

**T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

Tez Yöneticisi  
Doç. Dr. Hakan GÜRKAN

***TNFRSF11A* GENİ VARYASYONLARININ *BRCA1*  
VE/VEYA *BRCA2* MUTASYONU SAPTANAN  
HASTALARDA, MEME KANSERİ GELİŞİM RİSKİ  
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

(Yüksek Lisans Tezi)

**KADER ÖZDEMİR**

EDİRNE – 2018

**T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

Tez Yöneticisi  
Doç. Dr. Hakan GÜRKAN

***TNFRSF11A* GENİ VARYASYONLARININ *BRCA1*  
VE/VEYA *BRCA2* MUTASYONU SAPTANAN  
HASTALARDA, MEME KANSERİ GELİŞİM RİSKİ  
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

(Yüksek Lisans Tezi)

**KADER ÖZDEMİR**

**Destekleyen Kurum :** Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimi

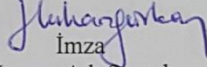
**Proje No :** 2016/252

EDİRNE – 2018

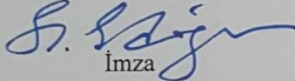
T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

ONAY

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı yüksek lisans çerçevesinde ve Doç. Dr. Hakan GÜRKAN danışmanlığında yüksek lisans öğrencisi Kader ÖZDEMİR tarafından tez başlığı "TNFRSF11A geni varyasyonlarının BRCA1 ve/veya BRCA2 mutasyonu saptanan hastalarda, meme kanseri gelişim riski üzerine etkilerinin araştırılması" olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı **29/06/2018** tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından "**Yüksek Lisans Tezi**" olarak kabul edilmiştir.

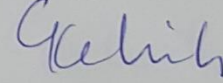


İmza  
Unvanı Adı Soyadı  
Doç. Dr. Hakan GÜRKAN



İmza  
Unvanı Adı Soyadı  
Prof. Dr. Suat ERDOĞAN

İmza  
Unvanı Adı Soyadı  
Doç. Dr. Çiğdem KEKİK



Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Tammam SİPAHİ  
Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Bu günlere gelmemde emeği geçen, maddi ve manevi hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan kıymetli aileme, sevgili arkadaşlarıma, tezimin fikir aşamasından sonuçlanmasına kadar geçen süreçte ilgi ve desteklerini hissettiğim, değerli vakitlerini ve bilimsel desteklerini sunan, tez danışmanım olarak beni yönlendiren sayın hocam Doç. Dr. Hakan GÜRKAN'a, çalışmalarımda benden yardımlarını esirgemeyen sayın hocam Doç. Dr. Hilmi TOZKIR'a, Dr. Öğr. Üyesi Selma DEMİR ve Öğr. Göv. Engin ATLI'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

<b>GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
<b>MEME ANATOMİSİ</b> .....	<b>3</b>
<b>MEME FİZYOLOJİSİ</b> .....	<b>4</b>
<b>MEME KANSERİ VE EPİDEMİYOLOJİSİ</b> .....	<b>5</b>
<b>ETİYOLOJİ VE RİSK FAKTÖRLERİ</b> .....	<b>6</b>
<b>MEME KANSERİNE GENETİK YATKINLIK</b> .....	<b>11</b>
<b><i>BRCA1</i> VE <i>BRCA2</i> MUTASYONLARI NEDENİYLE OLUŞAN AİLESEL MEME KANSERİ</b> .....	<b>14</b>
<b><i>BRCA1</i> VE <i>BRCA2</i> MUTASYON TAŞIYICILARINDA MEME KANSERİ RİSKİNİN GENETİK DÜZENLEYİCİLERİ (MODİFİYE EDİCİ GENLER)</b> .....	<b>18</b>
<b>“TÜMÖR NEKROZ FAKTÖR RESEPTÖR SÜPER AİLE ÜYESİ 11A” (TNFRSF11A, RANK) GENİ</b> .....	<b>21</b>
<b>GEREÇ VE YÖNTEMLER</b> .....	<b>25</b>
<b>BULGULAR</b> .....	<b>30</b>
<b>TARTIŞMA</b> .....	<b>43</b>
<b>SONUÇLAR</b> .....	<b>48</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>50</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>52</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>54</b>
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b> .....	<b>60</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>62</b>
<b>EKLER</b>	

## SİMGE VE KISALTMALAR

**ADH:** Atypical Ductal Hyperplasia

**ALH:** Atypical Lobular Hyperplasia

**AR:** Androgen Receptor

**ATM:** ATM Serine/Threonine Kinase

**ATR:** ATR Serine/Threonine Kinase

**AURKA:** Aurora Kinase A

**BCAC:** The Breast Cancer Association Consortium

**BOADICEA:** Breast and Ovarian Analysis of Disease Incidence and Carrier Estimation Algorithm

**BRCA1:** Breast Cancer Susceptibility gene 1

**BRCA2:** Breast Cancer Susceptibility gene 2

**BRIP1:** *BRCA1* İnteracting Protein C-Terminal Helicase 1

**CAG:** Cytosine Adenine Guanine

**CASP8:** Caspase 8

**CDH1:** Cadherin 1

**CGEMS:** Cancer and Genetics Markers of Susceptibility

**CHEK2:** Checkpoint Kinase 2

**CIMBA:** The Consortium of Investigators of Modifiers of *BRCA1* and *BRCA2*

**DCIS:** Ductal Carcinoma In Situ

**DNA:** Deoxyribonucleic Acid

**EDTA:** Ethylenediamine Tetra Acetic Acid

**FGFR2:** Fibroblast Growth Factor Receptor 2  
**HapMap:** International Haplotype Map Project  
**HNPCC:** Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer  
**HR:** Hazard Ratio  
**LCIS:** Lobular Carcinoma In Situ  
**MAP3K1:** Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase Kinase 1  
**MLH1:** MutL Homolog 1  
**mRNA:** Messenger RNA  
**MSH2:** MutS Homolog 2  
**NBN:** Nibrin  
**NCOA1:** Nuclear Receptor Coactivator 1  
**NCOA3:** Nuclear Receptor Coactivator 3  
**PALB2:** Partner and Localizer of BRCA2  
**PCR:** Polymerase Chain Reaction  
**PGR:** Progesterone Receptor  
**PTEN:** Phosphatase and Tensin Homolog  
**RAD17:** RAD17 Checkpoint Clamp Loader Component  
**RAD50:** RAD50 Double Strand Break Repair Protein  
**RAD51:** RAD51 Recombinase  
**RAD9:** RAD9 Checkpoint Clamp Component  
**RANK:** Receptor Activator of Nuclear Factor  $\kappa$   $\beta$   
**RANKL:** Receptor Activator of Nuclear Factor  $\kappa$   $\beta$  Ligand  
**RR:** Relative Risk  
**SNP:** Single Nucleotide Polymorphism  
**STK11:** Serine/Threonine Kinase 11  
**TDLU:** Terminal Ductal Lobular Unit  
**TGFB1:** Transforming Growth Factor Beta 1  
**TNFRSF11A:** Tumor Necrosis Factor Receptor Superfamily Member 11a  
**TNFSF11:** Tumor Necrosis Factor Superfamily Member 11  
**TOX3:** TOX High Mobility Group Box Family Member 3  
**TP53:** Tumor Protein p53  
**WHI:** Women's Health Initiative

## GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri kadınlarda en sık görülen malignite olup, tüm kanserlerin %22,9'unu oluşturur ve kadınlarda kanserden ölümlerin başlıca nedenlerinden biridir. Meme kanseri etiyolojisini araştıran çalışmalar ile pek çok risk faktörünün katkısı olduğu ortaya konulmuştur. Meme kanseri gelişimi için risk faktörleri literatürde, sentetik cinsiyet steroid hormonları gibi çevresel faktörlere maruz kalma, endojen hormonlar ya da genetik yatkınlık olarak rapor edilmiştir. Özellikle, genetik yatkınlıktan sorumlu olan *BRCA1* ve *BRCA2* genlerindeki patojenik varyasyonlar risk faktörleri olarak en başta gelmektedir. Nitekim meme kanseri vakalarının %3-10'u *BRCA1* ve *BRCA2* germline patojenik varyasyonları ile ilişkili olarak hesaplanmıştır.

*BRCA1* ve *BRCA2* genleri tümör baskılayıcı genlerdir. DNA sentezinde transkripsiyonel regülasyonu sağlayan multiprotein komplekslerinin sentezi ve bazı DNA hasarının özellikle çift sarmal kırıklarının fark edilmesi ve düzeltilmesi ile ilgilidirler. *BRCA1* ve *BRCA2* genlerinin fonksiyonel eksikliğinde (*BRCA1* ve *BRCA2* genlerindeki germline patojenik varyasyonlar ile ilgilidir) DNA onarımı bozulur ve p53-bağımlı DNA yıkım noktası aktif olarak hücre siklusunun apoptozisinin durmasına neden olur (1).



RANK/RANKL osteoklast aktivasyonu ve gelişimi için gereklidir. Aynı zamanda, gebelik sırasında meme bezinin laktasyonunun formasyonu için de temel teşkil ederler. Yapılan çalışmalarda RANK/RANKL'nin, *BRCA1* mutasyon taşıyıcısı olan farelerde meme karsinogenezini önemli düzeyde etkilediğinden dolayı, kalıtsal *BRCA1/2* mutasyonuna sahip kadınlarda meme kanseri riskinin genetik düzenleyicileri olarak RANK'ı kodlayan sorumlu lokusların rolü belirlenmiştir. Sigl ve ark.'ları çalışmalarında, 6 tek nükleotid polimorfizminin *BRCA1* mutasyon taşıyıcılarında, 2 SNP'nin *BRCA2* mutasyon taşıyıcılarında meme kanseri riski ile önemli ölçüde ilişkili olduğu ( $p<0,05$ ) rapor etmişlerdir. Bu nedenle *BRCA1/2* mutasyonu nedeni ile oluşan meme kanserinin etiolojisinde RANK/RANKL'nin bir rolü olabileceği öngörülmektedir (2).

*BRCA1* veya *BRCA2* mutasyonu zemininde gelişmekte olan meme kanserinin RANK/RANKL sinyalleşmesinin bloke edilmesi ile önlenebileceği ve farklı populasyonlarda *BRCA1* ve/veya *BRCA2* patojenik varyasyon taşıyıcısı meme kanseri hastalarında RANK geni varyasyonlarının meme kanseri gelişim riski üzerine etkilerinin araştırılmasının, tedavi protokollerine katkı sağlayacağı öngörüsüyle çalışmamızda Trakya Bölgesi'nde yaşayan, *BRCA1* ve/veya *BRCA2* patojenik varyasyonu saptanan meme kanserli olgularda, *TNFRSF11A* geni rs9646629, rs4485469, rs34739845, rs4941129, rs17069904, rs884205 SNP'lerinin meme kanseri gelişim riski üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

## **GENEL BİLGİLER**

### **MEME ANATOMİSİ**

Meme dokusu hem erkeklerde hem kadınlarda olmasına rağmen meme bezleri sadece kadınlarda doğum sonrası dönemde fonksiyonel olmakta ve süt bezlerinden yenidoğan bebeği beslemeye yönelik süt salgılanmaktadır (3).

Meme ön göğüs duvarında 2. interkostal ile 6. interkostal aralıklar arasında, medialde sternum, lateral kenar ile lateralde ön aksiller çizgi arasında koltuk altına (aksillaya) doğru uzantısı (Spence'in aksiller kuyruğu) olan, kendisini çevreleyen deri ile pektoralis major kası ve bu kasın fasyası arasında yerleşmiş bir bezdir.

İnsanlarda meme dokusu, meme bezleri, yağ ve bağ dokusundan oluşmaktadır. Her meme, her birinde birçok lobül bulunan 15-20 lobtan oluşmaktadır. Bu lobların kanalları meme başına açılırlar. Her kanal 20-40 lobülden oluşan lobu drene eder. Memenin apeksindeki meme başını çevreleyen pigmentli alana areola adı verilir (4). Şekil 1'de meme bezi anatomik yapısı gösterilmiştir (5).

1- Göğüs duvarı

2- Pektoral kas

3- Lobüller

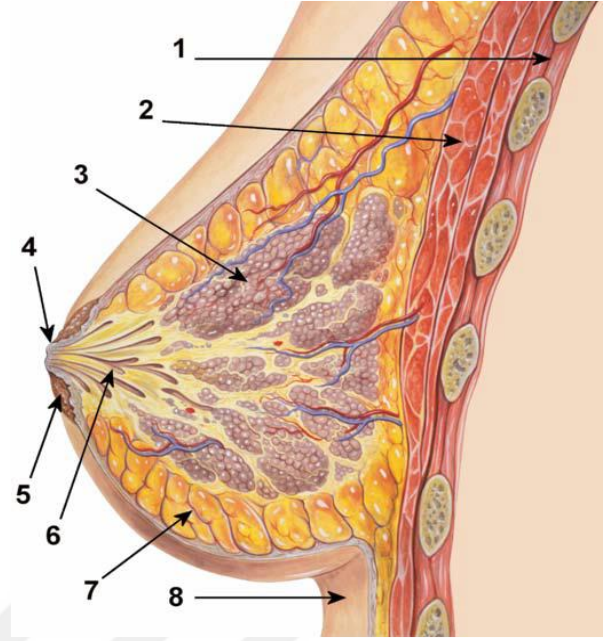
4- Meme başı

5- Areola

6- Laktiferöz kanal

7- Yağ dokusu

8- Cilt



Şekil 1. Meme bezi anatomik yapısı (5)

## MEME FİZYOLOJİSİ

Memenin gelişimi ve fonksiyonu birçok hormonun etkisi ile olur. Bu hormonların salgısı hipofiz, hipotalamus ve overlerin nörohumoral kontrolündedir.

Östrojen, kız çocuklarında meme de dahil olmak üzere sekonder seks karakterlerinin gelişimini hızlandırır. Östrojenin meme üzerine etkileri; stromal dokunun gelişimi, duktal sistemin gelişimi ve yağ depolamadır. Östrojen, memedeki prolaktin reseptörlerinin yoğunluğunu da kontrol eder. Ayrıca erişkin kadınlardaki meme yapısının bilinen şeklini alması, yine östrojenin etkisi ile meydana gelir.

Progesteron, uterusu embriyo ve fetusun kabul edilmesi için hazırlarken memeyi de laktasyona hazırlar. Progesteron, prolaktin ile birlikte epitel hücrelerinin farklılaşmasında, lobulus ve alveolus'ların gelişmesinde etkilidir. Ayrıca progesteron, östrojen reseptörlerinin sentezini uyarır ve laktasyonu inhibe eder (6).

