda TTK Gen Ekspresyonunun Önemi

Evrım ŞİMŞEK

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ / KONYA-2017

Breast cancer is the most common type of cancer between women. In the etiology of breast cancers; sex, age, race, early menarche, late menopause, age of first pregnancy, genetic predisposition; smoking, alcohol, obesity, physical inactivity, hormone replacement therapy are among the factors that can be changed. The characteristic molecular characteristics of breast cancer constitute a heterogeneous group according to prognosis and treatment responses.

In recent years studies have emphasized the importance of damage to the organization of cell cycle, breast cancer and other cancers. The cell cycle is controlled at different stages, one of which is the G2 / M transition, the other containing the late G1 phase before entering the S phase, and the M control point. At each of these control points, it is decided whether or not the protein of interest should progress or stop. The control of these decisions is made by protein kinases, an enzyme family that selects and phosphorylates target proteins, and Cyclin proteins, which control the functioning of the cell cycle. Disruptions in the organization of the cell cycle are among the main reasons for the development of breast cancer and other cancers. The TTK gene (human protein kinase monopolar spindle 1 gene), which is found more frequently in breast cancer than normal breast tissue, is a bifunctional kinase family carrying serine / throne and tyrosine kinase activity.

Today; genetic information that has been used to determine breast cancer subgroups, the prognosis associated therewith and the patients receiving the treatment, and future targeted therapies for targeted molecular subtypes of patients with breast cancer. Studies on the treatment of breast cancer with the inhibition of increased TTK gene expression are also continuing.

In this study, the amount of expression of normal tissue and tumor tissue in female patients who were diagnosed with breast cancer was examined. Normal and tumor tissues were marked by light microscopy from the preparations. Sections were taken from platelet blocks and RNA isolation and RT-PCR analysis were performed.

Our study was conducted on a female patient with 30 breast cancer. The control group of the same patient looked at the amount of TTK gene that was expressed in normal breast tissues and tumor nipples. Statistically, the amount of expression in tumor tissue was found to be higher than in normal tissue. Therefore, the inhibition of TTK gene, which is investigating effects on breast cancer, has played a role in new therapeutic approaches. In addition, our research is similar in nature to published studies and supports the literature.

Anahtar Sözcükler: Breast Cancer, TTK Gene Expression, RT-PCR

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri; süt bezleri veya süt kanalı hücrelerinde, çevresel ve genetik ajanlar tarafından değişime uğrayan DNA dizisi, taşıdığı gen ifadesine göre malignite oluşturabilmektedir. Malignitenin altında yatan temel mekanizma kontrolsüz hücre bölünmesidir (Michael vd. 2009; Thompson ve Compton 2008). Kontrolsüz çoğalan hücreler, büyüyerek kitle oluşumuna, zamanla çevre meme dokusunu da aşarak lenfatik kanallarla veya kana karışarak uzak organlara metastaz yapabilmektedir. Meme kanseri kadınlarda en sık görülen tümördür (Çalış 2016). Yaşamı boyunca yaklaşık 8 kadından biri meme kanseri olmakta, 30 kadından biri de meme kanseri nedeniyle hayatını kaybetmektedir. Meme kanserinin; insidansının her geçen gün artması, karakteristik moleküler özellikleri, prognoz ve tedaviye yanıtına göre heterojen gruplar oluşturması, bu hastalığı daha da önemli hale getirmektedir (Güran 2005).

Meme kanserinde genetik yatkınlığın belirlenmesi, moleküler temellerin ortaya çıkarılması teşhis ve tedavide son yıllarda önem kazanmıştır. Meme kanserinde ki ailesel veya ailesel olmayan moleküler farklılıklar, protoonkogenler ve tümör süpresör genler mevcuttur. Bu genlerdeki, hücresel yolakları etkileyen genetik değişiklikler birçok adımda ortaya çıkmaktadır. Hücre döngüsünün düzenlenmesinde meydana gelen kusurların, meme kanseri oluşumundaki etkileri son yıllarda yapılan araştırmalarda dikkat çekmektedir. Çift fonksiyonlu kinaz ailesi içinde yer alan TTK geninin, hücre siklusu ile ilgili pek çok yolakta rol oynadığı, mitozda sentrozom dublikasyonu mitotik spindle birleştirme, checkpoint devamlılığı gibi birçok kritik role sahip olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmektedir (Fiks vd. 2003; Suzanne vd. 2004).

DNA dizilim teknolojisindeki ilerlemelerin, kişiselleştirilmiş meme kanseri tedavisinde kökten değişime yol açacağı belirtilmektedir. Günümüzde meme kanseri alt gruplarını ve buna bağlı tedavi alacak hastaları belirlemede kullanılmaya başlanan genetik bilgilerin, gelecekte meme kanserli hastalarda alt gruplar için hedefe yönelik geliştirilecek ilaçlar için kullanılabileceği düşünülmektedir. Artmış TTK gen

ekspresyonunun inhibisyonu da meme kanserinin tedavisinde üzerinde çalışılan bir konudur (Ricardo vd. 2015).

Kanserin tedavisinde kullanılan diagnostik, prognostik belirteçlere ek olarak yeni tedavi edici yaklaşımlar için hedef molekül arayışları hızla devam etmektedir. Literatür de, TTK gen ekspresyonu inhibisyonunun kanser tedavisinde kullanılabilirliği üzerine çalışmalar dikkat çekmektedir.

Çalışmamızda, TTK gen ekspresyon değişimlerinin meme kanseri üzerine etkilerini araştırılarak, daha ileri araştırmalara ışık tutulmuştur.



2. GENEL BİLGİLER

Her beş kişiden biri, hayatının bir döneminde kansere yakalanmaktadır (Güran 2005). Birçok tedavi yaklaşımlarına rağmen halihazırda, kanserden ölümler tüm toplumlarda önemli bir halk sağlığı sorunudur. Dünya Sağlık Örgütüne (WHO) göre 2004 yılında 7.4 milyon kişi kanser nedeniyle hayatını kaybetmiştir. Bu rakamın 2030'da 11.8 milyona kadar yükselebileceği öngörülmektedir (World Health Statistics 2008). Erkeklerde akciğer kanseri, kadınlarda ise meme kanseri ilk sırada yer almaktadır. Ülkemizde de, dünya genelinde olduğu gibi, meme kanseri kadınlarda en sık rastlanan kanserdir. Son 20 yılda iki kattan fazla artış gösterdiği bildirilmektedir (Özmen 2014).

Canlılardaki hücre büyümesi, farklılaşması, yaşlanması ve ölümü, genlerle düzenlenen dinamik bir süreçtir. Bu süreç içinde meydana gelen aksaklıklar, hücre üzerinde malign dönüşümlere neden olabilmektedir. Maligniteninin altında yatan temel mekanizma, kontrolsüz hücre bölünmesidir. Hücre poliferasyonunda meydana gelen anormal işleyiş, genomda oluşan pek çok genetik değişimin habercisidir. DNA üzerinde meydana gelen bu değişimler, yani mutasyonlar onkogenin oluşmasında başrolü üstlenen faktörlerdendir (Michael vd. 2009).

Çevresel ve genetik ajanlar tarafından değişime uğrayan DNA dizisi, taşıdığı gen ifadesine göre malignite oluşturabilmektedir. Örneğin, normal hücrelerde var olan, özellikle hücre büyüme, bölünme ve farklılaşmasında görevli pek çok gen mevcuttur. Protoonkogen olarak adlandırılan, bu hücre genleri, onkogen formuna dönüştüren aktivasyon mekanizmaları, onkogenetik sürecin oluşumunu tetiklemektedir. Bu aktivasyon yolları, onkogenin ekspresyon miktarında ve yapısında meydana gelen değişimler ile karakterizedir. Protoonkogen üzerinde meydana gelen nokta mutasyonları, delesyonlar, gen ifadesindeki anormal artışlar, kromozomların yeniden düzenlenmesi, onkogen dönüşümüne neden olan başlıca değişimlerdir. Nokta mutasyonları, protoonkogene ait dizi üzerinde tek bir bazın değişimiyle, bir veya daha fazla nükleotidin kaybıyla (delesyon) veya farklı bir DNA dizisinin bu hücre genlere eklenmesiyle (insersiyon) karakterizedir. Ayrıca virüsler aracılığı ile de protoonkogenin ekspresyonunda aşırı artışlar meydana gelebilmektedir. Protoonkogenin önüne yerleşen güçlü retrovirusa ait olan promotor

veya artırıcı, normal bir proteinin anormal sentezlenmesine neden olabilmektedir (Michael vd. 2009).

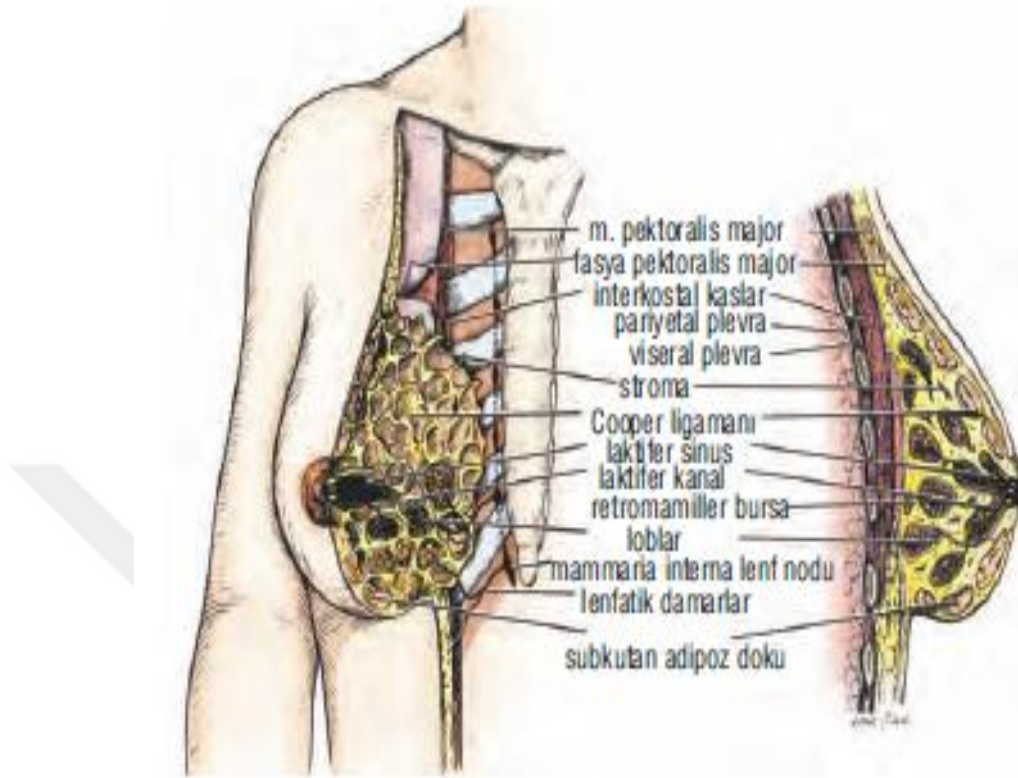
Kromozomal translokasyonlar, çeşitli yeniden düzenlenmeler sonucunda oluşan füzyon proteinlerinin, hücreler arası sinyal yollarını bozması, tümörögenezise yol açan bir diğer süreçtir. Öte yandan hücrenin normal yaşam döngüsünde, bölünme ve çoğalmayı baskılayıcı yönde etkili olan, tümör süpresör genlerin inaktivasyonu, tümörögenezin oluşumunda ve ilerleyişinde temel rolü üstlenen diğer mekanizmalardan biridir. Bu genler, regülasyonu bozulmuş hücre döngüsünün devamını engellemek, gerekli durumlarda hücreyi apoptozise yönlendirmekle görevlidirler. Resesif karakterli olan bu genlerin, inaktivasyonu için, her iki allelinin de işlevini kaybetmesi gerekmektedir. Dolayısıyla tümör süpresör genlerde, meydana gelen mutasyonlar ile hücre döngüsünün temel negatif düzeneği ortadan kalkar, kontrolsüz bölünmeleri ile tümörögenez süreci ortaya çıkar. Hücre siklusunun kontrolünde görevli olan genlerin mutasyonları veya bu sırada devreye girecek olan tamir mekanizmasında meydana gelen aksaklıklar da bir yandan tümörögenez oluşumunu tetikleyebilirken, bir yandanda apoptozisten kaçışa yol açabilmektedir. Büyüme faktörlerinden ve mitotik faktörlerden bağımsız bölünebilen malign hücreler ile onkogeniz başlamaktadır (Michael vd. 2009; Thompson ve Compton 2008).