Over kaynaklı olmayan prolaktin ve oksitosin gibi nöroendokrin hormonlar da meme fonksiyonu için önemlidir. Ön hipofizden salgılanan bir polipeptid olan prolaktin, hem meme bezlerinin büyüme ve gelişmesini artırır hem de sütün sentez ve sekresyonunu sağlayarak laktasyonun gerçekleşmesinde en önemli hormondur (7). Hipotalamusta sentezlenen ve arka

hipofizden salgılanan oksitosin, doğum esnasında uterus kontraksiyonlarını uyarır ve memedeki miyoepitelyal hücrelere etki ederek sütün alveollerden laktifer kanallarına enjeksiyonunu sağlar (8).

Bunların dışında büyüme hormonu, kortizol, tiroid hormonu ve androjenler gibi birçok başka hormon meme dokusunun gelişimi ve fonksiyonlarında önemli rol oynamaktadır (9).

## **MEME KANSERİ VE EPİDEMİYOLOJİSİ**

Meme, kadınlarda süt üretimi için düzenlenmiş, farklılaşmış duktuslar (kanallar) ve lobüllerden (süt bezleri) oluşan tubulo-alveolar bir ter bezidir. Meme kanseri, meme dokusunda bulunan bu duktus (kanal) ve lobülleri (süt bezleri) döşeyen epitelyal hücrelerin kontrolsüz çoğalmaları sonucu oluşan malign dönüşümdür (10).

Kadınlarda görülen en yaygın kanser türü olmakla beraber; akciğer kanserinden sonra kanserden ölümün en sık ikinci nedenidir (11). Kadınlardaki kanserlerin tümünün %23'ünden ve kanserle ilişkili ölümlerin %14'ünden sorumludur (12). Her 8 kadından birinin yaşamı boyunca meme kanserine yakalanacağı bildirilmektedir (13).

Erkeklerde kadınlardan 100 kat daha az sıklıkta görülmekte ve kadınlarda görülen meme kanserine benzer özellikler göstermektedir. Meme kanserinin erkeklerde yaşam süresince ortaya çıkma riski 1/1000'dir (11).

Erken tanı ve tedavi yöntemlerindeki gelişmeler sayesinde meme kanseri görülme sıklığında artış olmasına rağmen, mortalite oranlarında düşüş görülmektedir (14). Bu sayede, özellikle gelişmiş ülkelerde yapılan mamografi ile tarama çalışmaları sonucunda, 50 yaş üzeri kadınlarda meme kanseri mortalitesinde %35'e varan azalma saptanmıştır. Mortalitedeki bu azalma tümörlerin daha küçük boyutlarda iken tespit edilmesi ve in situ dönemde tanı konulan hasta sayısının artması ile ilgilidir (15). Sağlık Bakanlığı'nın verileri incelendiğinde ülkemizde meme kanseri insidansının kadınlarda %35 oranında olduğu görülmektedir (16).

Tüm dünyada çeşitli ülkeler arasında meme kanseri insidansı açısından 10 katlık bir farklılık vardır. Daha az gelişmiş ülkelerde yaşayan kadınlarda meme kanseri insidansı gelişmiş ülkelerde yaşayanlara göre daha düşük olma eğilimindedir, ancak Japonya bir istisnadır. Japonya'nın meme kanseri insidansındaki artış; ekonomisindeki batı tarzı gelişim, yaşam tarzı ve doğurganlığının batıya benzemesi nedeniyle olmaktadır (17).

Benzer şekilde, veriler incelendiğinde ülkemizin batısında meme kanseri insidansının doğusuna oranla yaklaşık 2 kat fazla olduğu görülmektedir. Aradaki farkın, ülkemizin batı bölgelerindeki yaşam tarzının, sosyoekonomik düzeyin batı toplumlarındaki ile benzerliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir (18).

Sonuçta meme kanseri insidansındaki artışın nedenleri; meme kanseri olgularının yaklaşık %50'sinde tanımlı olan, azalan doğurganlık, geç doğum yapma, fiziksel aktivite azlığı, geç menopoz, erken menarş ile ilişkilendirilen beslenme alışkanlığı gibi risk faktörleri olarak düşünülmektedir (19).

## ETİYOLOJİ VE RİSK FAKTÖRLERİ

Meme kanseri, oluşum nedeni henüz bilinmeyen fakat hormonal, çevresel, genetik, sosyobiyojik ve psikolojik faktörlerin etkileşimi sonucu gelişen, klinik ve biyolojik olarak oldukça heterojen bir kanser türüdür (20). Pek çok faktörün meme kanseri riskini artırdığı bilinmektedir. Kadınlarda, ailede meme kanseri öyküsü, ileri yaş, memede proliferatif lezyon varlığı, erken menarş (<12 yaş) ve geç menopoz (>55 yaş), radyasyon maruziyeti, kısa menstruel siklus süresi, dietilstilbestrol maruziyeti, menopoz sonrası hormon tedavisi, nulliparite (hiç doğum yapmama), ilk gebeliğin 30 yaşından sonra olması ve obezite en önemli risk faktörleridir. Erkeklerde meme kanseri için risk faktörleri; ileri yaş, Klinefelter sendromu, karaciğer hastalığı, aile öyküsü, alkol kullanımı, radyasyon maruziyeti, östrojen tedavisi, orşiektomi öyküsü ve obezite olarak bildirilmektedir (11).

**Demografik Özellikler:** Cinsiyetin kadın olması en büyük risk faktörüdür ve bu 100 kat artmış riski ifade eder. Cinsiyetin kadın olması kadar yaşın ilerlemesi de en önemli risk faktörlerinden biridir. Bir kadının hayat boyu riski günümüzde, non invazif meme kanseri açısından 6'da 1 ve invazif meme kanseri açısından 8'de 1'dir. Bu riskin ortaya çıkmasında yaşın ilerlemesi en önemli rolü oynar.

Meme kanseri ile ilgili önemli paradokslardan bir tanesi de beyaz kadınlarda görülme sıklığının zenci kadınlara oranla %20 daha fazla olmasıdır. Fakat mortalite oranları zenci ırkında daha fazladır. Bu etnik farklılıkların yaşam tarzı ve sosyoekonomik durumdan kaynaklandığı düşünülmektedir (17).

Sağlık Bakanlığı ve Meme Hastalıkları Dernekleri Federasyonu'nun verileri incelendiğinde de Türkiye'nin batısında meme kanseri insidansının doğusuna oranla yaklaşık 2 kat fazla olduğu görülmektedir. Aradaki sıklık farkının, ülkemizin batı bölgelerindeki yaşam tarzının batı toplumlarındaki ile benzerliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir (18).

**Reproduktif Öykü:** Östrojene maruz kalınan sürede artış olması, meme kanseri gelişme riskinde artışla ilişkilidir (erken menarş [ $<12$  yaş], geç menopoz [ $>55$  yaş]); östrojene maruz kalınan sürenin azalmasının ise meme kanseri gelişme riskine karşı koruyucu olduğu düşünülmektedir (21). Tam dönem gebelikle ilişkili olan meme epitelinin terminal diferansiasyonu da koruyucudur, dolayısıyla hiç doğum yapmamış olmak ve ilk canlı doğumun ileri yaşta yapılması meme kanseri riskinde artışla ilişkilidir. Hiç doğum yapmamış olma (nulliparite) meme kanseri riskinde artışa neden olur (17). Birden çok doğum yapmış olmanın (multiparite) meme kanserine karşı koruyucu etkisi ise tartışmalıdır.

İnfertilitenin meme kanseri riskini azalttığı yönündeki veriler ve infertilite tedavisinin meme kanseri riskini ne yönde etkilediği çelişkilidir (22).

Spontan veya indüklenmiş düşük yapmanın meme kanseri ile bir ilişkisi henüz gösterilememiştir (23).

Laktasyonun meme kanseri riskini azaltıcı etkisi vardır. Karşılaştırma yapıldığında, hiç emzirmeyen kadınlara göre emziren kadınlarda meme kanseri riski oldukça düşmektedir. Bu etkinin beklendiği üzere özellikle premenopozal kadınlarda daha belirgin olduğu görülmektedir (17).

**Ailesel/Genetik Risk Faktörleri:** Yapılan birçok araştırmanın sonucu, aile öyküsü varlığının meme kanseri açısından önemli bir risk faktörü olduğunu göstermiştir (24). Yalnızca meme kanseri ile ilgili yapılan araştırmalar değil, farklı kanserlerde yapılan aile çalışmaları da; etkilenmiş olan hasta bireyin birinci ve ikinci derece yakınlarında kanser riskinin normal popülasyona göre artmış olduğunu göstermektedir (17). Bir bireyin sadece bir tane birinci derece akrabasında meme kanseri olması, meme kanseri riskini 1.80 kat artırır. İki tane birinci derece akrabasında meme kanseri olması durumunda ise bu risk 2.9 kat artar. 60 yaşından sonra meme kanseri tanısı konulan akrabada, 30 yaşından önce tanı konulan akrabaya göre risk daha az artar (25).

Genel popülasyon riski %10-12 olan meme kanserinde bilinen risk faktörlerinin yanı sıra yüksek ve düşük penetranslı genler, modifiye edici genler ile epigenetik faktörlerin de önem taşıdığı bilinmektedir (17). Meme kanseri olgularının %5-10'u aile öyküsü ile ilgilidir (26). Tıbbi/cerrahi öykü, yaş, aile öyküsü risk faktörleri önem taşımakta ve kalıtsal meme kanseri özelliklerini oluşturmaktadır (11). Moleküler genetik alanındaki gelişmelerle, kansere yatkınlığın kalıtılmasına yol açan çeşitli genler tanımlanmıştır. Bu genlere ait mutasyonları taşıyan bireylerin/ailelerin yüksek kanser riski taşıdığı bilinmektedir. Kalıtsal meme kanseri ile ilişkili bu genler içinde en önemlileri *BRCA1/BRCA2* (HBOC, Hereditary Breast and Ovarian Cancer sendromundan sorumlu), *TP53* (Li-Fraumeni sendromundan sorumlu), *ATM* (Ataxia Telangiectasia sendromundan sorumlu) ve *PTEN* (Cowden sendromundan sorumlu) genleridir (27).

### **Çevresel Faktörler**

Sosyoekonomik düzey: Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, yüksek sosyoekonomik düzeyin meme kanseri gelişimi açısından artmış riski ifade ettiğini göstermektedir (28). Fakat bu durum bağımsız bir risk faktörü olarak değerlendirilmez; reproduktif (menarş yaşı, ilk tam dönem hamilelik yaşı, doğum yapma ve sayısı, laktasyon, menopoz yaşı, infertilite, düşük yapma) alışkanlıklardaki değişiklikler nedeniyle de ortaya çıktığı düşünülür (17).

Radyasyona maruz kalma: Memenin aktif olarak geliştiği dönemde (özellikle 10-14 yaş arasında), radyasyona maruz kalma meme kanseri riskini artırmaktadır. 30 yaşına kadar toraks bölgesine yapılan terapötik radyoterapi işlemi de aynı şekilde meme kanseri riskini artırmaktadır (29).

Tanısal amaçla yapılan işlemler sırasında radyasyona maruz kalmanın ise meme kanseri riski ile ilişkisi tartışmalıdır. Bu risk, genetik geçiş riski olanlar dışında dikkate alınmayacak kadar düşük olarak kabul edilir (30).

Hormon replasman tedavisi ve oral kontraseptif kullanımı: Hem Kadın Sağlığı Girişimi (WHI) hem de Bir Milyon Kadın Çalışması'nda, hormon replasman tedavisi alan kadınlarda, meme kanserine yakalanma riskinin arttığı ortaya konmuştur (31,32). Özellikle östrojen ve progesteron içeren hormon tedavisi, meme kanserine yakalanma riskini %25'e kadar artırmaktadır. Risk, ilacın alınma süresi ile doğru orantılı olarak artar (33).

Epidemiyolojik çalışmalarda oral kontraseptif kullanımı ile meme kanseri riski arasında bir ilişki gösterilememiştir (34).

Alkol kullanımı: Alkol tüketmek serum östradiol düzeylerini yükseltmektedir. Araştırmalar tüketilen alkolün miktar ve süresinin de meme kanseri riskinde artışla ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Az miktarda alkol tüketmek riski artırmamaktadır ancak alınan miktar arttıkça riskin de arttığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (35).

Egzersiz: Fiziksel aktivitede artış (özellikle premenopozal kadınlarda) meme kanseri riskinde azalma ile ilişkilidir. Düzenli egzersiz yapan kadınların fiziksel aktivitesi az olan kadınlara göre meme kanseri riskinin daha düşük olduğu belirtilmiştir (36).

Beslenme alışkanlığı: Yağ içeriği bakımından zengin yiyeceklerin de uzun süreli tüketimi tıpkı alkol kullanımında olduğu gibi serum östrojen düzeylerini yükselterek meme kanseri riskinde artışa katkıda bulunduğunu düşündüren bazı çalışma sonuçları vardır. Fakat bu konu ile ilgili yapılan çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Bazı çalışmalar haftada 5 defa kırmızı et yenilmesi ile meme kanseri riskinde artış olduğunu göstermiştir (37).

Epidemiyolojik çalışmalar, D vitamininin meme kanserine karşı koruyucu bir rolü olabileceğini ortaya koymuştur (38). Antioksidan (E, C vitamini veya beta-karoten gibi) alımının meme kanseri riskine etki ettiği yönünde güçlü bir kanıt olmamasıyla birlikte (39); A vitamini hakkındaki veriler tartışmalıdır. Düşük selenyum düzeyinin meme kanseri riskini arttırdığı bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Ancak yüksek selenyum düzeyinin meme kanserine karşı koruyucu etkisi gösterilememiştir (40).

Yapılan çalışmalarda kafeinli veya kafeinsiz kahve ve çay tüketimi ile meme kanseri riski arasında anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir. Kafein içeren içeceklerin daha yüksek tüketiminin postmenopozal meme kanseri riskini hafifçe düşürebileceği fakat bu ilişkinin daha fazla incelenmesi gerektiği vurgulanmaktadır (41).

Sigara ile meme kanseri riski arasındaki ilişki çelişkilidir. Çünkü yapılan çalışmalarda çok değişik sonuçlar rapor edilmiştir. Sigaranın meme kanseri riskini, eşlik eden bazı diğer faktörlerle birlikte arttırdığı düşünülmektedir (42).



## Diğer Faktörler

Vücut kitle indeksi: Postmenopozal meme kanseri aşırı kilolu veya obez kadınlarda daha sık görülmektedir (43). Özellikle menopoz sonrasında vücut kitle indeksi 30'un üzerinde olan kadınlarda meme kanseri riski zayıf kadınlara göre daha fazladır. Bu nedenle menopoz sonrası kadınlarda aşırı kilo meme kanseri riskini arttırdığı bildirilmiştir. Hormon replasman tedavisi kullanmayan postmenopozal kadınlar menopozdan sonra kilo verirse ( $10 \geq$ ), kilo vermeyenlere oranla daha az risk taşırlar (44). Premenopozal aşırı kilolu kadınlarda ise risk aşırı kilolu olmayan kadınlara oranla daha düşüktür (43).

Dens meme yapısı (yoğun meme dokusu): Yoğun meme dokusuna sahip olmak meme kanseri riskini arttırmaktadır (45). Kendi yaş grubuna kıyasla meme dokusu yoğunluğu fazla olan kadınların meme kanseri riskinin normal meme dokusu yoğunluğuna sahip olan kadınlara göre arttığı düşünülmektedir (46). Mamografik açıdan bu meme yapısına sahip kadınlarda riskin 4-5 kat artmış olduğu düşünülür (45). Genç kadınlarda meme dokusu doğal olarak yoğundur. Dolayısıyla bu durum değerlendirilirken kişinin yaş grubu göz önüne alınarak yoğunluk artışı doğru bir şekilde yorumlanmalıdır (47).

Kişisel meme kanseri öyküsü: İnvaziv veya in situ meme kanseri öyküsü bulunan hastaların diğer memesinde invaziv kanser gelişme riski normal popülasyona göre daha fazladır (17,48). İn situ lezyonlarda diğer memede invaziv meme kanseri gelişme riski 10 yılda %5'dir (48). İnvaziv meme kanseri olan premenopozal kadınların diğer memesinde meme kanseri gelişme riski yıllık %1 artarken, invaziv meme kanseri olan postmenopozal kadınlarda ise yıllık %0.5 artar. Geçmişte, meme biyopsisinde lobüler karsinoma in situ (LCIS) saptanmış kişinin her iki memesinde meme kanseri gelişme riski genel popülasyona göre yaklaşık 10 kat artar (49).

Proliferatif meme lezyonları (Atipi içeren ve içermeyen): Daha önce saptanan benign meme lezyonları meme kanseri gelişim riskini arttırabilmektedir (50). Özellikle hücresel atipi içeren proliferatif lezyonlar invaziv ve invaziv olmayan meme kanserleri için önemli risk faktörleridir. Atipi içermeyen proliferatif lezyonlarda (intraduktal papillom, kompleks fibroadenom, florid hiperplazi veya moderate, sklerozan adenozis) çok az bir risk varken; atipi içeren proliferatif lezyonlarda (atipik duktal hiperplazi, atipik lobüler hiperplazi) daha yüksek bir risk vardır. Risk, atipi multifokalde ise 10 misli artar (51).

Son yıllarda kolumnar hücre değişiklikleri olası bir risk faktörü olarak ortaya çıkmıştır. Terminal duktus-lobüler ünitisi (TDLU) döşeyen hücrelerin silindirik şekil alması, kolumnar hücre değişikliği anlamına gelir. Bu durum 35-50 yaşları arasındaki premenopozal kadınlarda ortaya çıkar. Hücresel ve yapısal atipi gösteren kolumnar lezyonların duktal karsinoma in situ (DCIS) ve invaziv kanser gelişimi açısından risk faktörü olabileceği düşünülmektedir (52).

Atipik duktal hiperplazi veya atipik lobüler hiperplazi (ADH ve ALH) tanısı konulan kadınlarda meme kanseri gelişme riski 4-5 kat artar (51). ADH ya da ALH saptanması riski 4-5 kat arttırırken, lezyon saptanan kişinin yaşının küçük olması ve başka belirtilerin varlığı riski 10 kat arttırır (51).

### **MEME KANSERİNE GENETİK YATKINLIK**

Meme kanseri çok sayıda değişken tarafından kontrol edilen karmaşık bir hastalıktır. Yaş, parite (bir kadının toplam gebelik sayısı), hormon replasman tedavisinin kullanımı, radyasyona maruz kalma, alkol tüketimi ve obezite gibi faktörlere ek olarak, bireyin genetik altyapısı hem tümörögeneze hem de metastaza duyarlılığa önemli katkıda bulunur. Meme kanseri vakalarının yaklaşık %10-25'inde aileler kümelenmektedir ve insan popülasyonunda bir dizi duyarlılık geni tespit edilmiştir. Kalıtsal meme ve yumurtalık kanseri yatkınlığı olan ailelerin analizi, ilk iki meme kanseri duyarlılık geni olan “Breast Cancer Susceptibility gene 1” (*BRCA1*) ve “Breast Cancer Susceptibility gene 2” (*BRCA2*)'nin 17q ve 13q kromozomları ile bağlantılı olduğunu ortaya koymuştur. Bu genlerdeki germline patojenik varyasyonlar ailesel meme kanserlerinin yaklaşık %10-25'inde bulunur ve öngörülen yaşam boyu riski %85'e yaklaşan aşırı penetrant bir kanser yatkınlığı sağlar (53).

Ayrıca meme kanseri riskindeki artış, Li-Fraumeni, Cowden's, Ataxia Telangiectasia ve Peutz-Jeghers sendromları dahil olmak üzere diğer organlarda kanser yatkınlığını etkileyen kalıtsal sendromlarla da ilişkilendirilmiştir (27).

“Tumor Protein p53” (*TP53*) geni, p53 proteinini kodlayan, hücre döngüsünün durdurulmasından ve apoptotik ölümden sorumlu, tümör baskılayıcı bir gendir. *TP53* mutasyonları, premenopozal meme kanseri, çocukluk çağı sarkomları, beyin tümörü, lösemi, adrenokortikal karsinom ve akciğer kanseri vs. ile ilişkili kalıtsal bir kanser sendromu olan, otozomal dominant kalıtılan Li-Fraumeni sendromunda rol oynar (54).

“Phosphatase and Tensin Homolog” (*PTEN*) geni, tümör baskılayıcı bir gendir ve hücre çoğalmasının düzenlenmesinde rol oynamaktadır. *PTEN*'in somatik mutasyonları, çeşitli kanserlerde saptanırken, germline *PTEN* mutasyonları, birden fazla organda hamartomlarla ilişkili otozomal dominant kalıtılan bir hastalık olan Cowden Sendromu'nda tespit edilmiştir ve ömür boyu meme kanseri riski yaklaşık %25-50'dir. *PTEN* ekspresyon kaybının ardından ikincil olarak *TP53*'ün de işlevini yitirmesi, *BRCA1* ile ilişkili onkogeneizde rol oynamaktadır (55).

“ATM Serine/Threonine Kinase” (*ATM*) geni tarafından kodlanan protein, “PI3/PI4-Kinase Family” (PI3/PI4-kinaz ailesi)'ne aittir. Bu protein, fosforillenen önemli bir hücre döngüsü kontrol noktası kinazıdır; bu nedenle, *p53* ve *BRCA1* tümör süpresör proteinleri, kontrol noktası kinazı “Checkpoint Kinase 2” (*CHEK2*), kontrol noktası proteinleri “*RAD17* Checkpoint Clamp Loader Component” (*RAD17*) ve “*RAD9* Checkpoint Clamp Component” (*RAD9*) ve “Deoksiribonükleik Asit” (DNA) onarım proteini “Nibrin” (*NBN*, *NBS1*) de dahil olmak üzere çok çeşitli proteinlerin düzenleyicisi olarak işlev görür. Bu protein ve yakından ilişkili olan kinaz “ATR Serine/Threonine Kinase” (*ATR*)'nin, DNA hasarına karşı hücre yanıtının ve genom kararlılığı için gerekli hücre döngüsü kontrol noktası sinyal yollarının ana denetleyicileri olduğu düşünülmektedir. Bu gendeki mutasyonlar, otozomal resesif geçişli bozukluk olan Ataxia Telangiectasia ile ilişkilidir (56). Ataxia Telangiectasia, serebellar ataksi, progressif nörolojik bozukluklar, okülokutanöz telanjiektazi, radyasyona duyarlılık ve artmış kanser riski ile ilişkilidir. *ATM* geninde heterozigot mutasyon taşıyan bir kadında Ataxia Telangiectasia fenotipi bulunmadığı halde, meme kanserine karşı iki kat daha yüksek risk söz konusudur. Ataxia Telangiectasia olan hastaların akrabaları takip edilerek, *ATM* mutasyon taşıyıcılarının meme kanseri geliştirme riskinin iki ila beş kat arttığı saptanmıştır (57).

Meme kanseri riskini arttıran diğer bir gen ise, serin/treonin kinaz ailesinin bir üyesini kodlayan “Serine/Threonine Kinase 11” (*STK11*, *LKB1*) genidir. Bu gen hücre polaritesini düzenler ve bir tümör baskılayıcı olarak işlev görür. *STK11*'deki germline mutasyonları, akciğer, kolon, mide ve diğer tümörlerle ilişkili otozomal dominant kalıtılan başka bir kalıtsal kanser sendromu olan Peutz-Jeghers Sendromlu hastalarda tanımlanmıştır. Peutz Jeghers Sendromlu kişilerde meme kanseri gelişme riski %29-50'dir (58). Germline *TP53*, *PTEN*, *ATM* ve *STK11* mutasyonları oldukça penetrant olmasına rağmen nispeten nadirdirler ve ailesel meme kanserlerinin %1'den azına katkıda bulunurlar.

Benzer şekilde, “Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer” (*HNPCC*) ile sıklıkla ilişkili olan, DNA yanlış eşleşme onarımında rol oynayan “MutL Homolog 1” (*MLH1*) veya “MutS Homolog 2” (*MSH2*) genlerindeki mutasyonlar, meme kanseri riskinde 2-3 kat artma ile ilişkilidir. DNA’da oluşan çift zincir kırıklarına cevapta *ATM* tarafından aktifleştirilen hücre döngüsünün kontrolünde ve DNA onarımında görev alan *CHEK2* geni, *BRCA1* genini fosforile eder ve dolayısıyla DNA onarımını etkiler. 1100delC *CHEK2* mutasyonu, *BRCA1* ve *BRCA2* negatif olan Li-Fraumeni Sendromuna sahip kalıtsal meme kanseri aileleri arasında meme kanseri riskini yaklaşık 2-3 kat arttırmaktadır. Diğer *CHEK2* gen mutasyonları ise meme kanserinin kalıtsallığı ile ilişkilidir ve *CHEK2* düşük penetranslı duyarlılık geni olarak tanımlanmıştır (54). Bunlar dışında “Cadherin 1” (*CDH1*), “*BRCA1* İnteracting Protein C-Terminal Helicase 1” (*BRIPI*), “Partner and Localizer of *BRCA2*” (*PALB2*), *NBS1* ve “*RAD50* Double Strand Break Repair Protein” (*RAD50*)’de meme kanserinde genetik yatkınlıkla ilişkili genlerdir.

Uluslararası Haplotip Haritası Projesi (HapMap), tek nükleotid polimorfizm (SNP) harita verilerini ve genom boyu ilişkilendirme çalışmalarını kullanarak, kalıtsal kanser sendromları ile ilişkili olanlara ek olarak, birkaç düşük penetranslı duyarlılık geni tanımlamıştır. Meme Kanseri İlişki Konsorsiyumu (BCAC) tarafından, “Caspase 8” (*CASP8*), “Transforming Growth Factor Beta 1” (*TGFBI*) ve “Progesterone Receptor” (*PGR*) genlerindeki SNP’lerin meme kanseri riski ile önemli ölçüde ilişkili olduğu bildirilmiştir (59). Genom boyu ilişkilendirme çalışmaları, “Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase Kinase 1” (*MAP3K1*) ve “Fibroblast Growth Factor Receptor 2” (*FGFR2*) de dahil olmak üzere, ilgili aday genleri içeren, kabul edilebilir ek 6 yatkınlık lokusunu tespit etmiştir (60).

Major duyarlılık genleri *BRCA1* ve *BRCA2*, bilinen düşük penetrans duyarlılığına sahip birkaç gen ile kombine edildiğinde kalıtsal meme kanseri riskinin yaklaşık %25-30’unu oluşturmaktadır. Bu nedenle, genetik yatkınlık faktörlerinin çoğunluğu henüz tespit edilmemiştir. Genellikle, herhangi bir ek yüksek penetrans geninin bulunması düşük ihtimal olarak kabul edilir. Bunun yerine, yüksek penetrasyon riskinin, çoklu düşük penetranslı allellerin sinerjisinden kaynaklanabileceği poligenik bir model önerilmiştir. Ne yazık ki, yeni allelleri belirlemek ve insan popülasyonu boyunca böyle çoklu gen etkileşimiyle ilişkili riskleri saptamak, günümüzde mevcut teknolojiler ile zaman alıcı ve pahalıdır. Bu nedenle, anatomik genetik polimorfizmlerin meme tümör oluşumu ve metastazdaki rolünü araştırmak için fare modellerine yönelinmiştir (61).

## **BRCA1 VE BRCA2 MUTASYONLARI NEDENİYLE OLUŞAN AİLESEL MEME KANSERİ**

Sık görülen insan hastalıklarının çoğunda kalıtımın rölü vardır. Kanserde dahil olmak üzere bu hastalıklar, kişilerin yaşamlarında morbidite veya erken mortaliteye neden olur. Bu hastalıklar bazı ailelerde tek bir gendeki bir mutasyon nedeniyle oluşsalar da genel olarak tek gen hastalıkları değildir. Aksine bu hastalıklar bir ya da daha fazla lokustaki genotipi ve hastalık sürecini tetikleyen, hızlandıran, alevlendiren çeşitli çevresel etkileri içeren bir dizi yatkınlık faktörü arasındaki karmaşık etkileşimlerin sonucudur. Bu durumda ailelerde hastalık oluşumu basit mendelyen kalıtım şekillerinden birine uymaz; bunun yerine karmaşık veya multifaktöriyel bir kalıtım şeklini izlediği söylenir.

Meme kanserlerinin bir kısmının poligenik veya multifaktöriyel kalıtımın bir parçası olarak belirli komponentleri olmasına rağmen, olguların az bir kısmı meme kanserine dominant kalıtmı mendelyen yatkınlık gösterirler. Bu aileler sporadik olmayıp, ailesel kanserlerin özelliklerini taşırlar: ailede birden fazla etkilenen birey, erken başlangıç yaşı ve bilateral tutulum gibi (62).

Ailesel meme kanseri (yani, aile öyküsü pozitif meme kanseri) tüm meme kanseri vakalarının %20-30'unu oluşturmaktadır. Sağlıklı kadınların %15'i, en az bir tane meme kanserli birinci dereceden akrabaya sahiptir ve deneysel veriler bu kadınlarda meme kanseri gelişme riskinin iki kat fazla olduğunu göstermektedir. Meme kanseri olgularının %5 ila %10'unun kalıtsal yatkınlık (ailesel meme kanseri) ile ilgili olduğu tahmin edilmektedir (63).