2.1. Memenin Anatomisi ve Fizyolojisi

Meme dokusu hem erkeklerde hem de kadınlarda olmasına karşın, meme bezlerinin yalnızca postpartum dönemlerde fonksiyonel olduğu bilinmektedir. Süt bezlerinden yeni doğan bebeğin beslenmesi için süt salgılanmaktadır.

İnsanlardaki meme dokusu, meme bezleri (büyüklüğü oluşturan asıl komponent) ve bağ dokusundan oluşmaktadır. Meme bezleri subkutan bir şekilde, anterior ile lateral torasik duvarlarda lokalizedir. Memeler, her birinde çeşitli lobüller olan 15 ile 20 arasında lobtan meydana gelmektedir (Şekil 1). Memenin apeksinde meme başını çevrelemiş olan pigmentli alana da areola adı verilmektedir (Cabioglu 2012).

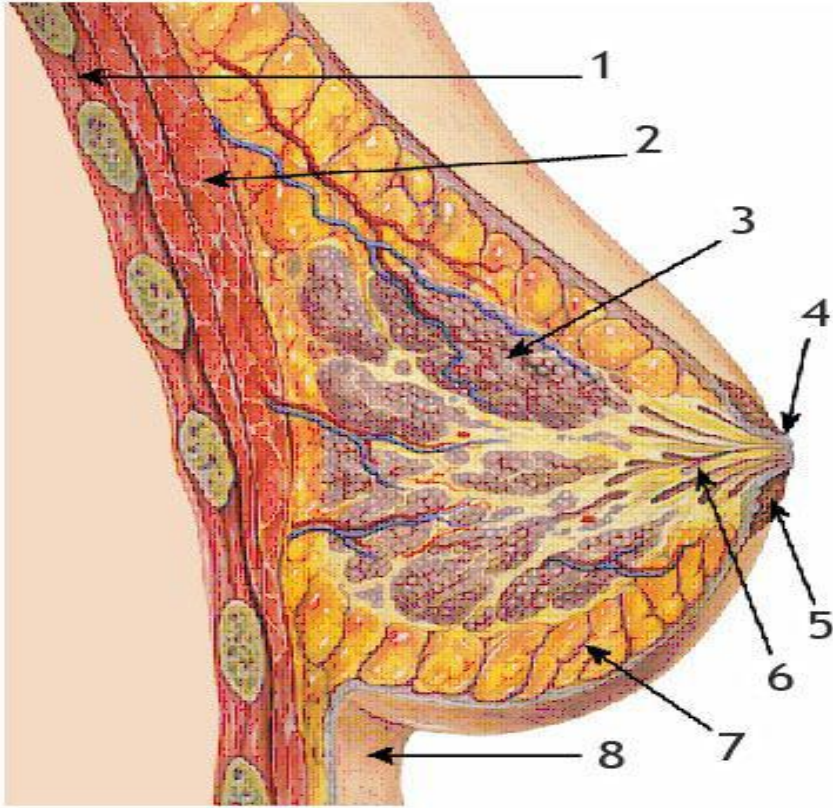
Şekil 1. Memenin tanjensiyel ve sagital kesimi.



Kaynak: Cabioglu 2012.

Erişkin olan bir kadın memesi, göğüs duvarına bağlar ile tutunmuştur. Memenin kendisi kas dokusu içermemektedir. Ancak, göğüs duvarındaki en büyük kas olan pektoralis majörün üzerindedir. Süt bezlerinin çevresinde yağ dokusuyla sarılıdır. Meme dokusu, kadın üreme hormonlarında yaşanan değişimlere bir cevap niteliğinde, her ay gelişip şişmekte ve süt üretimi için de hazır duruma gelmektedir. Memenin üstünde etkili olan üç önemli hormon ise östrojen, progesteron ve prolaktindir. Bu hormonlar; memenin ergenlik zamanındaki gelişiminden, üretken dönem süresince aylık değişimlerden ve gebelik sonrası süt üretiminden sorumludur (Ay 2015).

Şekil 2. Meme anatomisi



Kaynak: Ay 2015

1. Göğüs duvarı
2. Pektoral kas
3. Süt bezi lopları
4. Meme başı
5. Areola
6. Süt kanalları
7. Yağ dokusu

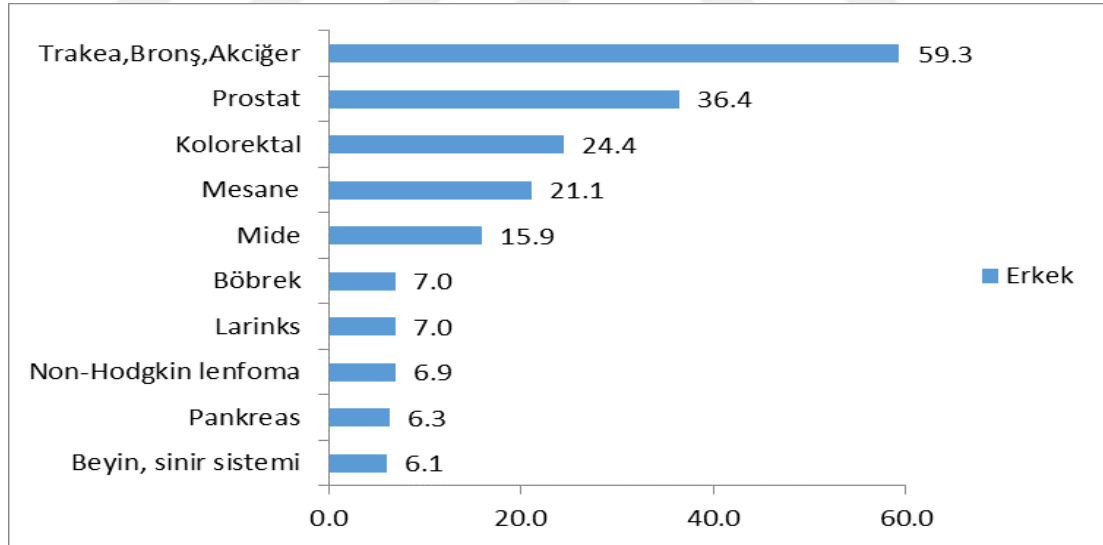
2.2. Meme Kanserinin Epidemiyolojisi ve Etyolojisi

Meme kanserleri etyolojisinde; cinsiyet, yaş, ırk, erken menarş, geç menapoz, ilk hamilelik yaşı, aile öyküsü değiştirilemeyen; sigara, alkol, obezite, fiziksel inaktivite, hormon replasman tedavisi ise değiştirilebilen faktörler arasında yer almaktadır (NCCN 2009).

Meme kanseri kadınlarda daha sık görülmektedir. Bir kadının hayatı boyunca meme kanseri olma riski %10 ile %12.2arasındadır (Onur 2005). Bir önceki dekada; onkogen ve tümör süpresör genler keşfedilmesi meme kanserinin etyopatogenezinde rol oynayan progesteron, büyüme faktörü ve steroidleri düzenleyen yollar arasındaki ilişkiyi, ortaya çıkarmada etkili olmuştur (Dickson vd.2001).

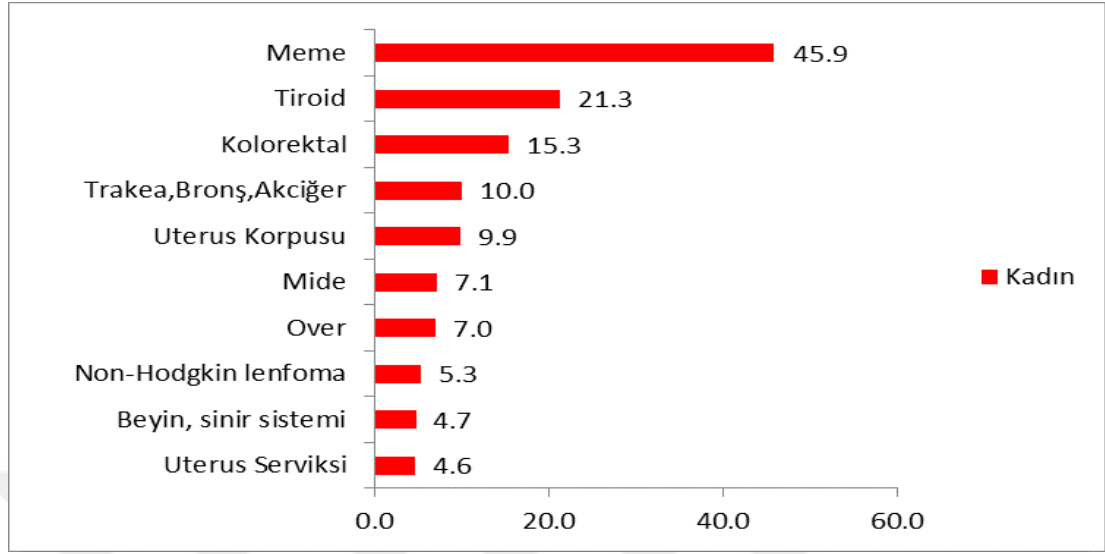
Dünyada 2002 ve 2008 yılları arasında, meme kanseri olan yeni hasta sayısında %17 ve meme kanserine bağlı ölümlerde %10 artış meydana gelmiştir. Aynı yıllar arasında, Türkiye’de bu oranlar %26 ve %18 olarak kaydedilmiştir. Söz konusu altı yıllık dönemde; gelişmiş ülkelerdeki yeni hasta sayısında ki artış %8, meme kanserine bağlı ölümlerdeki artış ise %1 olarak göze çarpmaktadır. Türkiye’de meme kanseri oranının yüksek olmasının en önemli sebepleri ise; yaşam tarzı, koruyucu sağlık hizmetlerindeki yetersizlik, eğitim seviyesindeki düşüklük olarak değerlendirilmektedir (Globocan 2012).

Grafik 1. Erkeklerde en sık görülen 10 kanserin yaşa göre standardize edilmiş hızları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2013) (Dünya Standart Nüfusu, 100.000 Kişide).



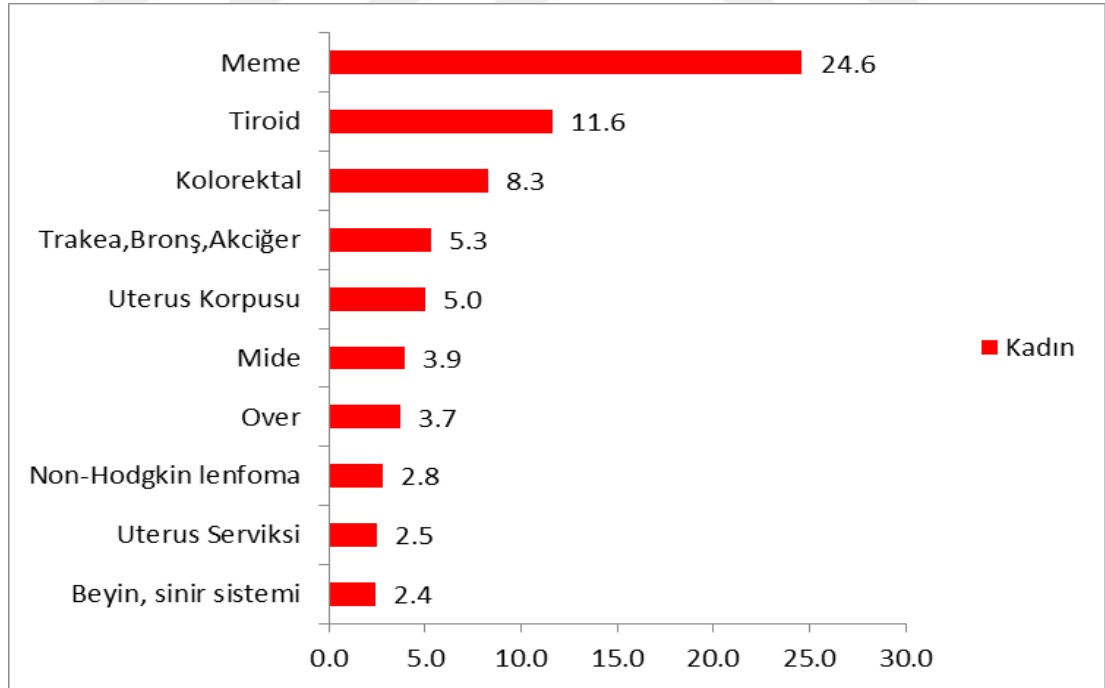
Kaynak: T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Türkiye Kanser İstatistikleri, Ankara, 2016.