Meme kanseri oluşumuna çok sayıda gen katılır ancak kalıtsal meme kanserlerinden sorumlu olarak özellikle genom devamlılığının koruyuculuğunda görevli proteinleri üreten bazı genlerin germ hücrelerindeki mutasyonları gösterilmiştir. Erken başlangıç gösteren ailesel meme kanserli olguların genetik bağlantı çalışmaları, 17. kromozomun uzun kolundaki (17q21) *BRCA1* geni ile 13. kromozomun uzun kolundaki (13q12.3) *BRCA2* geninde mutasyonların keşfedilmesini sağlamıştır. Normalde her insanda genetik yapının bir parçası olarak bulunan bu genlerde mutasyon olması meme kanseri gelişme riskini arttırmaktadır. Yapılan çalışmalarda *BRCA1* ve *BRCA2* mutasyonları için heterozigot olan kadınlarda 70 yaşına kadar, %80'den daha yüksek düzeyde meme kanseri gelişme riski olduğu belirlenmiştir. *BRCA1* ve *BRCA2* genlerindeki germline mutasyonları, yüksek penetransa sahip ve hastalık için yüksek risk oluşturan faktörler olarak birçok çalışmada gösterilmiştir.

*BRCA1/2* genlerinin germline mutasyonları meme kanserlerinde otozomal dominant olarak kalıtım gösterir (62,64).

*BRCA1* kalıtsal meme kanserlerinin yaklaşık %15'ini, meme ve yumurtalık kanseri olan ailelerin yaklaşık %45'ini oluşturmaktadır. *BRCA1* ve *BRCA2* gen mutasyonları hem erken başlangıçlı meme kanseri hem de yumurtalık kanseri bulunan yüksek riskli ailelerin çoğunu oluşturmaktadır. Ailesel meme kanseri için en şiddetli etkiye sahip mutasyonları taşıyan bu iki gen, meme kanseri risk tespitinde mutasyon analizlerinin yapılmasında ön sırada yer almaktadır (63).

*BRCA1* geni kromozom 17q21'de lokalizedir ve toplam uzunluğu yaklaşık 100 kb'dir. 1994 yılında meme kanseri olan ailelerin bağlantı analizi ile izole edilmiştir. Bu gen 24 eksondan oluşur, 1863 amino asitlik protein kodlar ve kodlama bölgesi ekzon 2'nin ortasından başlar. *BRCA1*, genomik stabilite, DNA hasar tespiti ve onarımında, hücre döngüsünün kontrol noktalarında, kromatinin yeniden modellenmesinde, transkripsiyonun düzenlenmesinde, apoptozda, DNA replikasyonunda ve protein ubiquitinasyonunda rol oynamaktadır. *BRCA1* geninde meydana gelen yapısal mutasyonlar, kalıtsal meme ve over kanseri sendromuna yol açmaktadır. Bunlara ek olarak, *BRCA1* mutasyonları prostat kanseri ve olasılıkla kolon kanseri içinde riski artırır (65).

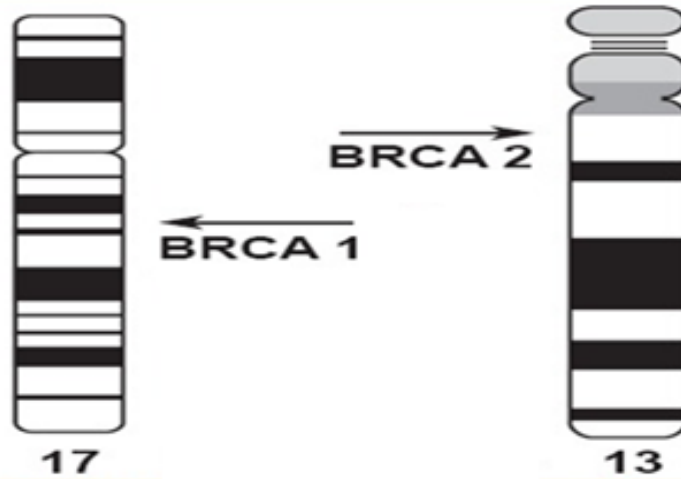
500-1000 kişiden yaklaşık 1 kişi *BRCA1*'de patojenik bir mutasyon taşır (kurucu popülasyonların dışında), bu da ailesel meme kanserinin yaklaşık %7-10'unu oluşturur. *BRCA1*'deki patojenik mutasyonlar, ömür boyu meme kanseri riskinin %60-85'ini, daha genç yaşlarda ise rölatif riski oluşturmaktadır. Örneğin, meme kanserinin 30 ila 39 yaş arasındaki göreceli riski %33'tür, ancak 60 ila 69 yaş arasında %14'e düşer. *BRCA1*'deki patojenik mutasyonlar, yaşam boyu yumurtalık kanseri riskini ise %40-60 oranında artırır. Yumurtalık kanseri riski yaşa bağlı değildir. Kadınlar ayrıca artmış pankreas malignitesi riskine sahip olabilirler. *BRCA1* mutasyonlu erkeklerin rölatif risk oranı %0.95'dir. *BRCA1* mutasyon taşıyıcılarının hem meme hem de yumurtalık kanserinden etkilenme yaşı, genel popülasyona göre oldukça küçüktür, meme kanseri riski 30 yılda yaklaşık %3'tür.

2000 üzerinde benzersiz patojen *BRCA1* mutasyonu tanımlanmış olmasına rağmen, belirli popülasyonlarda belirli mutasyonlar daha sıktır (kurucu mutasyonlar). Örneğin, Ashkenazi Yahudi popülasyonu içinde, nüfusun yaklaşık %1.2'sinde iki mutasyon,

c.68\_69delAG ve c.5266dupC (daha önce 185delAG /5382insC) meydana gelir. C.5266dupC mutasyonu diğer doğu Avrupa popölasyonlarında, özellikle Polonya'da bulunur (66,67).

*BRCA2* geni kromozom 13q12.3'te lokalizedir ve toplam 70 kb'lik bir uzunluğa sahiptir. 1995 yılında, *BRCA1*'e bağlı olmayan, ailesel meme kanseri olan ailelerin analizi ile izole edilmiştir. *BRCA2* geni 27 eksondan oluşur, 3418 amino asitlik bir proteini kodlar ve kodlama alanı ekson 2'den başlar. *BRCA2*'nin başta "RAD51 Recombinase" (*RAD51*) olmak üzere DNA'nın homolog rekombinasyonla onarımında görevli majör proteinlerle etkileşim halinde olduğu bilinmektedir. *BRCA2*, BRC tekrar bölgelerindeki *RAD51*'e bağlanarak, DNA çift zincir kırıklarının onarımına, kromozomal stabilitenin ve homolog rekombinasyonun sürdürülmesine katkıda bulunur. *BRCA2*, ailesel meme ve yumurtalık kanserinin nedensel bir geni olmasının yanı sıra, erkekte meme kanseri, Fanconi anemisi ve ailesel pankreatik kanserden sorumludur (65).

*BRCA1* ve *BRCA2* genlerinin kromozomlar üzerindeki lokasyonları Şekil 2' de gösterilmiştir (1).



**Şekil 2. *BRCA1* ve *BRCA2* genlerinin kromozomlar üzerindeki lokasyonları (1)**

*BRCA2* mutasyonları, meme ve yumurtalık kanseri olan ailelerin yaklaşık %10'unu oluştururken, 1/600 veya 1/800 kadın, doğurgan popölasyonlardaki patojenik bir mutasyona sahiptir. *BRCA2* geninde mutasyon taşıyan bireylerde, ömür boyu meme kanseri gelişim riski yaklaşık %40-85 olarak rapor edilmiştir. Spesifik meme kanseri patolojisi, *BRCA2* mutasyonlarıyla, *BRCA1*'de olduğu kadar karakteristik değildir. *BRCA2*'de risk aralığı çok

daha yüksektir ve yüksek riskli ailelerin veya popülasyon çalışmalarının yöntemlerinin belirlenmesinin açıkça bir etkisi vardır. Bu yaşam boyu meme kanseri riskini yaklaşık %30-40 olarak düşündüren bazı çalışmalarda daha düşük penetransa sahip, yaygın Ashkenazi Yahudi popülasyon mutasyonu (6174delT) c.5946delT tarafından gösterilmektedir. Bu yüksek risk aralığı meme kanserli aile öyküsünün yakınlığına, diğer bilinen risk faktörlerine ve muhtemelen yaygın genetik varyantların değerlendirilmesine dayandırılmalıdır. “Breast and Ovarian Analysis of Disease Incidence and Carrier Estimation Algorithm” (BOADICEA) modeli, *BRCA2* taşıyıcılarında meme kanseri riskini değerlendirmede aile öyküsünü dikkate almaktadır.

*BRCA2*'deki patojenik mutasyonlar ile ilişkili yumurtalık kanseri riski %30'a kadar çıkmaktadır. *BRCA2* ile ilişkili yumurtalık karsinomları, *BRCA1* mutasyonları ile ilişkili yumurtalık karsinomları ile benzer özelliklere sahiptir. *BRCA2*'deki mutasyonlarla ilişkili daha fazla değişkenlik riski vardır ve bu da daha modifiye edilebilir bir gen olduğunu göstermektedir. Kolanjiokarsinoma, melanom, pankreas (RR: 4.1) ve mide kanserlerinin (RR: 2.7) rölatif riski de *BRCA2* mutasyonlarıyla artmaktadır. *BRCA2* mutasyonlarının erkek taşıyıcıları, erkek meme kanseri riskinde artış ile birlikte yaşam boyu %14-20 oranında prostat kanseri riski taşımaktadır. Bir *BRCA2* mutasyonu ile ilişkili erkek meme kanserinin rölatif riski 80 ila 100 kattır. Erkek meme kanserlerinin yaklaşık %10'u *BRCA2* genindeki mutasyonlara bağlı olarak ortaya çıkmaktadır ve yaşamları boyunca meme kanseri geliştirme oranları %8-10'dur (66,67).

*BRCA1* ve *BRCA2*, hücre siklusunu kontrol eden ya da DNA onarımında rol oynayan proteinleri kodlayan ve hücre proliferasyonu üzerinde negatif etkili genler olmaları nedeniyle tümör baskılayıcı gen olarak işlev görürler. *BRCA1* ve *BRCA2* genlerinin kodladığı proteinler genom stabilizasyonunu sağlamada görev yaptıkları için bu genlerde oluşan mutasyonlar genomik instabiliteye yol açar. *BRCA1* ve *BRCA2*'deki mutasyonlar ve BRCA proteinlerinin inaktivasyonu, tümör baskılayıcı proteinlerin ve diğer “genom koruyucu” proteinlerin inaktivasyonuna neden olur. Sonuçta hücreler tümör oluşumuna gider. *BRCA1* ve *BRCA2* germ hücre dizisi mutasyonlarının taşıyıcılarında tümör oluşumu “iki vuruş” hipotezini takip eder; yani tümör hücrelerinde *BRCA1* veya *BRCA2*'nin her iki alleli işlevlerini kaybeder. *BRCA1* veya *BRCA2*'nin iki allelinin işlev kaybının yüksek sıklığı nedeniyle germ hücre dizisinde *BRCA1* veya *BRCA2* mutasyonu segregasyonu bulunan ailelerde kanserlerin otozomal dominant kalıtımı görülür. *BRCA1* veya *BRCA2* germ hücre dizisi mutasyonu



bulunan bir hastanın çocukları bu mutasyonu %50 olasılıkla kalıtlarlar. İnkomplet penetrans ve değişken ekspresivite nedeniyle kanserin başlangıcı ve gelişimi tam olarak öngörülemez (62).

### **BRCA1 VE BRCA2 MUTASYON TAŞIYICILARINDA MEME KANSERİ RİSKİNİN GENETİK DÜZENLEYİCİLERİ (MODİFİYE EDİCİ GENLER)**

Yüksek riskli meme kanseri duyarlılık genleri *BRCA1* ve *BRCA2*'nin rolünü anlamada çok ilerleme kaydedilmiş olsa da, mutasyon taşıyıcıları arasında gözlenen risk varyasyonuna tam olarak neyin neden olduğu belirsizliğini korumaktadır. *BRCA1/BRCA2* mutasyon taşıyıcıları arasında meme kanserine yakalanma riski büyük ölçüde farklılık göstermektedir. Hem *BRCA1* ve *BRCA2* mutasyon taşıyıcı aileler arasında hem de aileler dahilindeki bireyler arasındaki kanser riskinde gözlemlenen bu belirgin değişkenlik, kısmen mutasyon penetrasyonunu etkileyen değiştirici genlerle açıklanabilmektedir. *BRCA1/BRCA2* mutasyon taşıyıcılarına ait ışınlanmış lenfoblastoid hücre soyları ile yapılan mikrodizin çalışmalarında, belirli genlerin ekspresyonunu etkileyen ve değiştiren yeni genler bulunmuştur. Bu tür genlere “modifiye edici genler” denilmektedir. Bu değiştirici genler, Mendel özellikli bireylerde penetrans, baskınlık, pleiotropi veya ekspresyonu modüle etmektedir. Yine bazı araştırmalarda, genotip-fenotip korelasyonlarının, mutasyon taşıyıcı aileler içerisindeki bireyler arası risk varyasyonlarına uymadığı görülmektedir. Buna göre, mutant *BRCA* allelleri ve fenotip arasında sağlıklı bir korelasyon olmadığında, kanser riskinin diğer genetik ve çevresel faktörler tarafından değiştirilebileceği düşünölmektedir. Geniş kapsamlı uluslararası çalışmalar, bu genlerin meme kanseri riskini arttırdığını göstermektedir. Literatürde, hormon metabolizmasına katılan “Nuclear Receptor Coactivator 3” (*NCOA3*, *AIB1*) ile “Androgen Receptor” (*AR*) genleri ve DNA onarımında rol oynayan *RAD51* geni de dahil olmak üzere birçok değişik düzenleyici lokus önerilmiştir (68,57).

Steroid hormon metabolizma genleri olan *NCOA3* ile *AR*, *BRCA1/2*'nin doğrudan faaliyet göstermediği yollarındaki modifikatörlerdir. Steroid hormonlar, reseptörleri vasıtasıyla meme dokusunun gelişiminde ve çoğalmasında rol oynayan proteinlerin ekspresyonunu düzenlemektedir. Menarş yaşı, ilk gebelik yaşı, gebelik sayısı ve menopoz yaşı gibi çeşitli faktörler *BRCA1* ve/veya *BRCA2* mutasyon taşıyıcılarında endojen hormona maruz kalmayı ve meme kanseri riskini değiştirmektedir. Bu genlerdeki fonksiyonel polimorfizmlere bağlı olarak dolaşımdaki steroid hormonlarının veya hormona cevap vermede daha duyarlı genlerin seviyelerine maruz kalma, steroid hormonları ile ilişkili kansellere karşı

duyarlılığı değiştirebilmektedir. Östrojen, progesteron ve androjen için olanlar da dahil olmak üzere, hormon etkisinin aracıları olarak steroid hormon reseptörleri ve *NCOA3* gibi koaktivatörleri başlıca aday değiştiricilerdir (68).