Grafik 2. Kadınlarda en sık görülen 10 kanserin yaşa göre standardize edilmiş hızları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2013) (Dünya Standart Nüfusu, 100.000 Kişide).



Kaynak: T. C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Türkiye Kanser İstatistikleri, Ankara, 2016.

Grafik 3. Tüm yaş gruplarındaki kadınlarda en sık görülen bazı kanserlerin bu grup içindeki yüzde dağılımları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2013).

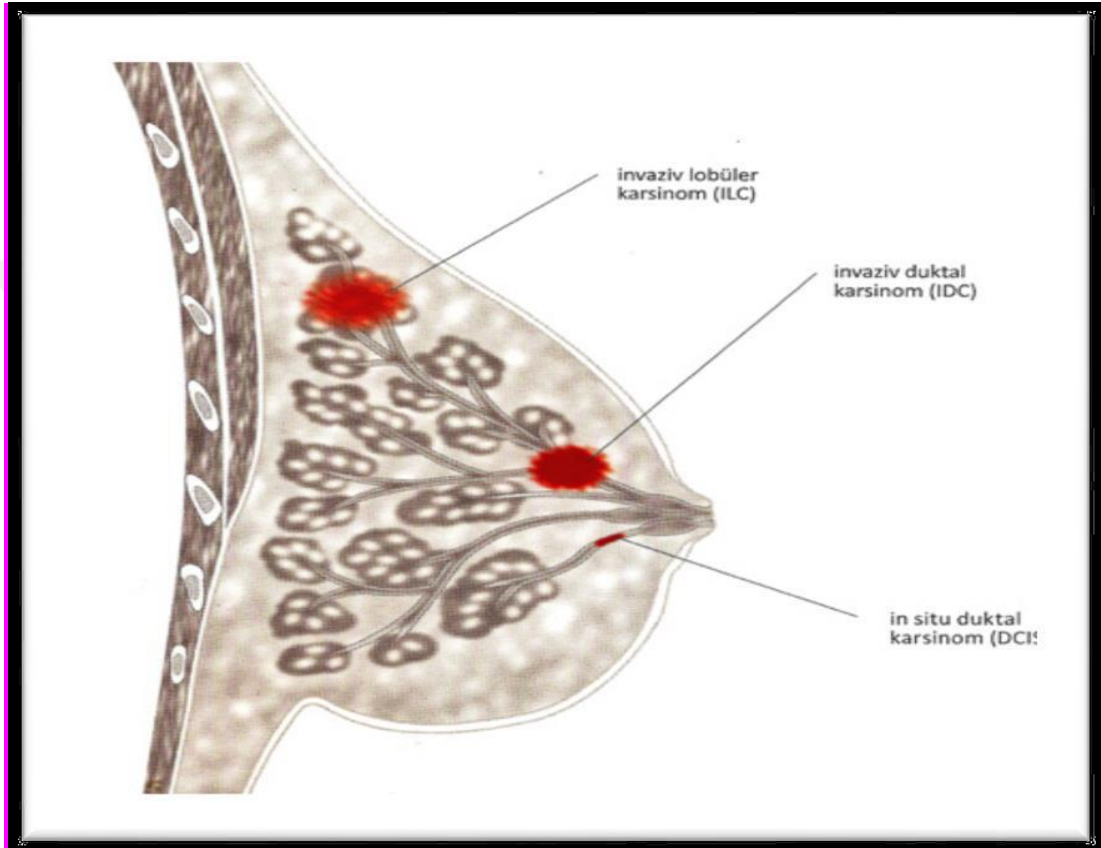


Kaynak: T. C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Türkiye Kanser İstatistikleri, Ankara, 2016.

2.3. Meme Kanserinin Histopatolojik Sınıflandırılması

Tüm kanser türlerinde olduğu gibi meme kanserinin de histopatolojik sınıflandırması, ışık mikroskobu görüntülerine ve standart histolojik boyama tekniklerine göre yapılmaktadır.

Şekil 3. Meme kanseri çeşitleri ve oluştuğu yerler.

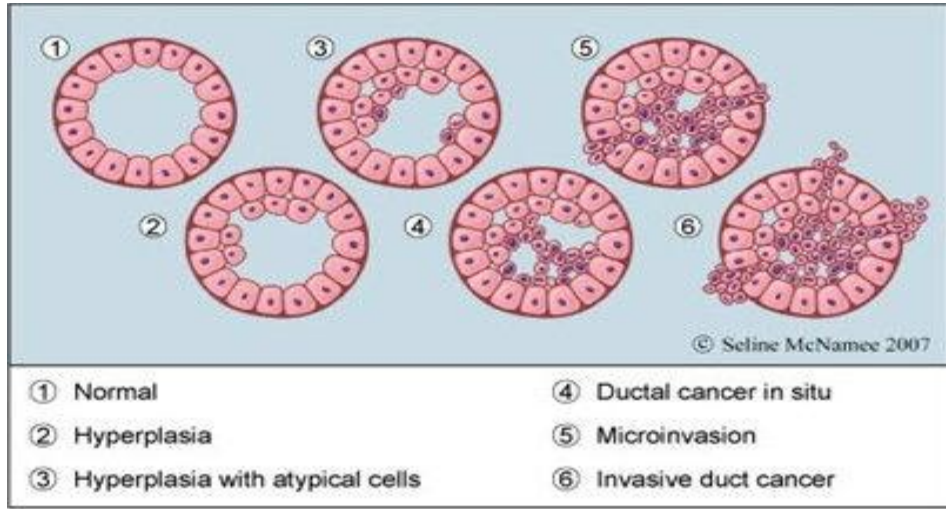


Memedeki atipi izlenmeyen proliferatif lezyonlar, kanserin gelişmesi bakımından düşük risk taşımaktadırlar (Zhou vd. 2011). Histopatolojik incelemelere bakıldığında, proliferasyonun yanında hücresel atipi görünümü, riskleri artırmaktadır (Hartmann vd. 2015). Duktal veya tubuloasiner birimlerindeki histopatolojik incelemelerde, hücre morfolojisi değişime uğramadan oluşan hafif hiperplazi, apokrin metaplazi, epitelyal adenozis ve/veya duktal ektazi gibi bazı değişiklikler kanser gelişiminde risk taşımamaktadır. Burada yoğun hiperplazi, papillom gelişimi ve/veya sklerozan adenozis, meme kanseri oluşumundaki riskleri 1,5 ile 2 katına kadar artırılabilir. Lobüler hiperplazi veya duktal alanlarda hücresel olan atipi izlenmesinin riski, 4 ile 5 katkadar artırdığı bildirilmektedir (Boughey 2010).

Meme kanseri, histopatolojik olarak ikiye ayrılmaktadır; invaziv ve invaziv olmayan kanser.

- 1. İnvaziv kanser:** En sık karşılaşılan tipleri invaziv ductal karsinom (%80) ve invaziv lobüler karsinom (%10)'dur. Her iki tipin de metastaz yeteneği mevcuttur. İnvaziv meme kanseri alt gruplarından bir diğeri de, inflamatuvar meme kanseridir ve kanserin bu formu, en agresif olanıdır. Meme kanseri vakalarının %1 ile %6'sını oluşturmaktadır (Lebeau 2014). Mikroskopik görünümü, meme dokusunda iyi sınırlanmış anaplastik hücre yığınları şeklinde olup, palpasyon ve görüntüleme bulgusu fibroadenom ile karışabilmektedir (Tavassoli ve Devilee 2003).
- 2. İnvaziv olmayan kanser:** İn situlobüler karsinoma ve in situ ductal karsinoma olarak ayrılmaktadır. İn situ kavramı, malign epitel hücrelerin çoğalmasının kendi sınırları içinde kaldığı, bazal membranı geçmediği ve stromayı işgal etmediğini gösteren patolojik bir durumdur (Çalış 2016). Memede bulunan duktoglandüler bölümünün, en sık karşılaşılan prekanseröz lezyonu, in situ ductal karsinomadır (Kumar vd 2014).

Şekil 4. Meme kanseri hücresi çeşitleri



2.4. Meme Kanseri Evreleme

Meme kanserinin evrelemesi; sadece hastalara hangi tedavilerin seçileceği; prognozunun nasıl olacağıyla ilgili bilgilendirmekle kalmamakta, bunun yanında çeşitli tedavi tiplerinin kıyaslanması konusunda imkan sağlamaktadır. İlk klinik evrelemeyi Steintal 1905 yılında tanımlamıştır. Meme kanserini, bölgesel olan anatomik yayılımlarına göre üç gruba ayırdığı görülmektedir. Ancak, tam anlamıyla klinik değerlendirmelere dayanan bu sınıflamanın non invaziv ve invaziv tümörleri ayıramaması, erken evre kanserlerinde tümör büyüklüğünde prognostik değerlerin gözardı edilmesinden dolayı eleştirildiği görülmüştür. Bu sebeple, 1960'ların ardından hem farklı merkezlerin çeşitli tedavi yöntemlerinin de kıyaslanması hem de standart olan bir yaklaşımın belirlenebilmesi için TNM sisteminin kullanıma girdiği görülmektedir. 1977 ile 1992 yılında bazı değişikliklerin yapıp günümüzdeki haline getirilen ve dünyada yaygın şekilde kullanılan TNM sisteminde, T harfi primer tümör boyutunu, N harfi bölgesel lenf düğümlerini, M harfi de uzak metastazlarını temsil etmektedir (Pharoah 1997).

PRİMER TÜMÖR BOYUTU (T)

Tx: Primer tümör değerlendirilemiyor.

T0: Primer tümöre ait bulgular yok.

Tis: İnsitu karsinom intra duktal karsinom, lobuler karsinoma in situ; ya da tümörsüz meme başının Paget hastalığı.

T1: Tümör 0 ila 2 cm arasında.

T1mic: Mikroinvazyon tümör 0,1 cm'den küçük.

T1a: Tümör 0,1-0,5 cm arasında.

T1b: Tümör 0,5-1 cm arasında.

T1c: Tümör 1-2 cm arasında.

T2: Tümör 2-5 cm arasında.

T3: Tümör 5 cm'den fazla.

T4: Herhangi bir boyuttaki tümörde.

T4a: Göğüs duvarına yayılım.

T4b: Ödem (peau d' orange dahil), cilt ülserasyonu, ya da ipsilateral memede sınırlı satelit cilt nodülleri.

T4c: 4a + 4b T4d: İnflamatuvar meme kanseri.

BÖLGESEL LENF DÜĞÜMLERİ (N)

Nx: Bölgesel nodlar değerlendirilemiyor (Daha önce çıkartılmış olanlar da dahil)

N0: Bölgesel nod metastazı yok.

N1: Mobil ipsilateral aksiller lenf nodlarına metastaz; meme içi, infraklavikuler ve "Rotter" nodları dahil.

N2: Bir diğerine ya da diğer yapılara fikse "konglomere" ipsilateral aksiler lenf nodlarına metastaz.

N3: İpsilateral internal mammarian lenf nodlarına metastaz.

LENF NODLARININ PATOLOJİK SINIFLAMASI (pN)

pNx: Bölgesel nodlar değerlendirilemiyor (Daha önce çıkartılmış olanlar da dahil)

pN0: Bölgesel nod metastazı yok.

pN1: Mobil ipsilateral aksiller lenf nodlarına metastaz.

pN1a: Yalnızca mikrometastazlar 0,2 cm'den küçük.

pN1b: Nodlara metastazlar 0,2 cm'den büyük.

pN1bi:1-3 noda yayılım pN1bii:4 veya daha fazla nodlara metastaz.

pN1biii: 2 cm'den küçük nodlarda ekstrakapsüler invazyon.

pN1biv: En büyük boyutuyla 2 cm'den fazla noda yayılım.

pN2: Bir diğerine ya da diğer yapılara fikse (conglomerate) ipsilateral aksiler lenf nodlarına metastaz.

pN3: İpsilateral internal mamarian lenf nodlarına metastaz.