*BRCA1* mutasyon taşıyıcılarında, meme kanseri tanısının yaşı ve androjen reseptörünün (*AR*) 1. ekzonundaki Guanin, Adenin, Sitozin (CAG) tekrarının (poliglutamin) uzunluğu arasındaki ilişki önemlidir. Riskle ilişkili alleller en az 28 tekrarlamaya sahiptir ve risk yalnızca en az 29 tekrarlananlarda yüksektir. *AR*-CAG tekrarlama, *AR* aktivitesini modüle eder. Uzun CAG tekrarlarını içeren alleller, androjene duyarlı genlerin aktive olma yeteneğini azaltarak meme epitel hücre proliferasyonunda artışa neden olurlar. *BRCA1*, *AR* promotörünün koaktivatörüdür ve *AR* promotörü ile fiziksel olarak etkileşime girmektedir. Bu da *AR*'deki allelik değişikliğin *BRCA1* mutasyon taşıyıcılarındaki meme kanseri penetrasyonunu etkilediği konusunda mantıklı bir açıklama getirmektedir (68,69).

*NCOA3*, östrojene bağımlı transkripsiyonu arttırmak için steroid hormonları ile etkileşime giren transkripsiyonel koaktivatörlerden “Nuclear Receptor Coactivator 1” (*NCOA1*, *SRC-1*) ailesinin bir üyesidir. *NCOA3*'ün kodlama bölgesi değişken sayıda glutamin artıkları içerir. Germline *BRCA1* mutasyonları bulunan 165 meme kanseri vakası ve 139 etkilenmemiş kontrol grubuyla yapılan bir çalışmada, en az 28 poliglütamin tekrarıyla *NCOA3* alleleline sahip kadınların, daha kısa allelli kadınlara kıyasla daha yüksek meme kanseri riski taşıdıkları görülmüştür. Meme kanseri riski, geç yaşta ilk canlı doğum ve 28-29 tekrar içeren *NCOA3* alleli ile birlikte daha da artmıştır. Nathanson ve Weber'in diğer meme kanseri duyarlılık genleri ile ilgili yaptığı çalışmalarında, *NCOA3*'ün ekspresyon düzeylerinin glutamin tekrarlarının sayısına bağlı olarak değişebileceğini ve dolayısıyla meme kanseri penetrasyonunu etkileyebileceğini önermektedir. Ayrıca progesteron reseptörünün *PROGINS* varyantı da oral kontraseptif kullanmamış olan *BRCA1* ve *BRCA2* mutasyon taşıyıcılarında yumurtalık kanseri riskinde artış ile ilişkili olabilir (68,69).

Bu bağlantı çalışmalarının tamamı endokrin sinyal yolağı genlerinde bulunan varyantların *BRCA1* ve *BRCA2* mutasyon taşıyıcılarında kanser penetrasyonunu etkileyebileceğini göstermektedir. Buna ek olarak varyantların etkisi, oral kontraseptifler ve ilk canlı doğumdaki yaş gibi diğer hormonal ve çevresel etkenlere maruz kalmalarla modüle edilebilir.

Meme kanserini modifiye edici allelleri arayan bazı araştırmacılar, birkaç DNA tamir genindeki varyantları araştırmaya odaklanmıştır; çünkü DNA onarımı *BRCA1* ve *BRCA2*'nin doğrudan faaliyet gösterdiği ana yoldur. Diğer DNA onarım genleri olan *RAD51* ve “Aurora Kinase A” (*AURKA*)’da *BRCA1/2*'nin doğrudan faaliyet gösterdiği yollarındaki modifikatörlerdir. DNA onarımı gibi direkt yollarda modifiye edici etkileri tespit edebilme olasılığı, *BRCA1* ve *BRCA2* genlerinde mutasyon olan hastaların fenotiplerine bakmaktan gelir.

Leegte ve ark.’ları tarafından 2008 yılında yapılan bir araştırma sonucunda, kadınların çoğunda Ashkenazi Yahudi’si mutasyon ailelerindeki *BRCA1* 186delAG / *BRCA2* 6174delT veya *BRCA1* 5382insC / *BRCA2* 6174delT mutasyoları bulunmaktadır. Büyük örnek sayıları olan bazı çalışmalar, genel popülasyonda meme ve yumurtalık kanseri riski üzerine en yaygın olan *BRCA2* varyantlarının etkisini analiz etmiştir: 5'UTR'de bir polimorfizm (203G>A, nadir allel frekansı 0.28) ve kodlayıcı bölgedeki bir polimorfizm (1342A>C/N372H, nadir allel frekansı 0.26). Bu sonuçlar genel popülasyonda N372H homozigot taşıyıcılarda meme ve yumurtalık kanseri için yaklaşık 1.3-1.5'lik bir risk artışı göstermiştir (68).

*TP53* ve *RAD51*, çift zincirli DNA onarımında merkezi rol oynayan genlerdir. Hem *BRCA1* hem de *BRCA2* proteinleri DNA onarımında *TP53* ve *RAD51* genleri ile birlikte işlev görürler. *BRCA2*, homolog rekombinasyon sırasında basamakların regülasyonu ile bölünen hücrelerdeki kromozom yapı stabilitesini korumak için *RAD51* ile etkileşime girmektedir. Laboratuvarlar konsorsiyumu “The Consortium of Investigators of Modifiers of *BRCA1* and *BRCA2*” (CIMBA), *RAD51*'in 5'UTR bölgesinde yer alan G135>C varyantını (SNP) yalnızca *BRCA2* mutasyon taşıyıcılarında meme kanseri risk düzenleyicisi olarak doğrulamıştır. Fakat bu iki yaygın *RAD51* 5'UTR varyantları, G135>C ve G172>T, meme kanseri duyarlılığı ile ilişkili bulunmamıştır. CIMBA, bu *RAD51* polimorfizmlerini Avrupa, Avustralya, ABD, Kanada ve İsrail'deki gruplardan 8512 *BRCA1/2* mutasyon taşıyıcısında genotiplendirmiştir. *BRCA2* mutasyon taşıyıcılarında, heterozigotlar arasında 1.17 tehlike oranı (HR) ve homozigotlar arasında 3.18 HR görülen modifiye edici etkiyi doğruladılar. *RAD51* ve *BRCA2* proteinlerinin, DNA onarımında yakından etkileşime girmeleri *RAD51*'in 5'UTR G135>C varyantının kanser riskini etkileyebileceği moleküler mekanizma hakkında açık bir fikir vermektedir. CIMBA konsorsiyumunun yayınlanan diğer bir çalışması, hücre döngüsü regülasyonunda yer alan *AURKA* genindeki varyantların *BRCA1/2* mutasyon taşıyıcılarındaki meme kanseri riskini değiştirmedini göstermiştir (70).

Modifiye edici genler, kalıtsal meme kanserlerinde düşük penetranslı genler olarak rol oynarlar. Son birkaç yılda yapılan genom konusundaki çalışmalarda meme kanseri ile ilişkili yeni lokuslar bulunmuştur. 10.358 mutasyon taşıyıcısını araştıran çok merkezli bir çalışmada, başlangıçta düşük penetranslı meme kanseri duyarlılık SNP'leri olarak teşhis edilen *FGFR2*, *MAP3K1* ve “TOX High Mobility Group Box Family Member 3” (*TOX3*)'deki SNP'lerin değiştirici rolleri tanımlandı. *FGFR2*'deki rs2981582 ve *MAP3K1*'deki rs889312 SNP'leri, *BRCA2* mutasyon taşıyıcılarındaki meme kanseri riskini arttırmaktadır. *TOX3*'te bir SNP olan rs3803662 ise, hem *BRCA1* hem de *BRCA2* mutasyon taşıyıcılarında meme kanseri riskinde artış ile ilişkilidir (71).

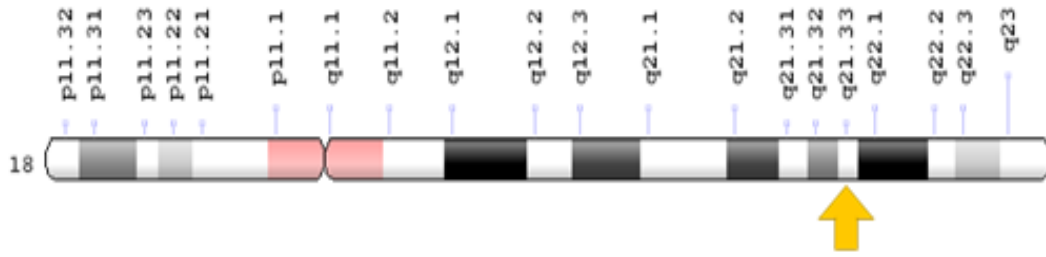
Meme kanseri riskinde bu değiştirici genlerin etkilerinin anlaşılması çeşitli amaçlara hizmet edecektir. Birincisi, bu risklerin bireysel bazda tahmin edilmesi hastalığı iyileştirmeye büyük ölçüde hizmet edecektir. İkincisi, *BRCA1* ve *BRCA2* genlerinin işlevlerini anlamamıza yardımcı olacaktır. Üçüncüsü, riski iyileştiren varyantlar, hastalıkla savaşmak veya belki de önlemek için endojen mekanizmaları kullanmanın bir yolunu temsil edebilir. Dördüncüsü, bu modifikatörlerin çoğu genel popülasyonda düşük ila orta düzeyde penetre olmaya yatkın genler olabilir (68).

Sonuç olarak değiştirici genler, gen etkileşimleri için moleküler ve fonksiyonel temel, yeni tedavi yöntemleri ve belki de hastalığı önlemek, genetik ve çevresel rahatsızlıklara yanıt olarak homeostazın kökeni ve işlevsel ağların evrimi için ipuçları sağlamaktadır. Ayrıca modifiye edici genlerin genel toplumdaki yaygın hastalıkların gelişmesine ve/veya ilerlemesine katkıda bulunması mümkündür (72).

### **“Tümör Nekroz Faktör Reseptör Süper Aile Üyesi 11A” (*TNFRSF11A*, *RANK*) Geni**

*TNFRSF11A*, 32 üyesi bulunan tümör nekroz faktör reseptör süper ailesinin 11A nolu üyesidir. Hücre dışı kısmı 28 amino asitlik sinyal peptid olan *TNFRSF11A*, 21 amino asitlik kısa transmembran ve geniş sitoplazmik kısımları ile toplam 616 amino asitlik bir transmembran proteindir. *TNFRSF11A* geni, kromozom 18'in uzun kolunda 21. bantta (18q21.33) lokalize olup, 12 ekzondan oluşmaktadır. Osteoklastojenez ve kalsiyum metabolizmasını kontrol eden bu reseptörün; makrofaj/monositik hücreler, T ve B lenfositleri, fibroblastlar, dendritik hücreler, kondrositler, trofoblastlar ve öncül-olgun osteoklastların yüzeyinde eksprese edildiği belirlenmiştir. *TNFRSF11A* protein sentezi, meme bezi ve kemik

metastazı potansiyeli yüksek kanser türü olan meme ve prostat kanserini de kapsayan bazı kanser hücrelerinde de gösterilmiştir. *TNFRSF11A*, preosteoklastlara “Tumor Necrosis Factor Superfamily Member 11” (*RANKL*)’in bağlanmasını sağlayan tek reseptördür. *TNFRSF11A* geninin 18. kromozom üzerindeki lokasyonu Şekil 3’te gösterilmiştir (73).



**Şekil 3. *TNFRSF11A* geninin 18. kromozom üzerindeki lokasyonu (73)**

18 üyesi bulunan ve kemik rezorpsiyonunun anahtar mediyatörü olan *RANKL*, tümör nekroz faktör ligand ailesinin 11 nolu üyesidir. Membrana bağlı hücrel ve biyolojik olarak aktif, çözünür iki formdan oluşmuş 317 amino asitlik bir peptiddir. Lenf nodları, timus, akciğer, dalak, beyin, kalp, bağırsak, böbrek, karaciğer, iskelet kası, plasenta, testis, deri, meme, kemik iliği gibi dokularda, aktif T-lenfositlerinde ve osteoblastlarda eksprese edildiği mesajcı RNA (mRNA) çalışmaları ile gösterilmiştir. Bu da *RANKL*’nin çok sayıda fonksiyonu olduğuna işaret etmektedir, ancak en önemli işlevi osteoklastogenez indüksiyonudur. *RANKL* sentezi, transkripsiyonel, translasyonel ve posttranslasyonel seviyelerde hormonlar, büyüme faktörleri ve peptidler, sitokinler ve glukokortikoidler gibi pek çok faktör tarafından düzenlenir. Osteoblast/stromal hücrelerde *RANKL* sentezlenmesi, osteoklast oluşumu ve aktivasyonunu uyararak pek çok faktör ile uyarılır. *RANKL*, öncül ve olgun osteoklastlar ile uyarılmış T ve dendritik hücrelerin yüzeyinde bulunan kendine ait reseptörü *TNFRSF11A*’ya bağlanarak bu hücreleri uyarır. *TNFRSF11A*’nın, diğer tümör nekroz faktör reseptörleri gibi kendiliğinden protein kinazları aktive etme yeteneği yoktur. Bu yüzden, *RANKL* bağlandıktan sonra *TNFRSF11A*’nın sitoplazmik kısmına tümör nekroz faktör reseptör ilişkili faktörler (TRAF) bağlanır ve hücre içi sinyal yollarını aktive eder. *RANKL*’in osteoporotik etkisi yanında immün sistem üzerinde de önemli etkileri vardır. Ayrıca farelerdeki klinik öncesi çalışmalar, *RANKL*’nin gebelik sırasında meme epitel hücrelerinde de eksprese edildiğini ve *RANKL*’nin meme bezi gelişiminde, meme epitel hücrelerinin laktasyonel hiperplazisinde ve

süt üretiminde gerekli olduğunu göstermiştir. Bazı malign tümör hücrelerinin *RANKL* yanında *TNFRSF11A*'da sentezlemesi tümör hücre proliferasyonunun uyarılmasında rol oynayabileceklerini düşündürmektedir (74).

*TNFRSF11A* ve *RANKL* işlevsel olarak bağlantılı genlerdir ve bu nedenle çeşitli özelliklerin belirlenmesindeki rolleri açısından sıklıkla birlikte düşünülürler. *RANKL* ve onun reseptörü *TNFRSF11A*, osteoklast aktivasyonu ve gelişimi için gereklidir. *TNFRSF11A* ve *RANKL* pleiotropik genlerdir ve çeşitli karmaşık işlemlerle ilişkilendirilmelerinin yanında birlikte meme tümörogenezine de katkıda buldukları ile ilgili sonuçlar rapor edilmiştir. Bu genler meme bezi hücrelerinde eksprese edilirler ve gebelik sırasında laktasyondaki meme bezi gelişimini kontrol ederler (75).

*TNFRSF11A* sinyalleri, meme kanseri olan *BRCA1/2* mutasyonu taşıyıcılarında olduğuna inanılan “çekirdek hücrelerden” progenitör hücrelerde aktivite gösterir (2). *TNFRSF11A* tarafından aracılık edilen hücre içi sinyalleşme, meme bezi gelişiminin temelini oluşturur, kök ve progenitör hücre bölünmelerini düzenler. *TNFRSF11A*'nın aşırı ekspresyonu, meme epitel hücrelerinin anormal çoğalmasını teşvik eder ve farklılaşmayı engeller ve bu da tümörogenez insidansını artırır. Bunun sonucunda lobüloalveoler yapılar eksik, fonksiyonel olmayan meme bezleri gözlenir. İçinde bulunduğu temel meme süreçleriyle uyumlu olarak, *TNFRSF11A*'nın artmış sinyalleri meme kanseri oluşumunu teşvik eder (76).

Penninger ve ark.'ları tarafından yapılan bir çalışma sonucu, *TNFRSF11A* sinyalleşmesinin, *BRCA1/2* mutasyonları tarafından yönlendirilen meme karsinogenezinde önemli rol oynadığını göstermektedir. Penninger ve ark.'ları, bu hipotezin doğruluğunu kanıtlamak için klinik ortamda *RANKL/TNFRSF11A* sisteminin çok yönlü bir analizini yaparak iki önemli sonuca varmışlardır. İlk olarak, *TNFRSF11A* ve *RANKL* yalnızca *BRCA1* veya *BRCA2* mutasyonları olan meme kanserleri tarafından yüksek seviyede eksprese edilir ve *TNFRSF11A* protein seviyeleri, bu senaryoda tümör derecesi ile şiddetli bir korelasyon sergiler. İkincisi, *TNFRSF11A* ekspresyon düzeylerini artıran yaygın *TNFRSF11A* polimorfizmleri, *BRCA1* veya *BRCA2* mutasyonu olan kadınlarda meme kanseri gelişiminde artmış bir risk ile ilişkilidir. Bu nedenle *BRCA1/2* mutasyonu nedeni ile oluşan meme kanserinin etyolojisinde *TNFRSF11A*'nın bir rolü olabileceği öngörülmektedir (13).

## **GEREÇ VE YÖNTEMLER**

### **ÖRNEKLEMİN OLUŞTURULMASI**

Çalışmaya meme kanseri tanısı almış 51 kişi ve sağlıklı kontrol olarak 55 kişi olmak üzere toplam 106 kişi dahil edildi. Meme kanseri tanısı almış grubun yaş ortalaması 44,80 iken sağlıklı kontrol grubunun yaş ortalaması yine 44,80 olarak belirlenmiştir.

### **HASTA GRUBU**

Hasta grubuna en az üç kuşaktır Trakya Bölgesi'nde yaşayan, birbirleri ile akraba olmayan, meme kanseri tanısı konulan *BRCA1* ve/veya *BRCA2* mutasyonu saptanan 23 kadın hasta ve meme kanseri tanısı konulan fakat *BRCA1* ve/veya *BRCA2* mutasyonu saptanmayan 28 kadın hasta olmak üzere toplam 51 meme kanserli hasta dahil edildi.

### **KONTROL GRUBU**

Sağlıklı kontrol grubuna en az üç kuşaktır Trakya Bölgesi'nde yaşayan, birbirleri ile akraba olmayan, 18 yaşından büyük, aile anamnezinde ailesel meme kanseri tanısı almamış, geçmiş dönem muayeneleri esnasında meme ile ilgili hastalık öyküsü olmayan, hali hazırda meme ve overler ile ilgili bir şikayeti olmayan, çalışmaya katılmak için gönüllü olan ve gönüllü olur formunu doldurup imzalayan toplam 55 kadın dahil edildi.

Çalışmaya dahil edilen hasta ve kontrol grubundaki bireylere çalışma hakkındaki bilgileri içeren ve onayının alındığını belgeleyen “Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu” imzalatıldı (EK-1).

Çalışmamız “Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu” tarafından, araştırmanın gerekçesi, amacı, yaklaşım ve yöntemleri incelendikten sonra 28.09.2016 tarihinde 16/03 karar numarası ve sayılı belge (TÜTF-BAEK 2016/219) ile onaylanmıştır (EK-2).

Çalışmamızın laboratuvar aşamaları, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı’nda yapıldı.

## **GEREÇLER**

## **ÇALIŞMAMIZDA KULLANILAN CİHAZLAR, KİMYASAL MADDELER VE SARF MALZEMELER**

### **Cihazlar**

- Otomatize DNA izolasyon cihazı (Qiagen EZ1 Advanced XL, Hilden, Almanya)
- Spektrofotometre (Nanodrop 2000C UV-Vis Spectrophotometer, Thermo Scientific, ABD)
- Vorteks (DragonLab MX-S, Çin)
- Santrifüj (Beckman Coulter Microfuge 16 Centrifuge, Hermle Z306, Almanya)
- Real-Time PCR cihazı (Applied Biosystems StepOnePlus Real-Time PCR System, Version, Singapur)
- Buzdolapları (-20 °C derin dondurucu Arçelik, +4 °C soğutucu Beko, Türkiye)
- Pipet setleri (Eppendorf Research plus, Almanya, Thermo Fisher Scientific, ABD)

### **Kimyasal Maddeler ve Sarf Malzemeler**

- DNA izolasyon kiti (Qiagen EZ1 DNA Blood 200 µl Kit, Hilden, Almanya)
- Distile su (Gibco Distilled Water DNase/RNase Free, 500 ml, Birleşik Krallık)
- TaqMan® SNP Genotyping Assays (Applied Biosystems, ABD)



- TaqMan® Universal Master Mix II, with UNG, 5 ml (Applied Biosystems, ABD)
- MicroAmp® Fast Optical 96-Well Reaction Plate, 0,1 ml (Applied Biosystems, Çin)
- MicroAmp® Optical Adhesive Covers, 25 films (Applied Biosystems, Singapur)
- 10 µl Racked Extended Length Filtered Vertex Tips, Natural, 10 Racks per Pack (Vertex Pipette Tips, ABD)
- 200 µl Racked Filtered Vertex Tips, Natural, Graduated, 10 Racks per Pack (Pipette Tips, ABD)

## **YÖNTEMLER**

### **PERİFERİK VENÖZ KANDAN GENOMİK DNA İZOLASYONU**

Çalışmaya dahil edilen hasta ve kontrol gruplarındaki her bir bireyden 2,5 cc periferik venöz kan örneği, 5 cc'lik EDTA'lı tüplere alındı ve DNA izolasyonu yapılana kadar +4 °C'de saklandı. Periferik venöz kan örneklerinden genomik DNA, EZ1 DNA Blood 200 µl izolasyon kitleri (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanılarak, EZ1 Advanced XL (Qiagen, Hilden, Almanya) nükleik asit izolasyon cihazı ile elde edildi. İzolasyon, kullanılan kitin protokolüne uygun olarak 200 µl kan örneği ile başlanıp son hacim 100 µl olacak şekilde yapıldı.

### **GENOMİK DNA'LARIN SPEKTROFOTOMETRİK ÖLÇÜMLERİ**

Genomik DNA'ların konsantrasyon ve saflık değerleri NanoDrop 2000C (Thermo Scientific, ABD) cihazı ile 260/280 nm dalga boylarında ölçüldü. 260/280 nm oranı 2.00'den büyük ve DNA konsantrasyonu 20 ng/µl'nin altında olan genomik DNA örnekleri çalışmaya dahil edilmedi. Dalga boyu oranı 1.5-2.0 ve konsantrasyon değeri 20-80 ng/µl arasında olan genomik DNA örnekleri çalışmaya dahil edildi. Konsantrasyon ve saflık kontrolünden geçen genomik DNA örnekleri çalışma zamanına kadar -20 °C'de bekletildi.

### **ALLELİK DİSKRİMİNASYON ÇALIŞMALARI**

TaqMan® SNP Genotyping Assay kiti kullanılarak gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real-Time PCR) işlemiyle, rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'leri için allelik diskriminasyon yapıldı.

## Çalışma Protokolü

Konsantrasyon ve saflık kontrolünden geçtikten sonra çalışma zamanına kadar -20 °C’de bekletilen genomik DNA örnekleri çalışılmak üzere erimeleri için oda sıcaklığına çıkarıldı. Reaksiyonda kullanılacak bileşenler ile miktarları Tablo 1’deki gibidir.

**Tablo 1. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real-Time PCR) işlemindeki bileşenler**

Bileşen	Miktar (µl)
TaqMan® Universal Master Mix II	5 µl
TaqMan® SNP Genotyping Assays, 40X	0.25 µl
Distile su	3.75 µl
DNA	1 µl
Toplam Hacim	10 µl

94 örnek + 2 negatif kontrol için hesap yapılarak mix hazırlandı ve 96’lık pleytin her bir kuyucuğuna hazırlanan mix’ten 9 µl dağıtıldı. Sonrasında ilk 94 kuyucuğa ilgili DNA örneğinden 1 µl ve son 2 negatif kontrol kuyucuğuna 1 µl distile su koyuldu. Pleyt üzeri optik yapışkan bant (kapak) ile iyice kapatıldı. Pleyt, kısa vorteks + spin yapıldı.

Daha sonra pleyt StepOnePlus Real-Time PCR Sistemi’ne (Applied Biosystems, Singapur) yüklenerek, Tablo 2’deki protokole uygun olarak gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real-Time PCR) ile çalışıldı.

**Tablo 2. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real-Time PCR) aşamaları ve protokolü**

AŞAMA	BASAMAK	SICAKLIK	SÜRE	SİKLUS
1.	Pre PCR Read (Holding Stage)	60 °C	30 saniye	1 siklus
2.	Holding Stage	95 °C	10 dakika	1 siklus
3.	Cycling Stage	95 °C	15 saniye	40 siklus
3.	Cycling Stage	60 °C	1 dakika	40 siklus
4.	Post PCR Read (Holding Stage)*	60 °C	30 saniye	1 siklus

\*Florojenik veri VIC, FAM ve ROX kanallarından toplanacaktır.

Reaksiyon tamamlandıktan sonra, elde edilen veriler StepOnePlus yazılımında değerlendirildi. Bu değerlendirmede, elde edilen florojenik veri-döngü grafiğinde ilk önce homozigot ve heterozigot grafikleri ile boş kontrol grafikleri kontrol edildi. Boş kontrollerin sinyal grafiklerinden sinyal alınmaması deney aşamasında herhangi bir kontaminasyonun olmadığı anlamındaydı. Daha sonra, homozigot ve heterozigot grafiklerini baz alan yazılım, hasta ve kontrol gruplarındakilere homozigot ve heterozigot şeklinde genotiplendirme atadı. Böylece, hasta ve kontrol gruplarının rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'leri için hangi genotipe sahip oldukları saptandı.

## İSTATİSTİK

Hasta ve kontrol grubu verileri SPSS 16.0 programına girilerek veriler analiz edildi. Hasta ve kontrol grubunun demografik verileri, sayı (n), %,  $\chi^2$ , mean, min, max değerler ve ortalama verilerek açıklandı.

Çalışmada hasta (*BRCA1* ve/veya *BRCA2* patojenik varyasyonu saptanan meme kanserli olgularda) ve kontrol grubunun arasında *TNFRSF11A* geni rs9646629, rs4485469, rs34739845, rs4941129, rs17069904, rs884205 SNP'lerinin genotip frekansları  $\chi^2$  ile analiz edildi.

## BULGULAR

Çalışmaya 51 hasta (*BRCA1/2* mutasyonu saptanan 23 hasta ve *BRCA1/2* mutasyonu saptanmayan 28 hasta) ve 55 kontrol olmak üzere, toplam 106 kişi dahil edildi. Hasta grubu (*BRCA1/2* mutasyonu olan ve *BRCA1/2* mutasyonu olmayan) yaş ortalaması 44,80 (min:24, max:76), kontrol grubu yaş ortalaması 44,80 (min:41, max:72) olarak belirlendi. *BRCA1/2* mutasyonu olan hasta grubu (n=23) yaş ortalaması 45,13 (min:24, max:76), *BRCA1/2* mutasyonu olmayan hasta grubu (n=28) yaş ortalaması ise 44,54 (min:33, max:62) olarak saptandı (Tablo 3).

**Tablo 3. Hasta ve kontrol grubunun yaş demografik özelliklerine göre dağılımı**

Yaş demografik özelliklerine göre dağılım	Ortalama	Standart Sapma	Min	Max	n
<i>BRCA1/2</i> mutasyonu saptanan hasta grubu	45,13	13,73	24	76	23
<i>BRCA1/2</i> mutasyonu saptanmayan hasta grubu	44,54	8,28	33	62	28
<i>BRCA1/2</i> mutasyonu saptanan ve <i>BRCA1/2</i> mutasyonu saptanmayan hasta grubu	44,80	10,97	24	76	51
Kontrol grubu	44,80	8,11	41	72	55

Çalışmaya dahil edilen hasta ve kontrol grubunda meme kanseri gelişim riski üzerine etkisi araştırılan *TNFRSF11A* geni SNP'leri Tablo 4'te yer almaktadır.

**Tablo 4. Çalışmaya dahil edilen *TNFRSF11A* geni SNP'leri**

	dbSNP ID	Varyasyon sınıflaması	VIC/FAM	Atasal Allel
1	rs4485469	SNP*	A/G	A
2	rs9646629	SNP	C/G	G
3	rs34739845	SNP	A/G	A
4	rs17069904	SNP	A/G	G
5	rs884205	SNP	A/C	C
6	rs4941129	SNP	C/T	T

\*Tek nükleotid polimorfizmi.

Çalışmaya dahil edilen hasta ve kontrol gruplarından alınan periferik kandan DNA izolasyonları tamamlandıktan sonra, kullanılan kitin içeriğine uygun olarak gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real-Time PCR) işlemiyle, rs9646629, rs4485469, rs34739845, rs4941129, rs17069904, rs884205 SNP'leri için allelik diskriminasyon yapılarak çıkan sonuçlar değerlendirildi. Hasta ve kontrol grubunda ilgili SNP'lerin genotip ve allel frekansları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup olmadığını belirlemek amacıyla, Ki\_kare (Chi-Square Tests) testi kullanılmıştır. Hasta ve kontrol grubunda rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'lerinin genotip frekanslarının karşılaştırılması Tablo 5'te verilmiştir.