UZAK METASTAZ

M0: Uzak metastaz yok.

M1: Uzak metastaz var (İpsilateral supraklaviküler, servikal ya da kontralateral internal mamarian lenf nodlarına yayılım dahil).

2.5. Meme Kanseri Tedavisi

Meme kanserinin tedavisi nispeten de olsa, diğer kanserlere nazaran daha avantajlı olduğunu söylemek mümkündür. Tedavide birincil yöntem cerrahi müdahaledir. Cerrahi tedavi, genellikle meme dokusunun bütününe alınmasıyla yapılmaktadır. Koltuk altındaki lenf bezleri çıkartılıp, muhtemel olan yayılmalar engellenmeye çalışılmaktadır (Kierszenbaum, 2007'dan akt. Çalış 2016).

Meme kanseri tedavisinin genel olarak sistematik ve lokal tedavi olarak ikiye ayrıldığı görülmektedir. Meme kanserinde, lokal tedavideki temel amaç kanserin lokal varlığının ortadan kaldırılmasıdır. Boyutları küçük ve evreleri elverişli tümörlerde tek başına lokal tedavilerle başarılı neticelere ulaşılabilmektedir. Bu tedavilerin radyoterapi cerrahi olarak ayrı ayrı veya beraber kullanıldığı görülmektedir (Sütçü 2010). Cerrahi tedavilerde memenin tamamının çıkarılma işlemi (mastektomi) ya da etkilenmiş olan doku ile beraber bir bölüm dokunun çıkarılıp meme yapılarının korunduğu “meme koruyucu cerrahi” (lumpektom) uygulanmaktadır. Radyoterapide ise kanserli olan hücrelerin yok edilmesi için yüksek enerjili iyonize radyasyon uygulanmaktadır (Yeter vd. 2009).

2.6.Meme Kanserinin Moleküler Genetiği

Meme kanserinde genetik yatkınlığın belirlenmesi, moleküler temellerin ortaya çıkarılması teşhis ve tedavide son yıllarda önem kazanmıştır. Meme kanserindeki ailesel veya ailesel olmayan moleküler farklılıklar, protoonkogenler ve tümör süpresör genler mevcuttur. Bu genlerdeki, hücrel yolakları etkileyen genetik değişiklikler birçok adımda ortaya çıkar. Öncelikle meme kanseri ile ilişkili onkogenleri ele alacak olursak bunlar; nokta mutasyon, delesyon, kromozomlarda yeniden düzenleme ve gen amplifikasyonu şeklinde sıralanabilir (Michael vd. 2009).

Onkogenlerin kanser oluşturmada, ekspresyonda kantitatif değişiklikler veya onkogenin yapısında meydana gelen hasarlar söz konusudur. Onkogenler büyüme faktörleri ve çeşitli hormon reseptörlerine ait genlerdir. Bu genin aşırı ekspresyonu veya bu genlerin okunmasını düzenleyen transkripsiyon faktörlerinin artışı, hücrel mekanizmayı bozarak kanserlerin oluşumuna yol açar. Meme kanserleri için buna en güzel örnek; cerb-b2 (her2-neu) onkogeninin aktivasyonudur. Meme kanserinde etkili onkogenleri sıralayacak olursak bunlar; büyüme faktörü reseptörü, sinyal iletimiyle ilgili nükleonkogenler, siklinler, siklin bağımlı kinazlar ve steroidler şeklinde sıralanabilir. Büyüme faktörlerine örnek verilecek olursa, epidermal growth faktör, meme kanserinde sıklıkla mutasyona uğrayan bir gen dir. Özellikle hormona bağımlı veya bağımsız meme kanseri karşılaştırıldığında, yüksek EGFR düzeyleri gözlenir. Bu durumun kötü prognozla ilişkili olduğu bilinmektedir.

HER2 ise, meme kanserinde en çok çalışılan onkogenlerden bir tanesi olup, bu genin amplifikasyonu meme kanserinin yaklaşık %25'inde gösterilmektedir (Castellano vd. 2017). Bu genin ekspresyonu meme kanseri için prognostik bir belirteç olarak kullanılmaktadır. Ayrıca meme kanserinde östrojen, progesteron, cmyc, RAS, c-fos, c-jun ilişkili olduğunda literatürde yer almaktadır. C-myc, nükleus düzenleyici proteinleri kodlayan bir onkogenidir. Nükleer transkripsiyon faktörleri kodlayan bu genlerdeki mutasyonlar malign transformasyona yol açar. Meme kanserinde %20 cmyc gen amplifikasyonuna rastlanmaktadır (Lyu vd. 2013).

RAS onkogeni ise solid tümörlerde sık mutasyona uğrayan bir proteindir. Deneysel modellerde mutant RAS onkogeninin insan meme epitelinde malign transformasyonun fenotipik karakteristiklerini oluşturduğu tespit edilmiştir. RAS aktive olduğunda, GTP bağlanmaktadır. Aktive olan RAS, RAF proteinini, bu da MAK kinazı sistemini aktive eder. Aktive olan MAK kinaz, nükleus içerisinde c-jun ve c-fos'un fosforile olmasını ve hücrenin S fazına girmesi sağlar. Buradaki c-jun ve c-fos'un mutasyonunun da meme kanseri ile ilişkili olduğuna dair kaynaklar mevcuttur (Yeh vd. 2010).

Meme kanseri ile ilişkili tümör süpresör genler ise daha çok DNA üzerindeki hasarı ortadan kaldırmak üzere aktifleşmiş genlerdir. Bu genlerdeki hasar, her iki alleli de kapsamaktadır. Tümör süpresör genler için klasik örnek, P53 genidir. Bu genin her iki allelinin kaybı meme kanserinde gösterilmiştir. P53 kaybı kötü prognozun işaretidir. Bir diğer tümör süpresör gen olan, ATM geninin meme kanserinde çok çeşitli mutasyonlarının tespit edildiği görülmektedir. ATM taşıyıcılığı, toplumda yaygın olduğundan, meme kanserinin, %2-7'sinde bu genin delesyonu gözlenmektedir (Prodosmo vd. 2016).

Bir diğer tümör süpresör gen olan BRCA ailesi, kalıtsal meme kanserlerinde yüksek penetransa sahiptir. Bu genlerdeki gen mutasyonlarında, kadınların yaşamlarında meme kanseri gelişme riski %50-80 arasındadır. Ayrıca bu genlerin sporadik mutasyonları da meme kanseri ile ilişkilidir (Ha vd. 2017).

Bunun yanı sıra, meme kanseri üzerinde yapılan çalışmalarda; mir-125, mir-145, mir-21, mir-155'in regülasyonun bozulduğu, mir-205'in ise normal meme

dokusuna göre azaldığı gösterilirken, bir diğer çalışmada, mir-221 ve mir-222'nin (ER) östrojen reseptörlerini etkilediği bildirilmektedir. Ayrıca mir-145 ekspresyonunun tümör dokularında azaldığı da görülmektedir (Thakur vd. 2016).

Epigenetik mekanizmalardan CpG adalarındaki metilasyon değişiklikleri, kanser hücrelerinde gen ekspresyonunu en yaygın olarak etkileyen mekanizma olarak tanımlanmaktadır. Bunun yanı sıra, hipermetilasyon, meme kanseri alt tipleri tümörler arasında, yapılan bir çalışmada gösterilmiştir. Meme kanserlerindeki hipermetilasyonun öneminin daha da artacağı düşünülmektedir. Bir epigenetik regülatör olan histon şaperonları HPJURP (holliday junction recombination proteinleri), Luminal A meme kanserleri için prognostik yeni bir markır olarak kabul edilmektedir (Montes de Oca vd. 2014).

2.7.TTK Geni

TTK geni çift fonksiyonlu kinaz ailesinden olup serine/threonine ve tirozin kinaz aktivitesi taşımaktadır. TTK mRNA seviyesi proliferasyon hücrelerinde istirahatteki hücrelerden yüksek olup en yüksek ekspresyonu S fazında ve pik değeri G2/M üzerindedir. TTK geni, hücre siklusunu ile ilgili pek çok yolakta rol oynadığı, mitozda sentrozom dublikasyonu mitotik spindle birleştirme, checkpoint devamlılığı gibi birçok kritik role sahip olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmektedir (Fiskvd. 2003; Suzanne vd. 2004).

Son yıllarda yapılan araştırmalar, hücre döngüsünün düzenlenmesinde meydana gelen kusurların meme kanseri ve diğer kanserlerin oluşmasındaki önemi vurgulamaktadır. Hücre döngüsü G1/S, G2/M ve M kontrol noktalarında çeşitli kontrol mekanizmaları ile düzenlenmektedir. Bu denetim noktalarının her birinde, ilgili proteinlerce döngünün ilerlemesine veya durmasına karar verilmektedir. Bu kararların verilmesinin kontrolü, hedef proteinleri seçip fosforilize eden bir enzim ailesinden olan protein kinazlar ve hücre döngüsünün işlerliğini kontrol eden siklin proteinleri tarafından yapılmaktadır (Daniel vd. 2011; D'Andrea vd. 2007).

Mitozda spindle checkpoint olarak bilinen moleküler denetleyici sistem, kromozomların doğru bir şekilde iğ ipliğine yapışana kadar anafazı engelleyerek

olası bir bozukluğu önlemekle görevlidir. Bu denetimin yetersizliği hücre bölünmesi esnasında düzensiz kardeş kromozom ayrılmasından oluşan kromozomal dengesizliğe (anöploidi) öncülük edebilir. Bunun fenotipik karşılığı kromozomal instabilite (CIN) olarak isimlendirilmektedir (Thompson ve Compton 2010). Stabil olmayan hücrelerde kromozomların hatalı kümelenmesinin sebebi hatalı mikrotübül, kromozom bağlanmasıdır (Thompson ve Compton 2008). Tüm ökaryotlarda mitotik spindle kontrol noktası ve kromozomların ayrılmasının ayarlanması TTK, Bub1 ve Aurora olarak bilinen protein kinazlarca sağlanmaktadır (London vd. 2012). Bu kontrol; mikrotübüller kardeş kromatidlerin kinetorlarına doğru iki yönde bağlanmadığında, TTK'nın Spc105'i fosforilize etmesiyle Bub1/Bub3'ün kinetokora eklenmesine sebep olur. Doğru mikrotübül bağlantısı Spc105 üzerinde PP1-aracı fosfataz aktivitesini teşvik ederek, Spc 105'in defosforilasyonuna ve Bub1/Bub3'ün salınmasına yol açar. Sonuçta kontrol noktasının susturulması mayoz veya mitozun kontrolsüz hale gelmesine neden olmaktadır (London vd. 2012)

DNA dizilim teknolojisindeki ilerlemelerin, kişiselleştirilmiş meme kanseri tedavisinde kökten değişime yol açacağı öngörülmektedir. Günümüzde meme kanseri alt gruplarını; buna bağlı prognoz ve tedavi olacak hastaları belirlemede kullanılmaya başlanan genetik bilgiler, gelecekte meme kanserli hastalarda moleküler olarak tarif edilen alt gruplar için hedefe yönelik ilaçlarla, tedaviyi amaçlanmaktadır. Artmış TTK gen ekspresyonunun inhibisyonu ile kanserlerin tedavisi üzerindeki çalışmalar, son yıllarda literatürde dikkat çekmektedir (Goldhirsch vd. 2013; Ricardo vd. 2015; Jewel vd. 2010). Özellikle TTK inhibisyonu tetraploid hücrelerde diploid olanlara göre daha etkili olarak ölüme sebep olduğundan, TTK inhibisyonunun tetraploid kanser hücreleri için tedavi edici yöntem olarak kullanılabileceği de ileri sürülmüştür (Mohamed vd.2015). Çalışmamızda, meme kanserinde TTK gen ekspresyonu değişimlerinin, ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

3. MATERYAL VE METOD

3.1 Araştırma Tipi

Araştırma retrospektif vaka-kontrol çalışmasıdır.