**Tablo 5. Hasta ve kontrol grubunda rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'lerinin genotip frekanslarının karşılaştırılması**

		Hasta ve Kontrol Grubu		
		Hasta Grubu	Kontrol Grubu	p değeri
rs4941129 (n-%)	TT	26 %51,0	29 %52,7	0,329
	CT	23 %45,1	20 %36,4	
	CC	2 %3,9	6 %10,9	
rs884205 (n-%)	CC	29 %56,9	35 %63,6	0,104
	AC	18 %35,3	20 %36,4	
	AA	4 %7,8	0 %0,0	
rs17069904 (n-%)	GG	40 %78,4	49 %89,1	0,297
	AG	10 %19,6	5 %9,1	
	AA	1 %2,0	1 %1,8	
rs34739845 (n-%)	AA	40 %78,4	36 %65,5	0,331
	AG	10 %19,6	17 %30,9	
	GG	1 %2,0	2 %3,6	
rs9646629 (n-%)	GG	19 %37,3	26 %47,3	0,536
	CG	24 %47,1	23 %41,8	
	CC	8 %15,7	6 %10,9	
rs4485469 (n-%)	AA	14 %27,5	13 %23,6	0,820
	AG	22 %43,1	27 %49,1	
	GG	15 %29,4	15 %23,7	

Hasta (*BRCA1/2* mutasyonu saptanan ve *BRCA1/2* mutasyonu saptanmayan) ve kontrol grubunda rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129

SNP'lerinin genotip frekansları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

*BRCA1/2* mutasyonu saptanan ve saptanmayan hasta grupları arasında, rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'lerinin genotip frekansları Ki\_kare (Chi-Square Tests) testi istatistiksel olarak karşılaştırıldı (Tablo 6).

**Tablo 6. *BRCA1/2* mutasyonu saptanan ve saptanmayan hasta grupları arasında, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'lerinin genotip frekanslarının karşılaştırılması**

rs4485469 (n-%)			
	Hasta Mutasyon var	Hasta Mutasyon yok	P değeri
AA	10 %43,5	4 %14,3	0,059
AG	7 %30,4	15 %53,6	
GG	6 %26,1	9 %32,1	
rs9646629 (n-%)			
	Hasta Mutasyon var	Hasta Mutasyon yok	P değeri
GG	11 %47,8	8 %28,6	0,367
CG	9 %39,1	15 %53,6	
CC	3 %13,0	5 %17,9	
rs34739845 (n-%)			
	Hasta Mutasyon var	Hasta Mutasyon yok	P değeri
AA	18 %78,3	22 %78,6	0,632
AG	5 %21,7	5 %17,9	
GG	0 %0,0	1 %3,6	

rs17069904 (n-%)			
	Hasta Mutasyon var	Hasta Mutasyon yok	P değeri
GG	17 %73,9	23 %82,1	0,491
AG	5 %21,7	5 %17,9	
AA	1 %4,3	0 %0,0	
rs884205 (n-%)			
	Hasta Mutasyon var	Hasta Mutasyon yok	P değeri
CC	14 %60,9	15 %53,6	0,804
AC	7 %30,4	11 %39,3	
AA	2 %8,7	2 %7,1	
rs4941129 (n-%)			
	Hasta Mutasyon var	Hasta Mutasyon yok	P değeri
TT	12 %52,2	14 %50,0	0,973
CT	10 %43,5	13 %46,4	
CC	1 %4,3	1 %3,6	

*BRCA1/2* mutasyonu saptanan ve *BRCA1/2* mutasyonu saptanmayan hasta grubu arasında rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'lerinin genotip frekansları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

Meme kanseri saptanan hastalarda klinik evrelemenin bir parçası olan metastaz, hormon reseptörlerinden meme gelişimi ve fonksiyonu için en önemlileri olan östrojen ile progesteron, moleküler prognostik faktörlerden *CerbB2* onkoproteini hastalığın hem prognoz hem de tedavi yöntemi belirlenmesindeki rolü açısından önem taşır. Meme kanseri olan hastalardaki bu klinik ve biyolojik davranış farklılıklarını ve hastalığın hızla gelişebileceği yüksek risk grubunu belirlemek için bu prognostik faktörler kullanılır. Çalışmamızda hasta grubunda rutin tetkik amacı ile istenmiş olan metastaz, östrojen, progesteron ve *cerbB2* sonuçları da değerlendirildi.

Hasta grubunda rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'lerinin metastaz üzerine etkisi *Ki\_kare* (Chi-Square Tests) testi kullanılarak istatistiksel olarak karşılaştırıldı (Tablo 7).



**Tablo 7. Hasta grubunda rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'leri ile metastaz ilişkisinin karşılaştırılması**

		Hasta Grubu (mutasyon var +mutasyon yok)			p değeri
		Metastaz yok	Metastaz var	Metastaz bilinmiyor	
rs4941129 (n-%)	TT	9 %52,9	12 %42,9	5 %83,3	0,463
	CT	7 %41,2	15 %53,6	1 %16,7	
	CC	1 %5,9	1 %3,6	0 %0,0	
rs884205 (n-%)	CC	7 %41,2	19 %67,9	3 %50,0	0,352
	AC	9 %52,9	7 %25,0	2 %33,3	
	AA	1 %5,9	2 %7,1	1 %16,7	
rs17069904 (n-%)	GG	13 %76,5	23 %82,1	4 %66,7	0,718
	AG	4 %23,5	4 %14,3	2 %33,3	
	AA	0 %0,0	1 %3,6	0 %0,0	
rs34739845 (n-%)	AA	12 %70,6	24 %85,7	4 %66,7	0,471
	AG	4 %23,5	4 %14,3	2 %33,3	
	GG	1 %5,9	0 %0,0	0 %0,0	
rs9646629 (n-%)	GG	3 %17,6	13 %46,4	3 %50,0	0,348
	CG	11 %64,7	11 %39,3	2 %33,3	
	CC	3 %17,6	4 %14,3	1 %16,7	
rs4485469 (n-%)	AA	4 %23,5	10 %35,7	0 %0,0	0,365
	AG	9 %52,9	10 %35,7	3 %50,0	
	GG	4 %23,5	8 %28,6	3 %50,0	

Hasta grubunda rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'leri ile metastaz ilişkisi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

*BRCA1/2* mutasyonu saptanan ve *BRCA1/2* mutasyonu saptanmayan hasta gruplarında metastaz durumu ile rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'lerinin arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup olmadığını belirlemek amacıyla Ki\_kare (Chi-Square Tests) testi kullanılarak istatistiksel olarak karşılaştırıldı (Tablo 8).

**Tablo 8. *BRCA1/2* mutasyonu saptanan ve *BRCA1/2* mutasyonu saptanmayan hasta gruplarında metastaz durumu ile rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'leri ilişkisi**

		Hasta (mutasyon var)				Hasta (mutasyon yok)		
		Metastaz yok	Metastaz var	Metastaz bilinmiyor	p değeri	Metastaz yok	Metastaz var	p değeri
rs4941129 (n-%)	TT	3 %50,0	4 %36,4	5 %83,3	0,156	6 %54,5	8 %47,1	0,696
	CT	2 %33,3	7 %63,6	1 %16,7		5 %45,5	8 %47,1	
	CC	1 %16,7	0 %0,0	0 %0,0		0 %0,0	1 %5,9	
rs884205 (n-%)	CC	3 %50,0	8 %72,7	3 %50,0	0,598	4 %36,4	11 %64,7	0,338
	AC	3 %50,0	2 %18,2	2 %33,3		6 %54,5	5 %29,4	
	AA	0 %0,0	1 %9,1	1 %16,7		1 %9,1	1 %5,9	
rs17069904 (n-%)	GG	4 %66,7	9 %81,8	4 %66,7	0,588	9 %81,8	14 %82,4	0,971
	AG	2 %33,3	1 %9,1	2 %33,3		2 %18,2	3 %17,6	
	AA	0 %0,0	1 %9,1	0 %0,0		-	-	

**Tablo 8. (devamı) *BRCA1/2* mutasyonu saptanan ve *BRCA1/2* mutasyonu saptanmayan hasta gruplarında metastaz durumu ile rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'leri ilişkisi**

rs34739845 (n-%)	AA	5 %83,3	9 %81,8	4 %66,7	0,724	7 %63,6	15 %88,2	0,228
	AG	1 %16,7	2 %18,2	2 %33,3		3 %27,3	2 %11,8	
	GG	-	-	-		1 %9,1	0 %0,0	
rs9646629 (n-%)	GG	2 %33,3	6 %54,5	3 %50,0	0,550	1 %9,1	7 %41,2	0,161
	CG	4 %66,7	3 %27,3	2 %33,3		7 %63,6	8 %47,1	
	CC	0 %0,0	2 %18,2	1 %16,7		3 %27,3	2 %11,8	
rs4485469 (n-%)	AA	4 %66,7	6 %54,5	0 %0,0	0,158	0 %0,0	4 %23,5	0,138
	AG	1 %16,7	3 %27,3	3 %50,0		8 %72,7	7 %41,2	
	GG	1 %16,7	2 %18,2	3 %50,0		3 %27,3	6 %35,3	

*BRCA1/2* mutasyonu saptanan ve *BRCA1/2* mutasyonu saptanmayan hasta gruplarında metastaz durumu ile rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'leri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

*BRCA1/2* mutasyonu saptanan ve *BRCA1/2* mutasyonu saptanmayan hasta gruplarında östrojen reseptör durumu ile rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'lerinin arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup olmadığını belirlemek amacıyla Ki\_kare (Chi-Square Tests) testi kullanılarak istatistiksel olarak karşılaştırıldı (Tablo 9).

**Tablo 9. BRCA1/2 mutasyonu saptanan ve BRCA1/2 mutasyonu saptanmayan hasta gruplarında östrojen reseptör durumu ile rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'leri ilişkisi**

		Hasta (mutasyon var)				Hasta (mutasyon yok)		
		Östrojen reseptör yok	Östrojen reseptör var	Östrojen reseptör bilinmiyor	p değeri	Östrojen reseptör yok	Östrojen reseptör var	p değeri
rs4941129 (n-%)	TT	2 %25,0	4 %50,0	6 %85,7	0,100	3 %50,0	11 %50,0	0,863
	CT	6 %75,0	3 %37,5	1 %14,3		3 %50,0	10 %45,5	
	CC	0 %0,0	1 %12,5	0 %0,0		0 %0,0	1 %4,5	
rs884205 (n-%)	CC	6 %75,0	4 %50,0	4 %57,1	0,153	3 %50,0	12 %54,5	0,675
	AC	2 %25,0	4 %50,0	1 %14,3		3 %50,0	8 %36,4	
	AA	0 %0,0	0 %0,0	2 %28,6		0 %0,0	2 %9,1	
rs17069904 (n-%)	GG	7 %87,5	6 %75,0	4 %57,1	0,516	5 %83,3	18 %81,8	0,932
	AG	1 %12,5	2 %25,0	2 %28,6		1 %16,7	4 %18,2	
	AA	0 %0,0	0 %0,0	1 %14,3		0 %0,0	0 %0,0	
rs34739845 (n-%)	AA	7 %87,5	7 %87,5	4 %57,1	0,267	5 %83,3	17 %77,3	0,860
	AG	1 %12,5	1 %12,5	3 %42,9		1 %16,7	4 %18,2	
	GG	0 %0,0	0 %0,0	0 %0,0		0 %0,0	1 %4,5	
rs9646629 (n-%)	GG	5 %62,5	2 %25,0	4 %57,1	0,205	1 %16,7	7 %31,8	0,223
	CG	3 %37,5	5 %62,5	1 %14,3		5 %83,3	10 %45,5	
	CC	0 %0,0	1 %12,5	2 %28,6		0 %0,0	5 %22,7	
rs4485469 (n-%)	AA	5 %62,5	4 %50,0	1 %14,3	0,413	0 %0,0	4 %18,2	0,512
	AG	2 %25,0	2 %25,0	3 %42,9		4 %66,7	11 %50,0	
	GG	1 %12,5	2 %25,0	3 %42,9		2 %33,3	7 %31,8	

*BRCA1/2* mutasyonu saptanan ve *BRCA1/2* mutasyonu saptanmayan hasta gruplarında östrojen reseptör durumu ile rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'leri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

*BRCA1/2* mutasyonu saptanan ve *BRCA1/2* mutasyonu saptanmayan hasta gruplarında progesteron reseptör durumu ile rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'lerinin arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup olmadığını belirlemek amacıyla Ki\_kare (Chi-Square Tests) testi kullanılarak istatistiksel olarak karşılaştırıldı (Tablo 10).

**Tablo 10. *BRCA1/2* mutasyonu saptanan ve *BRCA1/2* mutasyonu saptanmayan hasta gruplarında progesteron reseptör durumu ile rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'leri ilişkisi**

		Hasta (mutasyon var)			p değeri	Hasta (mutasyon yok)		
		Progesteron reseptör yok	Progesteron reseptör var	Progesteron reseptör bilinmiyor		Progesteron reseptör yok	Progesteron reseptör var	p değeri
rs4941129 (n-%)	TT	4 %36,4	2 %40,0	6 %85,7	0,085	3 %37,5	11 %55,0	0,503
	CT	7 %63,6	2 %40,0	1 %14,3		5 %62,5	8 %40,0	
	CC	0 %0,0	1 %20,0	0 %0,0		0 %0,0	1 %5,0	
rs884205 (n-%)	CC	7 %63,6	3 %60,0	4 %57,1	0,242	4 %50,0	11 %55,0	0,562
	AC	4 %36,4	2 %40,0	1 %14,3		4 %50,0	7 %35,0	
	AA	0 %0,0	0 %0,0	2 %28,6		0 %0,0	2 %10,0	
rs17069904 (n-%)	GG	10 %90,9	3 %60,0	4 %57,1	0,304	5 %62,5	18 %90,0	0,086
	AG	1 %9,1	2 %40,0	2 %28,6		3 %37,5	2 %10,0	
	AA	0 %0,0	0 %0,0	1 %14,3		-	-	

**Tablo 10. (devamı) BRCA1/2 mutasyonu saptanan ve BRCA1/2 mutasyonu saptanmayan hasta gruplarında progesteron reseptör durumu ile rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'leri ilişkisi**

rs34739845 (n-%)	AA	10 %90,9	4 %80,0	4 %57,1	0,237	6 %75,0	16 %80,0	0,691
	AG	1 %9,1	1 %20,0	3 %42,9		2 %25,0	3 %15,0	
	GG	-	-	-		0 %0,0	1 %5,0	
rs9646629 (n-%)	GG	6 %54,5	1 %20,0	4 %57,1	0,220	3 %37,5	5 %25,0	0,290
	CG	5 %45,5	3 %60,0	1 %14,3		5 %62,5	10 %50,0	
	CC	0 %0,0	1 %20,0	2 %28,6		0 %0,0	5 %25,0	
rs4485469 (n-%)	AA	6 %54,5	3 %60,0	1 %14,3	0,276	0 %0,0	4 %20,0	0,069
	AG	2 %18,2	2 %40,0	3 %42,9		7 %87,5	8 %40,0	
	GG	3 %27,3	0 %0,0	3 %42,9		1 %12,5	8 %40,0	

BRCA1/2 mutasyonu saptanan ve BRCA1/2 mutasyonu saptanmayan hasta gruplarında progesteron reseptör durumu ile rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'leri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

BRCA1/2 mutasyonu saptanan ve BRCA1/2 mutasyonu saptanmayan hasta gruplarında CerbB2 durumu ile rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'lerinin arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup olmadığını belirlemek amacıyla Ki\_kare (Chi-Square Tests) testi kullanılarak istatistiksel olarak karşılaştırıldı (Tablo 11).