3.2. Araştırma Bölgesi ve Zamanı

Hasta grubu, 2005-2015 yıllarında Konya Numune Hastanesi Onkoloji Cerrahi Polikliniğine başvurmuş, alınan biyopsi ile meme kanseri tanısı konmuş, daha sonra cerrahi müdahale ile meme dokusu çıkarılmış kadın hastalardan oluşmaktadır. Kontrol grubu ise, meme kanseri tanısı konmuş kadınların, normal meme dokusunu kapsamaktadır.

3.3. Araştırma Evreni ve Yeri

Bu araştırma; Konya ilinde yaşayan meme kanserli kadın hastalar araştırma evrenini oluşturmaktadır. Konya Numune Hastanesi Patoloji bölümü arşivinde, 2005-2015 yılları arasında kayıtlı meme kanseri tanısı konmuş 35 olguya ait materyal, çalışma grubuna alınmıştır. Hastalara ait histopatolojik parametre bilgileri, retrospektif olarak patoloji raporlarından elde edilmiştir.

3.4. Örnek Seçme Kriterleri

1. Patolojik olarak meme kanseri tanısı konmuş olması,
2. Daha önceden meme ile ilgili hiçbir hastalığının olmaması,
3. Hastanın önceden metabolik herhangi bir ilaç kullanmaması.

3.5. Örnek Gruplarının Randomizasyonu

Araştırmada, 35 meme kanseri hastasının patolojik dokuları ve kontrol grubu olarakda aynı bireylerin sağlam meme dokuları kullanılmıştır. Bu dokuların tespiti ve patolojik tanısı toplam 6 ay sürmüştür.

3.6. Araştırma Öncesi Bilgilendirme

Hastalarda araştırmaya dahil olma kriterleri sorgulanarak, bu kriterlere uygun hastalara bilgi verilerek, araştırmaya dahil olma kriterleri anlatılmıştır. Araştırmanın tamamen gönüllülük esasına dayandığı, istedikleri zaman çalışmadan çıkabilecekleri kendilerine ifade edilmiştir. Tüm hastalara gerekli bilgiler verildikten sonra araştırma için uygun onay veren bireylerle araştırmaya başlanmıştır.

3.7. Araştırmanın İzni ve Etik Kurulu

Araştırma öncesi, T.C Sağlık Bakanlığı Kamu Hastaneler Kurumu Konya Numune Hastanesi Etik Kurulu'na, tüm yapılması gereken uygulamalarla ilgili detaylı bir rapor sunulmuştur. Etik Kurul tarafından incelenen raporlar uygun bulunmuş ve 19.02.2016 tarihinde 78025658 karar tebliğiyle kurul onayı alınmıştır.

3.8.Kullanılan Yöntem

EŐ ZAMANLI POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU

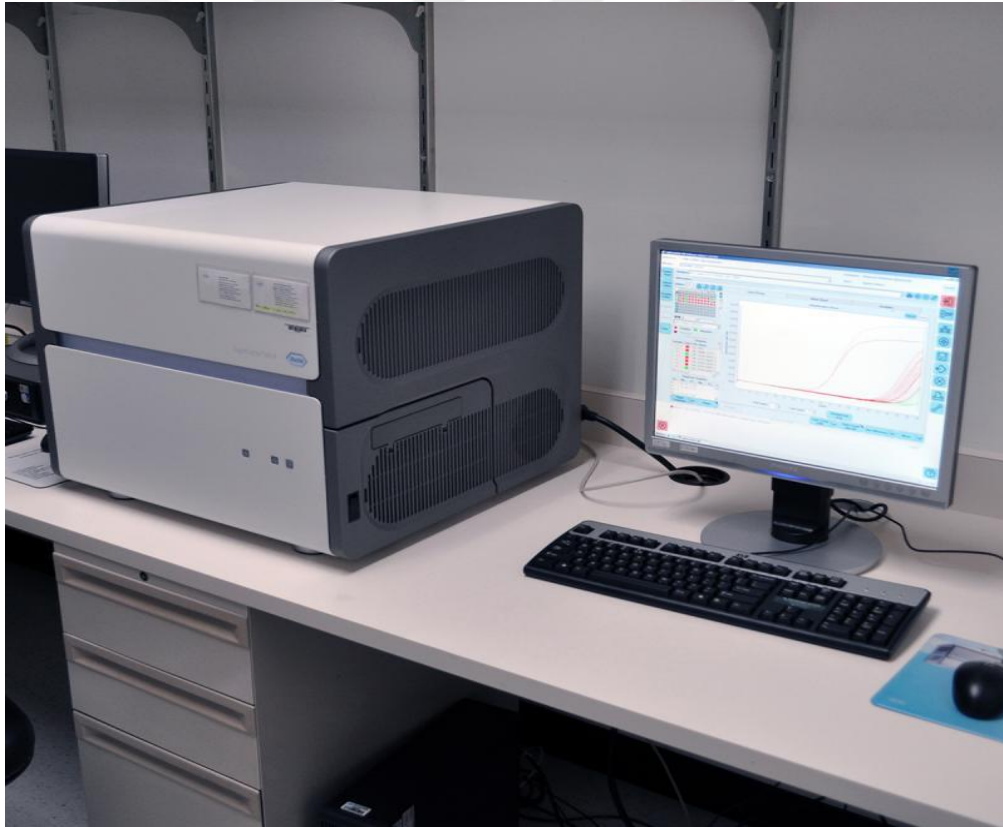
Eő zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)), ekspresyon çalışmalarına yeni bir bakış getiren metottur. Geleneksel PCR analiz yöntemleri ile genetik analizi eő zamanlı olarak birleştiren bir sistemdir. RT-PCR yönteminde hedef diziye ait primerler, hedef dizilim çoğaltılır iken, eő zamanlı olarak floresan sinyalle yayarak döngü boyunca aranan ürünlerin görüntülenmesini sağlar. Bir başka deyişe, sıcaklık döngüleri ve floresan okunması aynı anda, aynı tüp ve aynı cihaz içerisinde gerçekleşmektedir. Bu durum yöntemin daha az kontaminasyona sebebiyet vermesini ve diğer yöntemlere göre daha güvenli olmasını sağlamaktadır (Fraga vd. 2008).

RT-PCR yönteminde, floresan sinyali ile ürün miktarı doğru orantılı olarak artmaktadır. Burada, çoğaltılan ürün varlığını saptamak için çeşitli problemler kullanılmaktadır. Bunlardan birincisi özgül olmayan çift zincirli DNA prob (SYBR Green I)'dur. SYBR Green I probu DNA'ya bağlandığından çoğalan DNA miktarındaki artışa paralel olarak, Real-time PCR cihazında okunan floresanın miktarı da eő zamanlı olarak artmaktadır. İlk sikluslarda ışımaya az iken, siklus ve ürün

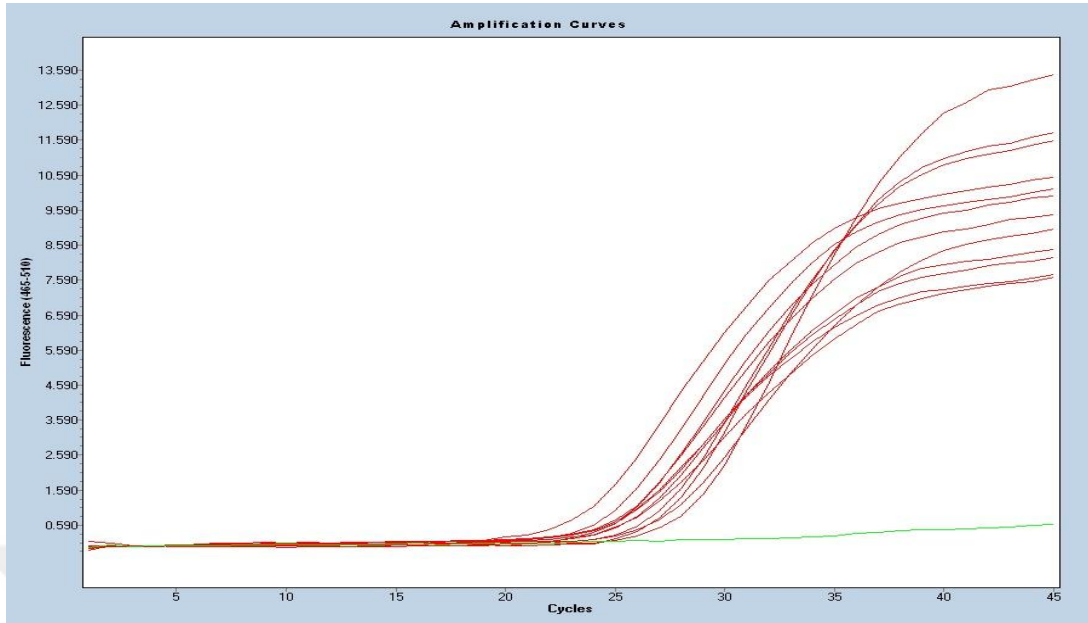
miktarı arttıkça, floresan ışması da artar. SYBR Green I probda, hedef DNA dizisi olmadığından primerlerin birbiriyle bağlanması olasıdır. Bu durum sonuçların güvenilirliğini azaltmaktadır. Diğer prob çeşidinde ise, çoğaltılmak istenen DNA parçasına özgüdür. Bu prob yöntemleri; TaqMan Prob Yöntemi, Moleküler Boncuk Yöntemi, Hibridizasyon Prob Yöntemidir (Dorak 2007).

TaqMan Prob sistemi; 5'' ve 3'' uçlarında floresan işaretli, hedef DNA'ya tamamlayıcı tek zincirli probdur. 3'' uçtaki baskılayıcı floresan madde, 5'' uçtaki yazıcı floresan sinyal oluşturmasını engellemektedir (Dorak 2007). TaqMan Probu, DNA'da çoğaltmak istediğimiz bölgeye özgü olduğu için güvenilirliği yüksektir. Bizde çalışmamızda bu prob sistemini tercih ettik.

Şekil 5. Araştırmamızda kullandığımız Roche LightCycler 480 II Real Time PCR cihazı.



Şekil 6.TTK Genin Real Time PCR Monitör Görüntüsü



3.9. Ön Hazırlıklar

Wash Buffer I, Wash Buffer II, Proteinaz K, DNaz I, DNaz working solution çalışmamızda kullanılmak üzere ön hazırlıklar yapıldı. Proteinaz K, DNaz I -20 °C de kullanılmak üzere saklandı.

3.10.Parafinden Uzaklaştırma

Patoloji Uzmanı tarafından, immünohistokimyasal boyalarla boyanan preparatlar, incelenerek meme kanseri tanıları teyit edildi.

1- Kanserli ve normal dokuyu en iyi temsil eden preparatların blokları belirlenerek iyice silinen, kurulan Leica RM2255 model mikrotom cihazı ile 5 µm kalınlığında 5-6 adet (yaprak) kesildi. Kesilen parafin örnekleri (yapraklar), üzerinde her olguya ait numara yazılı 1,5 ml'lik vidalı ependorf tüplerine steril bir şekilde alındı. RNA elde etmek için aşağıdaki işlemler uygulandı.

i. Örneklerin bulunduğu tüplerin içine 1000 µl Ksilen koyuldu, vortekslendi ve 56 °C ye getirilen ısı bloğuna alındı. 5 dk. bekletildi. Tekrar vortekslendi ve 13.200 rpm'de 2 dk santrifüj edilip üst sıvı (ksilen) uzaklaştırıldı.

ii. Bu tüplere tekrar 1000µl Ksilen konup vortekslendi ve 56 °C ye getirilen ısı bloğuna alındı. 5 dk. bekletildi. Tekrar vortekslendi ve 13.200 rpm'de 2 dk santrifüj edilip üst sıvı (ksilen) uzaklaştırıldı.

iii. Bu tüplere 500 µl Ksilen koyulup vortekslendi ve 56 °C ye getirilen ısı bloğuna alındı. 5 dk. bekletildi. Tekrar vortekslendi ve spin yapıldı. Üzerine 500µl Etanol konup vortekslendi ve 56 °C ye getirilen ısı bloğuna alındı. 5 dk. bekletildi. 13.200 rpm'de 2 dk santrifüj edilip üst sıvı (ksilen ve etanol) uzaklaştırıldı.

iv. Bu tüplerin kapağı açılıp 1000µl Etanol koyulup vortekslendi ve 13.200 rpm'de 2 dk santrifüj edilip üst sıvı (ksilen) uzaklaştırıldı.

v. Bu tüplerin kapağı açılıp tekrar1000µl Etanol koyulup vortekslendi ve 13.200 rpm'de 2 dk santrifüj edilip üst sıvı (ksilen) uzaklaştırıldı.

vi. Bu tüpler spin yapılarak tüplerin dibindeki sıvı 200 µl pipetle doku kaybolmadan dikkatlice alındı ve 10 dk oda sıcaklığında bekletildi.

3.11. RNA İzolasyonu

RNA izolasyonu ROCHE marka High Pure FFPE RNA Isolation Kit (İndianapolis USA) ile aşağıdaki gibi yapıldı.

- 1.** Üzerine her bir örnek için;100 µl RNA Tissue Lysis Buffer, 16 µl%10 SDS, 40 µl Proteinaz K olmak üzere toplam 156 µl eklendi.
- 2.** Karışım vortekslendi ve spin yapıldı. 600 rpm'de çalkalanarak 85°C sıcaklıkta 30 dk bekletildi.
- 3.** Süre sonunda tüp spin yapıldı ve 55°C sıcaklığa düşmesi beklendi. (Örnekler 10 dk oda sıcaklığında 55°C'ye gelmektedir.)
- 4.** 80 µl Proteinaz K eklendi.

- 5.** Karışım vortekslendi ve spin yapıldı. 600rpm'de çalkalanarak 55°C sıcaklıkta 30 dk. Bekletildi. Bu aşama sonunda lysate net şekilde görüldü, partikül var ise süre 10 dk daha uzatıldı.
- 6.** Her bir örnek için; 325 µl RNA Binding Buffer, 325 µl absolut ethanol olmak üzere toplam 650 µl eklendi.
- 7.** Karışım vortekslendi ve High Pure Filtreli tüplere alındı, altına da High Pure Collection Tüp koyuldu. Ardından 6000 g'de 30 sn. santrifüj edildi.
- 8.** Collection Tüp değiştirildi. Filtrenin kuruması için 16000 g'de 2 dk. santrifüj edildi.
- 9.** 100 µl DNase working solution eklendi. Oda sıcaklığında 15 dk. bekletildi (100 µl DNase working solution 90µl DNase Incubation Buffer, 10 µl DNase I olmak üzere toplam 100 µl şeklinde hazırlandı.)
- 10.** 500 µl Wash Buffer 1 eklendi. 6000 g'de 30 sn santrifüj edildi. Collection tüp değiştirildi.
- 11.** 500 µl Wash Buffer 2 eklendi. 6000 g'de 30 sn santrifüj edildi. Collection tüp boşaltıldı.
- 12.** 500 µl Wash Buffer 2 eklendi. 6000 g'de 30 sn santrifüj edildi. Collection tüp değiştirildi.
- 13.** Filtrenin kuruması için 16000 g'de 2 dk. santrifüj edildi. Ardından High Pure Filtreli tüpün altına temiz bir ependorf tüp koyuldu.
- 14.** 25-50 µl arası (35 µl kullanıldı) Elution Buffer eklendi ve oda sıcaklığında 1 dk. bekletildi.
- 15.** 6000 g'de 1 dk. santrifüj edildi ve TOTAL RNA eldesi gerçekleşti (-80°C'de saklandı).

3.12. cDNA Sentez Aşaması

Transcriptor First Strant cDNA Synthesis Kiti:

İlk aşamada bir örnek için;

Total RNA: 9 µl

Random Hexamer Primer: 2 µl

PCR Grade Water: 2 µl

Toplam: 13 µl eklendi.

Bu karışım Sensquest marka Thermal Cycler (Germany)'da 65°C'de 10 dk. işleme alındı.

İkinci aşamada ise bir örnek için;

Transcriptor Reverse Transcriptase Reaction Buffer: 4 µl

Protector RNase İnhibitor: 0,5 µl

Deoxynucleotide Mix: 2 µl

Transcriptor Reverse Transcriptase: 0,5 µl

Toplam tüplere dağılacak miktar: 7 µl

İlk aşamada elde edilen 13 µl total hacim üzerine 7 µl bu karışım koyuldu. Her tüp içerisindeki hacim toplam 20 µl oldu.

Thermal Cycler'la:

25°C'de 10 dk,

50°C'de 60 dk,

85°C'de 5 dk

İşleme alındı ve cDNA'lar sentezlendi.

Örnekler gerektiğinde -20 °C'de saklandı.

3.13. Real Time PCR Aşaması

Referans Gen + Target Gen Mix Hazırlama

1 µl Primer ve Prob (Real Time Ready) + 10 µl Probe Master + 4 µl PCR Grade Water= 15 µl total hacim hazırlandı.

PCR MIX

	Conc.	Volüm	Final Conc.
PCR Grade Water	-	4 µl	-
Light Cycler 480 Probes Master	2x conc.	10 µl	1x conc.
Real time ready assay	20x conc.	1 µl	Primerler 8pmol her 4pmol UPL probu için
Total Volüm		15 µl	

Her bir örnek için yukarıdaki protokole 5'er µl cDNA eklenerek ROCHE marka Light Cycler (İsviçre 2004) sistemlerin doğrultusunda aşağıdaki tabloda belirtilen protokolde çalışıldı.

Real Time PCR Heat Protokolü:

	SİKLUS	°C	ACQ.MODE	ZAMAN	RAMP RİTE
DENATURASYON	1	95°C	-	00:10:00	4,4
		95°C	-	00:00:10	4,4
AMPLİFİKASYON	45	60°C	-	00:00:30	2,2
		72°C	Tek	00:00:01	4,4
SOĞUTMA	1	40°C	-	00:01:00	2,2

3.14.İstatistiksel Analiz

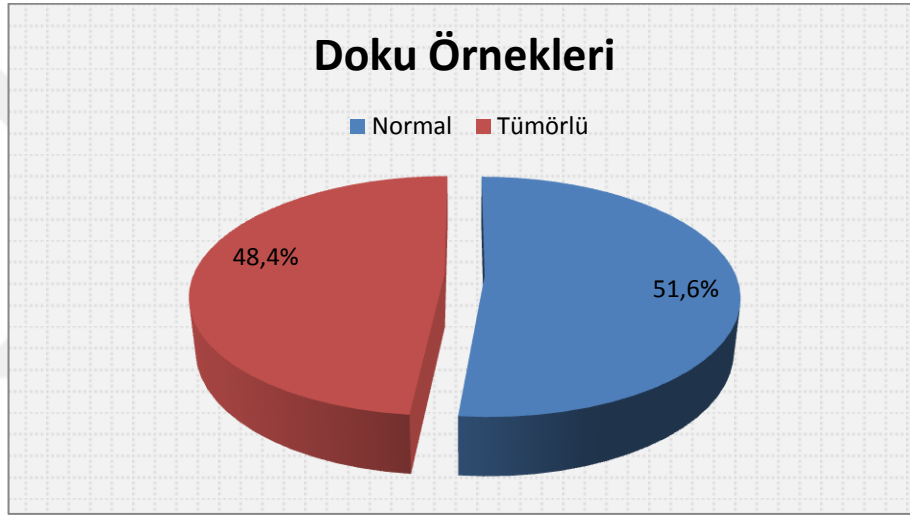
Çalışma verilerin değerlendirilme sürecinde SPSS 20.0 (Statistical Package for The Social Science) programından yararlanılmıştır. Grafikselleştirilmiş gösterimler Excel’de çizdirilmiştir. GAPDH ct ve TTK ct değerlerinin normal ve tümörlü dokudaki en düşük, en yüksek ve ortalama değerlerini belirlemek için betimsel istatistiklerden yararlanılmıştır. Araştırma problemi TTK gen ekspresyonuna dayandığı için, TTK ct değerlerinin normallik sınaması Kolmogorov-Smirnov ile test edilmiştir. İncelenecek gruba göre varyansların homojenliği Levene testi ile gösterilmiştir. Parametrik testlerden Bağımsız Örneklem T Testi, normal ve tümörlü dokudaki TTK gen ekspresyonunun farklılaşması için uygulanmıştır.

4. BULGULAR

Araştırmamızda, toplam meme kanserli 35 doku ve aynı bireylerin memelerinden normal doku çalışılmıştır. Bu dokularda, tümörlü dokuda 5, normal dokuda 3 adeti çalışma standartlarımızın dışında olduğu tespit ettiğimizden, araştırma dışında bırakılmıştır. Araştırma için alınan, örneklemelerin dağılımına ilişkin grafiksel gösterim aşağıdaki, şekil 7’de gösterilmiştir.

Dokuların örneklem içerisindeki dağılımına ilişkin grafiksel gösterim Şekil7’de verilmiştir. Çalışılan dokuların %51,6’sı normal, %48,4’ü ise tümörlüdür.

Şekil 7. Doku gruplarına ait grafik.



Araştırmamız için belirlenen TTK geni dışında kontrol olarak, GAPDH ct geni kullanılmış, tüm çalışmaya alınan materyaller bu genin ekspresyonu tespit edilerek kontrol geninin çalıştığı kanıtlanmıştır. Tablo-1 TTK genine ait normal ve tümörlü dokulardaki ortalama değerler ve standart sapmalar gösterilmiştir.

Tablo 1. Hastaların normal ve tümörlü dokuya ait, TTK ve kontrol olarak seçilen ct değerleri aşağıda tablo olarak verilmiştir.

Grup		N	Ortalama	Standart Sapma
TTK	Normal	32	34,19	1,49
ct	Tümörlü	30	35,77	1,57

İstatistiksel analizlerde en önemli problem, uygulanacak yöntemin doğru belirlenmesidir. Bu yöntemler, parametrik ve parametrik olmayan istatistiksel yöntemler olarak ayrılmaktadır. Parametrik yöntemlerin uygulanabilmesi için verilerin oransal ya da aralıklı olması, verilerin normal dağılıma uyması ve grup varyanslarının eşit olması varsayımlarının sağlanması gerekmektedir (Kalaycı, 2008). Parametrik olmayan yöntemler, genelde örneklem genişliği 30'dan az olan veri setlerinde ve parametrik varsayımlarının en az birinin sağlanmadığı durumlarda tercih edilmektedir.

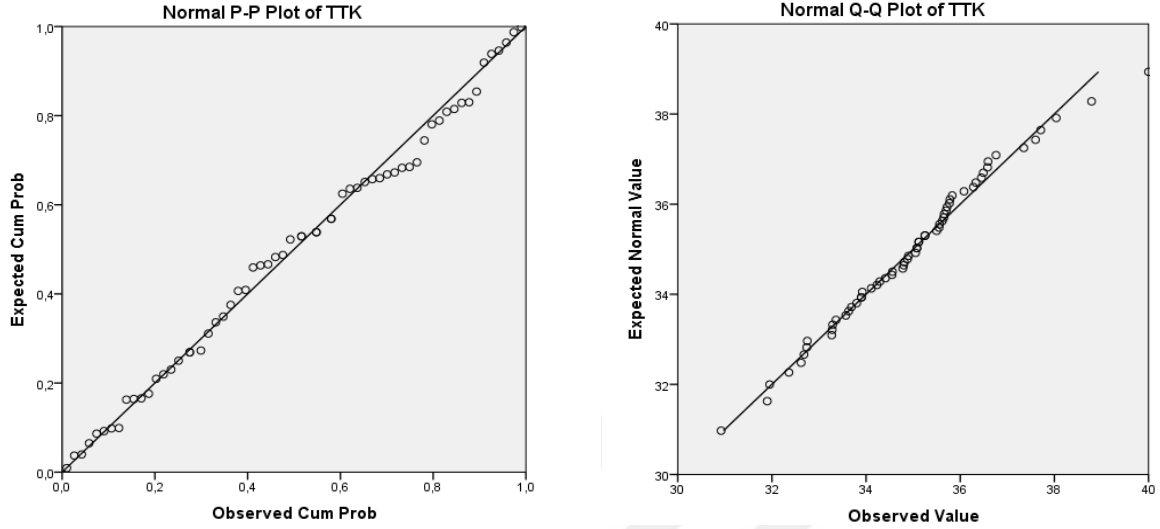
TTK ct değerlerinin normal ve tümörlü dokularda, istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığını ortaya koymak için öncelikle TTK ct değerlerinin normal dağılım gösterip göstermediği belirlenmeye çalışılır. Bu amaçla Kolmogorov-Smirnov testinde " H_{0-a} :TTK ct değerleri normal dağılım gösterdiği görülmüştür." Hipotezin kararına yönelik sonuç tablosu Tablo-2'de verilmiştir.

Tablo 2. TTK ct değerlerinin normallik sınaması.

Kolmogorov-Smirnov	TTK ct
Test İstatistiği	0,08
Sig.	0,20

TTK ct değerlerine ait test istatistik değeri 0,08 olmak üzere Sig. değeri 0,20 olarak elde edilmiştir. Sig.=0,20> 0,05 olduğ için kurulan yokluk hipotezi 0,05 önem düzeyinde reddedilememiştir, yani TTK ct değerleri normal dağılım gösterilmiştir. Normal dağılım grafikleri Şekil 8'de verilmiştir.

Şekil 8. TTK ct değerlerinin normallik sınaması.



TTK gen ekspresyonuna ait değerlerin normal dağılım gösterdiği saptandıktan sonra, gruplara göre varyansların homojenliği Levene testi ile gösterilmiştir. Levene testi sonucunda normal ve tümörlü dokudaki TTK gen ekspresyonu varyanslarının homojen olduğu saptanmış ($F=0,05$, $Sig.=0,82 > 0,05$) ve böylece uygulanacak analizde parametrik yöntem tercih edilmiştir. Normal ve tümörlü dokudaki TTK ct ortalamalarının farklılaşması parametrik bir yöntem olan Bağımsız Örneklem T testi ile belirlenmiştir.

Tablo 3. Normal ve Tümörlü Dokuda TTK Gen Ekspresyonunun Farklılaşması

	Normal	Tümörlü	Fark
1	35,83	35,56	0,27
2	35,65	35,25	0,4
3	36,76	35,12	1,64
4	35,5	36,58	-1,08

5	32,68	35,08	-2,4
6	34,81	40	-5,19
7	35,12	38,04	-2,92
8	33,69	35,72	-2,03
9	34,41	36,49	-2,08
10	35,66	35,77	-0,11
11	35,08	38,79	-3,71
12	35,7	36,08	-0,38
13	31,95	33,92	-1,97
14	33,63	34,78	-1,15
15	36,28	34,29	1,99
16	32,62	35,78	-3,16
17	34,23	36,45	-2,22
18	34,55	34,88	-0,33
19	34,56	34,9	-0,34
20	33,8	35,05	-1,25
21	34,8	35,25	-0,45
22	36,59	33,27	3,32
23	32,36	37,6	-5,24
24	30,92	33,9	-2,98
25	35,55	37,71	-2,16

26	33,29	33,57	-0,28
27	33,28	37,35	-4,07
28	33,36	36,33	-2,97
29	31,9	34,11	-2,21
30	32,74	35,62	-2,88
Ortalama	34,243	35,774	-1,531
Standart			
Sapma	1,5131	1,568	1,983

T=-4,229, Sig.=0,000**

30 hastadan alınan normal ve tümörlü dokuda TTKct değerlerinin farklılaşması bağımsız örneklem t testi ile belirlenmiş ve sonuçlar verilmiştir. Normal dokudan elde edilen 34,243 TTKct ortalaması ile tümörlü dokudan elde edilen 35,774 ortalama TTKct değerleri arasındaki matematiksel fark, 0,01 önem düzeyinde istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur (Sig.=0,00<0,01). Ortalamalar arası fark incelendiğinde, tümörlü dokuya ait TTKct değerlerinin normal dokudaki değerlerden yüksek olduğu saptanmıştır (Tablo.3).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Her beş kişiden biri, hayatının bir döneminde kanserle karşılaşmaktadır (Güran 2005). Birçok yeni tedavi yaklaşımlarına rağmen, halihazırda kanserden ölümler tüm toplumlarda önemli bir halk sağlığı sorunudur. Dünya Sağlık Örgütüne (WHO) göre 2004 yılında 7.4 milyon kişi kanser nedeniyle hayatını kaybetmektedir. Bu rakamın 2030'da 11.8 milyona kadar yükselebileceği ön görülmektedir (World Health Statistics 2008). Erkeklerde en sık akciğer kanseri, kadınlarda ise meme kanseri ilk sırada yer almaktadır (Onur 2005).

Meme kanserleri etyolojisinde; cinsiyet, yaş, ırk, erken menarş, geç menapoz, ilk hamilelik yaşı, genetik yatkınlık değiştirilemeyen; sigara, alkol, obezite, fiziksel inaktivite, hormon replasman tedavisi değiştirilebilen faktörler yer almaktadır. Meme kanseri karakteristik moleküler özellikleri, prognoz ve tedaviye yanıtına göre heterojen gruplar oluşturmaktadır (NCCN 2009).

Özellikle seksenli yıllarda bir çok onkogen ve baskılayıcı genlerin keşfedilmesi ile hastalığın da progresyon ve büyüme faktörüyle steroid düzenleyen yollar arasındaki ilişki aydınlatılmaya başlanmıştır (Dickson vd.2001). Onkogenlerin kanser oluşturmada, ekspresyonda kantitatif değişiklikler veya onkogenin yapısında meydana gelen değişiklikler sebep olabilir. Hücresel onkogenler, büyüme faktörleri ve çeşitli hormon reseptörlerine ait genetik bilgi içerebilir. Bu genetik bilginin aşırı ekspresyonu veya bunu düzenleyen transkripsiyon faktörleri artışı, hücresel mekanizmayı bozarak kanserlerin oluşumuna neden olmaktadır. Meme kanseri ile ilişkili tümör süpresör genler ise, daha çok DNA üzerindeki hasarı ortadan kaldırmak üzere aktifleşmiş genlerdir. Bu genlerdeki hasar, kanser oluşması için her iki alleli kapsamaktadır (Michael vd. 2009).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, hücre döngüsünün düzenlenmesinde meydana gelen hasarların, meme kanseri ve diğer kanserlerin oluşmasındaki önemi vurgulanmıştır. Hücre döngüsü biri G2/M geçişi, bir diğeri S fazına girmeden önceki geç G1 fazının da dahil olduğu nokta ve M kontrol noktası olmak üzere farklı aşamalarda denetlenmektedir. Bu denetim noktalarının her birinde, ilgili proteinlerce döngünün ilerlemesine veya durmasına karar verilmektedir. Bu kararların

verilmesinin kontrolü, hedef proteinleri seçip fosforilize eden bir enzim ailesinden olan protein kinazlar ve hücre döngüsünün işlerliğini kontrol eden siklin proteinleri tarafından yapılmaktadır (Daniel vd. 2011; Andrea vd. 2007). Hücre döngüsünün düzenlenmesinde meydana gelen aksaklıklar, meme kanseri ve diğer kanserlerin oluşmasında başlıca nedenler arasında gösterilmektedir. Meme kanseri hücrelerinde, checkpoint genlerin mRNA transcript seviyesinde yaklaşık 500 kat artış olabileceği literatür de bildirilmektedir (Jewel vd. 2010).

Bir checkpoint gen olan TTK geninin yüksek seviyede ekspresyonu, meme kanseri hücrelerinde anöploidi oluşumuna neden olmaktadır. Ayrıca sentezlenen protein seviyesindeki artışın, agresif tümör fenotipi ile birliktelik gösterdiği belirtilmektedir (Al-Ejeh vd. 2014).

Literatürde, DNA dizilim teknolojisindeki ilerlemelerin, kişiselleştirilmiş meme kanseri tedavisinde kökten değişime yol açacağı belirtilmektedir. Günümüzde meme kanseri alt gruplarını, buna bağlı prognoz ve tedavi alacak hastaları belirlemede kullanılmaya başlanan genetik bilgiler, gelecekte meme kanserli hastalardaki moleküler olarak tarif edilen alt gruplar için hedefe yönelik geliştirilecek ilaçlarla tedaviler gerçekleştirebileceği düşünülmektedir. Artmış TTK gen ekspresyonunun inhibisyonu ile meme kanserinin tedavisi üzerindeki çalışmalar da devam etmektedir.

Meme kanserlerinde normal meme dokusuna göre daha fazla bulunan TTK geni (human protein kinase monopolar spindle 1 geni) çift fonksiyonlu kinaz ailesinden olup serine/threonine ve tirozin kinaz aktivitesi taşımaktadır (Virginie vd. 2013). TTK mRNA seviyesi proliferatif hücrelerde istirahatteki hücrelerden yüksek olup enyüksek ekspresyonu S fazında ve pik değeri G2/M üzerindedir. TTK hücre siklusu ile ilgili pek çok yolda rol oynar. TTK, mitozda sentrozom dublikasyonu, mitotik spindle birleştirme, checkpoint devamlılığı gibi birçok kritik role sahiptir (Fiskvd. 2003; Suzanne vd. 2004).

Goldhirsch ve ark. 2015; Jewel ve ark. 2010 yılında yapılan araştırmalarda artmış TTK gen ekspresyonunun inhibisyonu ile meme kanserinin tedavi edilebileceği yönünde bilgiler içermektedir.

Mohamed ve ark. 2015 yılında, özellikle TTK inhibisyonu tetraploid hücrelerde diploid olanlara göre daha etkili olarak ölüme sebep olduğundan, TTK inhibisyonunun tetraploid kanser hücreleri için tedavi edici yöntem olarak kullanılabilceğini ileri sürmüştür.

Ricardo Martinez; 2015 yılında, TTK gen seviyesinin azaltılmasıyla tümör hücrelerindeki canlılığın normal hücrelere göre nisbeten azaldığı, MCF10A hücrelerinin transfeksiyon yoluyla TTK geninin yapımının uyarılmasıyla, bu hücrelerde büyüme özelliklerinde anlamlı bir etki gözlenmediğini belirtmiştir. Bunun üzerine yüksek TTK gen seviyesinin kanser hücre hemostazisinin sürdürme fonksiyonu olduğu hipotezi ileri sürülmüştür.

Jewel ve arkadaşları 2010 yılında, daha sonra Virginie ve arkadaşları 2013 yılında; TTK seviyesinin yüksekliği ile kanser hücresinin histolojik grade'inin kuvvetli korelasyon göstermekte olup anoploid kanserli hücrelerde en yüksek TTK seviyesi gözlendiğini tespit etmişlerdir. Yüksek seviyedeki TTK gen ekspresyonunun meme kanseri hücrelerinde anoploid oluşumuna aracılık ettiği de belirtilmiştir.

Araştırmamız TTK gen ekspresyon miktarının meme kanserli kadınların normal meme dokusu ile tümörlü dokusu arasındaki miktarını karşılaştırmak amacıyla yapılmıştır. Daha önce yapılan çalışmalarda, TTK gen ekspresyon miktarı tümörlü dokularda bakılmış ve ekspresyon miktarı fazla bulunmuştur. Ama hastanın kendi normal dokusu ile tümörlü dokusu arasındaki TTK gen ekspresyon miktarı farkına bakılmamıştır. Bizde yaptığımız çalışmada hastanın kendi normal meme dokusu ile tümörlü dokusu arasında fark olup olmadığını araştırdık. Çalışmamız, 30 hastadan alınan normal ve tümörlü dokuda TTK ct değerlerinin farklılaşması bağımsız örneklem t testi ile karşılaştırılmıştır. Teste ilişkin yokluk hipotezi “ H_0 : Normal doku ve tümörlü dokuya ait TTK ct değerleri arasında fark yoktur.” şeklindedir. Normal dokudan elde edilen 34,243 TTKct ortalaması ile tümörlü dokudan elde edilen 35,774 ortalama TTK ct değerleri arasındaki matematiksel fark,

0,01 önem düzeyinde istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur (Sig.=0,00<0,01). Ortalamalar arası fark incelendiğinde, tümörlü dokuya ait TTK ct değerlerinin normal dokudaki değerlerden yüksek olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak, meme kanserli hastalarda TTK gen ekspresyonunun, normal dokudan yüksek olduğu saptanmış ve TTK genindeki değişimin meme kanseri etyolojisinde önem arz ettiği kanısına varılmıştır.

Günümüzde kanserin tedavisinde kullanılan diagnostik, paragnostik belirteçlere ek olarak yeni tedavi edici yaklaşımlar için hedef molekül arayışları hızla devam etmektedir. Literatürde, TTK gen ekspresyonu inhibisyonunun kanser tedavisinde kullanılabilirliği üzerine çalışmalar dikkat çekmektedir.

Bizim çalışmamızda ortaya koyduğumuz; meme kanserli dokularda, kendi normal meme dokusuna göre TTK gen ekspresyonu artışı, meme kanseri tedavisinde ortaya konabilecek yeni moleküllerin tespitinde, bir yol gösterici olabilir.

KAYNAKLAR

- Al-Ejeh, F., Simpson, P. T., Sanus, J. M., Klein, K., Kalimutho, M., Shi, W., Reid, L. (2014). Meta-analysis of the global gene expression profile of triple-negative breast cancer identifies genes for the prognostication and treatment of aggressive breast cancer. *Oncogenesis*, 3(4), e100.
- Ay, M., Meme Anatomisi ve Fizyolojisi, <http://www.memesaglik.com/hastalarimiz-icin/meme-anatomisi-fizyolojisi.html>, (10 Aralık 2015)
- Boughey, J.C., et al., Evaluation of the Tyrer-Cuzick (International Breast Cancer Intervention Study) Model For Breast Cancer Risk Prediction in Women With Atypical Hyperplasia. *J Clin Oncol*, 2010, 28(22) 3591-6.
- Cabioğlu N., Memenin Anatomisi ve Fizyolojisi. In: Özmen V, editor. *Türkiye'de Meme Kanseri*. 2012, Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri; p: 3-16.
- Castellano I, Metovic J, Balmativola D, Annaratone L, Rangel N, Vissio E, Arisio R, Macrì L, Pecchioni C, Sarotto I, Montarolo F, Muscarà F, Marchiò C, Cassoni P, Kulka J, Sapino A. *PLoS One*. 2017, Aug 14;12(8):e0182073. doi: 10.1371/journal.pone.0182073. eCollection.
- Çalış, İ.U., Meme Kanserinin Metastazında Sfingozin 1-Fosfat ve Reseptörlerinin Rolü, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir, 2016 (Tez Danışmanı: Doç. Dr. Didem Turgut Coşan).
- D'Andrea, A. D., Cohn, M. A., Kowal, P., Yang, K., Haas, W., Huang, T. T., Gygi, S. P. (2007). A UAF1-containing multisubunit protein complex regulates the Fanconi anemia pathway. *Molecular cell*, 28(5), 786-797.
- Daniel, J., Coulter, J., Woo, J., Wilsbach, K., Gabrielson, E., High Levels Of The Mps1 Checkpoint Protein Are Protective Of Aneuploidy In Breast Cancer Cells. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America*. 2011, 108:5384-5389.
- Dickson, R.B., Lippman, M.E., Editors; Vincent T.DeVita, Jr., Hellman, S., Rosenberg, S.A. *Cancer Principles&Practice of Oncology*, 2001, 6th Edition. Pp:1633,1641, 1688.
- Dorak, M. T. (Ed.). *Real-time PCR* Taylor and Francis, <http://www.dorak.info/genetics/realtime.html>, 2007.
- Fisk, H.A., Mattison, C.P., Winey, M., Human Mps1 Protein Kinase Is Required For Centrosome Duplication And Normal Mitotic Progression. 2003, *Proc Natl Acad Sci, USA* 100:14875, p:80.
- Fraga, D., Meulia, T., and Fenster, S. *Real-Time PCR. Current Protocols Essential Laboratory Techniques*, 2008. 10-3.
- Globocan (World Health Organization) (2012). *Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012. Cancer Fact Sheets*. http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx
- Goldhirsch, A., Winer, E. P., Coates, A. S., Gelber, R. D., Piccart-Gebhart, M., Thürlimann, B., Bergh, J. (2013). Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Annals of oncology*, 24(9), 2206-2223.
- Güran, Ş., *Kanserden Korunma*. 2005, *Gülhane Med J*, 47, ss. 324-326.
- Ha SM, Chae EY, Cha JH, Kim HH, Shin HJ, Choi WJ. *AJR Am J Roentgenol*. 2017 Aug 10;1-9. doi: 10.2214/AJR.16.16957. (Epub ahead of print).
- Hartmann, L. C., Degnim, A. C., Santen, R. J., Dupont, W. D., & Ghosh, K. ., *Atypical Hyperplasia Of The Breast--Risk Assessment And Management Options*. 2015, *N Engl J Med*,. 372(1): pp: 78-89.
- Jewel, D., Coulter, J., Woo, J. H., Wilsbach, K., & Gabrielson, E. (2011). High levels of the Mps1 checkpoint protein are protective of aneuploidy in breast cancer cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(13), 5384-5389.

- Kalaycı, Ş. (2008), SPSS Uygulamalı Çok Değişkenli İstatistik Teknikleri, Asil Yayın Dağıtım, Ankara.
- Kumar, V., Abbas, A.K., Aster, J.C., Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 2014, Professional Edition E-Book, Elsevier Health Sciences.
- Lebeau, A., Kriegsmann, M., Burandt, E., and Sinn, H. P., Invasive Breast Cancer: The Current WHO Classification. *Pathologie*, 2014, 35(1). 7-17.
- London, N., Ceto, S., Ranish, J. A., and Biggins, S. Phosphoregulation of Spc105 by Mps1 and PP1 regulates Bub1 localization to kinetochores. *Current Biology*. 2012, 22(10), pp:900-906.
- Lyu S, Yu Q, Ying G, Wang S, Wang Y, Zhang J, Niu Y. *Int J Oncol*. 2014 Jan;44(1):229-37. doi: 10.3892/ijo.2013.2151. Epub 2013 Oct 25.
- Michael, V.D., Robert, L.S., Marc, F.L. (2009). Aqueous humor dynamics. *Becker-Shaffer's Diagnosis and Therapy of the Glaucomas*, (8th ed). U. S. A.: Mosby Elsevier: 17- 22.
- Mohamed J., Gwenola M., Lledo, G., Delpine L., Reynes, C., Morin, N., Chibon, F. Sistigu, A., Castedo, M., Vitale, I., Kroemer, G., Abrieu, A., Whole-genome duplication increases tumor cell sensitivity to MPS1 inhibition *Oncotarget*, 2015, 7:885-901.
- Montes de Oca R, Gurard-Levin ZA, Berger F, Rehman H, Martel E, Corpet A, de Koning L, Vassias I, Wilson LO, Meseure D, Reyat F, Savignoni A, Asselain B, Sastre-Garau X, Almouzni G. *Mol Oncol*. 2015 Mar;9(3):657-74. doi: 10.1016/j.molonc.2014.11.002. Epub 2014 Nov 20.
- National Comprehensive Cancer Network. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Multiple Myeloma. 2009, <http://www.nccn.org>.
- Onur, H., *Tıbbi Onkoloji Kitabı*. 2005, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Antıp Yayınları, Ed: İçli F. s.247,
- Özmen, V., *Meme Kanseri Risk Faktörleri ve Erken Tanı, Görünüm*, 2014, Türkiye Aile Sağlığı ve Planlama Vakfı.
- Pharoah, P. D., Day, N. E., Duffy, S., Easton, D. F., and Ponder, B. A., Family History And The Risk Of Breast Cancer: A Systematic Review And Meta-Analysis. *Int J Cancer*, 1997, 71(5): pp. 800-9.
- Prodosmo A, Buffone A, Mattioni M, Barnabei A, Persichetti A, De Leo A, Appetecchia M, Nicolussi A, Coppa A, Sciacchitano S, Giordano C, Pinnarò P, Sanguineti G, Strigari L, Alessandrini G, Facciolo F, Cosimelli M, Grazi GL, Corrado G, Vizza E, Giannini G, Soddu S. J Detection of ATM germline variants by the p53 mitotic centrosomal localization test in BRCA1/2-negative patients with early-onset breast cancer. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 35(1), 135.
- Ricardo, S., Cohen-Dvashi, H., Ben-Chetrit, N., Russell, R., Carvalho, S., Lauriola, M., Nisani, S., Köstler, W. (2015). Navigator-3, a modulator of cell migration, may act as a suppressor of breast cancer progression. *EMBO molecular medicine*, e201404134.
- Suzanne V., Susana P., Cyril B., Jean Clude L., Anna C., Thierry C., Kinetochores Localization of Spindle Checkpoint Proteins: Who Controls Whom? *Molecular Biology of the Cell*. 2004, 15, pp:4584-4596.
- Sütçü G.G., *Tanı-Ameliyat Süreci Yakın Zamanlı Olan Meme Kanseri Hastalarının Öfke, Depresyon, Stresle Başa Çıkma ve Sosyal Destek Değişkenleri Açısından İncelenmesi*. Ankara Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Psikoloji Bölümü Uygulamalı Psikoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara. 2010.
- Tavassoli, F. and P. Devilee, *World Health Organization Classification of Tumors, Tumors of the Breast and Female Genital Organs*, Lyon, 2003, France: IARC Press.
- T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Türkiye Kanser İstatistikleri, Ankara, 2016. http://kanser.gov.tr/dosya/ca_istatistik/turkiye_kanser_istatistikleri.pdf (10 Nisan 2017).
- Thakur, S., Grover, R. K., Gupta, S., Yadav, A. K., & Das, B. C. Identification of Specific miRNA Signature in Paired Sera and Tissue Samples of Indian Women with Triple Negative Breast Cancer. *PloS one*, 2016, 11(7), e0158946.

- Thompson, S. L. and Compton, D. A. Proliferation Of Aneuploid Human Cells is Limited By A P53-Dependent Mechanism. *The Journal of cell biology*, 2010. jcb-200905057.
- Thompson, S. L. and Compton, D. A., Examining The Link Between Chromosomal İnstability And Aneuploidy İn Human Cells. *J Cell Biol*, 2008, 180(4), 665-672.
- Virginie M., Celine B., Marion R., Bruno T., Anne V., Salomon, E. G., Berenger, M. De Koning,L., Rigaiil, G., Dumont, A., Gentien, D., Barillot, E., Roman-roman, S., Depil, S., Cruzalegui, F., Pierre, A., Tucker, G.C., Dubois, T., 2013.
- World Health Organization. World health statistics 2008. World Health Organization.
- Yeter, K., Savcı, A., Sayıner, F., Meme Kanserinde Rekonstrüktif Cerrahinin ve Hasta Eğitiminin Yeh, CT, Wu, CH, Yen, GC. *Mol Nutr Food Res*. 2010 Sep; 54(9), pp:1285-95. doi: 10.1002/mnfr.200900414. Erratum in: *Mol Nutr Food Res*.2010 Nov;54(11):1696.
- Yaşam Kalitesine Etkisi. 2009, *Meme Sağlığı Dergisi*,5(2).
- Zhou, W. B., Xue, D. Q., Liu, X. A., Ding, Q., and Wang, S., The influence of family history and histological stratification on breast cancer risk in women with benign breast disease: a meta-analysis. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2011, 137(7): pp: 1053-60.



EKLER



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
Konya İli Kamu Hastaneleri Birliği Genel Sekreterliği
Konya Numune Hastanesi



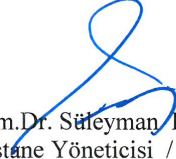
Şube : YAZI İŞLERİ
Sayı : 78025658 / E16001685-294
Konu : Etik Kurul Kararı Gereği

19.02.2016

Sayın Evrim ŞİMŞEK
Biyolog

Hastanemiz Yöneticiliğine vermiş olduğunuz 17.02.2016 tarihli dilekçenizde bahsi geçen "Kanserli hastalarda TTK gen ekspresyonunun miktarına bakmak için 2005-2015 yılları arasında yapılan meme kanseri ameliyatlarının patoloji raporlarının ve profin bloklarını kullanmak isteği" konulu çalışma yapma talebiniz Davranış Etik Kurulunca değerlendirilmiş olup, hasta hakları ihlali olmaması ve çalışma esnasında oluşabilecek masrafların tarafınızca karşılanması kaydıyla çalışma yapmanızda sakınca olmadığına oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinize.


Uzm.Dr. Süleyman DÖNMEZ
Hastane Yöneticisi / Başhekim