**Tablo 11. BRCA1/2 mutasyonu saptanan ve BRCA1/2 mutasyonu saptanmayan hasta gruplarında CerbB2 durumu ile rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'leri ilişkisi**

		Hasta (mutasyon var)				Hasta (mutasyon yok)		
		CerbB2 reseptör yok	CerbB2 reseptör var	CerbB2 reseptör bilinmiyor	p değeri	CerbB2 reseptör yok	CerbB2 reseptör var	p değeri
rs4941129 (n-%)	TT	4 %50,0	2 %28,6	6 %75,0	0,250	7 %43,8	7 %58,3	0,564
	CT	3 %37,5	5 %71,4	2 %25,0		8 %50,0	5 %41,7	
	CC	1 %12,5	0 %0,0	0 %0,0		1 %6,3	0 %0,0	
rs884205 (n-%)	CC	4 %50,0	5 %71,4	5 %62,5	0,207	8 %50,0	7 %58,3	0,852
	AC	4 %50,0	2 %28,6	1 %12,5		7 %43,8	4 %33,3	
	AA	0 %0,0	0 %0,0	2 %25,0		1 %6,3	1 %8,3	
rs17069904 (n-%)	GG	6 %75,0	6 %85,7	5 %62,5	0,661	14 %87,5	9 %75,0	0,393
	AG	2 %25,0	1 %14,3	2 %25,0		2 %12,5	3 %25,0	
	AA	0 %0,0	0 %0,0	1 %12,5				
rs34739845 (n-%)	AA	7 %87,5	6 %85,7	5 %62,5	0,407	12 %75,0	10 %83,3	0,292
	AG	1 %12,5	1 %14,3	3 %37,5		4 %25,0	1 %8,3	
	GG	-	-	-		0 %0,0	1 %8,3	
rs9646629 (n-%)	GG	3 %37,5	3 %42,9	5 %62,5	0,278	4 %25,0	4 %33,3	0,890
	CG	5 %62,5	3 %42,9	1 %12,5		9 %56,3	6 %50,0	
	CC	0 %0,0	1 %14,3	2 %25,0		3 %18,8	2 %16,7	
rs4485469 (n-%)	AA	4 %50,0	4 %57,1	2 %25,0	0,291	2 %12,5	2 %16,7	0,540
	AG	1 %12,5	3 %42,9	3 %37,5		10 %62,5	5 %41,7	
	GG	3 %37,5	0 %0,0	3 %37,5		4 %25,0	5 %41,7	

*BRCA1/2* mutasyonu saptanan ve *BRCA1/2* mutasyonu saptanmayan hasta gruplarında CerbB2 durumu ile rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'leri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).





## TARTIŞMA

Günümüzde özellikle kadın cinsiyet grubunda çok önemli bir sağlık problemi olan ve ciddi mortalitelere yol açan meme kanserinin tedavisinde genetik çalışma sonuçlarının yeni yaklaşımlar sağlayacağı düşünülmektedir. Bu amaçla günümüze kadar genler, proteinler ve enzimlerle yapılan geniş çaplı araştırmalar meme kanseri patogeneğinde rol oynayan moleküler mekanizmaları ortaya çıkarmaya devam etmektedir. Ancak hala gün yüzüne çıkarılmayı bekleyen birçok mekanizmanın da olduğu düşünülmektedir. Son yıllardaki gelişmeler ile keşfedilen yeni genler ve proteinler hakkında elde edilen bilgilerdeki artış sadece kanserin moleküler mekanizmaları hakkında değil, aynı zamanda hem prognozun tespitinde hem de kanserin tedavisinde yaklaşımların geliştirilmesine temel oluşturmaktadır (77).

*TNFRSF11A* ve *RANKL* işlevsel olarak bağlantılı olmaları nedeniyle çeşitli özelliklerin belirlenmesindeki rolleri açısından sıklıkla birlikte düşünülen genlerdir. *RANKL* ve *RANK* genleri özellikle osteoklast aktivasyonu ve gelişimi için gereklidir. Bunun yanında *RANK*'ın meme bezi hücrelerinde eksprese edilmesi ve gebelik sırasında laktasyondaki meme bezi gelişimini kontrol etmesi nedeniyle meme tümörogenezine de katkı sağladığı bildirilmiştir (75).

Bugüne kadar meme kanseri üzerine etkisi olan birçok gen araştırılmasına rağmen *TNFRSF11A* geninin meme kanseri üzerine etkisiyle ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur.

Literatürde *TNFRSF11A*'nın meme kanseri üzerine etkisiyle ilgili Türkiye'de yapılmış ve rapor edilmiş bir çalışma sonucu bulunmamaktadır.

Tez çalışmamızda *TNFRSF11A* rs9646629, rs4485469, rs34739845, rs4941129, rs17069904, rs884205 SNP'lerinin *BRCA1/2* mutasyonu saptanan hastalarda, meme kanseri gelişim riski üzerine etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Li ve ark.'ları çalışmalarında, *RANK/RANKL* sinyalleşmesinin meme kanserogenezinde kilit bir rol oynadığını rapor etmişlerdir. Li ve ark.'larının çalışmasında *RANK* ekspresyonu tüm meme kanseri vakalarında görülmüştür ve *RANK*'ın hem tümörün histolojik olarak farklılaşması hem de çoklu organ metastazları ile anlamlı bir ilişkisi saptanmıştır. Ayrıca hormonal reseptör negatif meme kanserlerinde daha yüksek *RANK* mRNA düzeylerinin bulunması bulgusu diğer literatür çalışmalarıyla uyumlu bulunmuştur. Sonuçta bu çalışmada *RANK*'ın prognostik önemi bir kez daha görülmüştür (78).

Kiesel ve Kohl (2016)'un çalışmalarında ise, *RANKL/RANK* yolunun primer meme kanserinin gelişiminde önemli bir rol oynadığı klinik öncesi deneylerle gösterilmiştir. Bu genlerin insan meme dokusunda epitelyal proliferasyona ve tümörögenezise yol açtığı belirlenmiştir. Ayrıca hormonal reseptör negatif tümörlerde yüksek seviyede *RANK* ekspresyonu gözlenmiştir. *RANK*'ın aşırı ekspresyonunu içeren primer meme kanserinde acinar invaziv ve artmış tümöröjenik ve metastatik potansiyel gözlenmiştir. Hormona bağlı *RANK/RANKL* etkilerinin yanı sıra *RANK*'ın aynı zamanda erken metastazda meme kanserinin spontan formasyonuna sebep olduğu gözlemlenmiştir. *RANK/RANKL* knock down maruz bırakılmış bir grup farede fonksiyonel lobulo-alveolar gelişimindeki kusurlardan dolayı emzirmede ciddi bozukluklar meydana geldiği saptanmış ve *RANK/RANKL* fonksiyonunun, epitelyal hücre proliferasyonu ve hücre canlılığı için olduğu gibi lobulo-alveolar gelişimi içinde gerekli olduğu bu çalışma ile bir kez daha gösterilmiştir. Bu nedenle *RANK/RANKL* sistemine müdahale edilmesinin, meme kanserinin önlenme ve tedavisinde kullanılma potansiyeli olduğunu düşündürmüştür. Bu çalışma ayrıca *RANK/RANKL*'nin, tümör başlatıcı hücrelerin kendini yenileme fonksiyonunu kontrol ettiğini de göstermiştir (79).

İnsan primer meme tümörleri *RANK* ve *RANKL* eksprese ederler ve bu genler onkogen olarak kategorize edilmektedir. Primer ve sekonder meme kanserinde *RANKL/RANK*'ın rolü ile ilgili yapılan bir çalışmada *RANKL* ve *RANK*'ın apoptoz direnci, hücre proliferasyonu, tümör immünitésinin baskılanması, tümörögenesiz ve epitelyal mezenşimal değişimindeki

rolleri çalışılmıştır. Sonuç olarak, yine epitelyal mezenşimal değişimi içeren meme tümörögenезisinde *RANK*'ın rolü olduğu bulunmuştur. *RANK*, epitelyal mezenşimal değişimi indüklemekte, tümörögenез ve metastazı desteklemektedir. Bununla beraber bu sonuçlar *RANK* ve *RANKL*'nin otokrin bir davranış olarak meme tümörleri oluşumunda kritik rol oynadığını göstermektedir. Bunun bozulması meme bezi tümörü ve karsinogenезisin tedavisinde yeni bir yaklaşım olabilir. *RANK/RANKL* inhibitörlerinin kombine kullanımı ve antikanser ajanlar meme kanserli hastalar için pratik tedavi yaklaşımları oluşturmaktadır (80).

Genç ve gebe meme kanseri hastalarında *RANK* ve *RANKL* ekspresyonunu değerlendiren Breast Cancer Research'nin yaptığı bir çalışmada *RANK* ekspresyonu immün cevap ve proliferasyonun aktivasyonu ile ilişkili bulunmuştur. Ayrıca yine üçlü negatif tümörlerde yüksek *RANK* ekspresyonu görülmüştür. Çalışmadaki gen ekspresyon analizi, *RANK* ve *RANKL*'nin bilinen fonksiyonları ve meme karsinogenезisinde bunların potansiyel rolleri hakkındaki görüşleri doğrulayıcı veriler sağlamıştır (81).

*RANKL*'nin progesteron sinyalleşmesi için anahtar bir parakrin efektörü olduğu, *RANKL* ve reseptörü *RANK*'ın meme tümörögenезisine katkıda bulunduğu bulguları ile birlikte, yapılan bir çalışmada *BRCA1* mutasyon taşıyıcılarında *RANKL*'nin meme kanserini önlemek için potansiyel bir hedef olarak rolü araştırılmıştır. *BRCA1* mutasyon taşıyıcılarının histolojik olarak normal dokusunda iki alt grup luminal progenitör (*RANK* (+) ve *RANK* (-)) tespit edilmiştir ve *RANK* (+) hücrelerinin son derece proliferatif, büyük ölçüde anormal DNA onarımı yapmış olduğu ve bazal benzeri meme kanserine benzer bir moleküler imza taşıdığı gösterilmiştir. Bu veriler, bu kadınlarda *RANK* (-) atalarının değil, *RANK* (+) atalarının önemli bir hedef popülasyon olduğunu göstermektedir (82).

CGEMS (Cancer and Genetics Markers of Susceptibility) insiyatifi tarafından yürütölen genom boyu ilişkilendirme çalışmalarının sonuçları, *TNFRSF11A*'nın 5'-ucu yakınındaki yaygın genetik varyasyonunun (rs7226991) meme kanseri riski ile ilişkili olduğunu ileri sürmüştür. Genom boyu ilişkilendirme çalışmaları ile tanımlanan ve popülasyonlarda sıkı bir şekilde tekrarlanmış birkaç yaygın meme kanseri yatkınlığı alleli, *BRCA1* ve/veya *BRCA2* mutasyon taşıyıcıları arasında meme kanseri riski ile de ilişkili bulunmuştur.

Bunlarla ilgili olarak iki İspanyol olgu-kontrol çalışmasında rs7226991 genotiplendirilmiştir. Bu çalışma rs7226991'in yukarıdaki gözlemlerle tutarlı olarak İspanyol

genel popülasyonu (*BRCA1/2*) ile farklı nüfustan *BRCA2* mutasyon taşıyıcılarının meme kanseri riski ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca çalışmanın sonuçları CGEMS sonuçlarına paralel etkiler göstermiştir (76).

Sigl ve ark. (2010)'larının çalışmalarında, *TNFRSF11A*'nın içinde ve yakınında bulunan toplam 19 SNP genotiplendirilmiştir. Çalışmada, *TNFRSF11A*'nın hem menarş ve doğal menopoz başlangıcına muhtemel katkılar sağladığı bildirilmekte, hem de erken menarş yaşı ve doğal menopoz yaşının meme kanserinde riski artırdığı gösterilmiştir. Bu çalışmada bizim sonuçlarımıza benzer şekilde rs17069904, rs9646629, rs884205 varyasyonları için istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamamıştır.

Sigl ve ark.'ları, çalışmalarında *RANK/RANKL*, *BRCA1* mutasyon taşıyıcısı olan farelerde meme karsinogenezini önemli düzeyde etkilediğinden dolayı, kalıtsal *BRCA1* mutasyonuna sahip kadınlarda meme kanseri riskinin genetik düzenleyicileri olarak *TNFRSF11A*'ı kodlayan sorumlu lokusların rolünü belirlemişlerdir. Sigl ve ark.'ları, 15200 *BRCA1* ve 8200 *BRCA2* mutasyon taşıyıcısında 51 *TNFRSF11A* SNP'leri, genotiplenmiş olan "Collaborative Oncological Gene-environment Study (iCOGS)" verilerini kullanarak yapmış oldukları analiz sonucunda, 6 SNP'in (rs9646629, rs4485469, rs34739845, rs4941129, rs17069904, rs884205) ER-negatif veya triple negatif *BRCA1* mutasyon taşıyıcılarında meme kanseri riski ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir. Sigl ve ark.'ları ek olarak, *TNFRSF11A*'da iki SNP'in *BRCA2* mutasyon taşıyıcılarında meme kanseri riski ile ( $p < 0,05$ ) önemli ölçüde ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (2).

Sigl ve ark.'larının çalışma sonuçlarının aksine bizim çalışmamızda meme kanseri riski açısından rs9646629, rs4485469, rs34739845, rs4941129, rs17069904, rs884205 SNP'de istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

*TNFRSF11A* geni ve meme kanseri gelişim riski üzerine etkisi ile ilgili literatürde sınırlı sayıda çalışma rapor edilmiştir. *TNFRSF11A*'nın meme kanseri üzerine etkisinin aydınlatılabilmesi için daha fazla sayıda hasta (olgu) ile çalışma yapılmasına ihtiyaç olduğu öngörülmektedir.

*RANK*'ın meme bezi gelişiminde ve progestin kaynaklı meme karsinogenezinde önemli bir rol oynadığını gösteren önceki bulgulara dayanarak, Penninger ve ark.'ları ilk olarak meme kanseri oluşumunda *RANK* sinyalizasyonunun etkisini belirlemek için yola

çıkılmışlardır. Penninger ve ark.'ları, klinik ortamda *RANK/RANKL* sisteminin çok yönlü bir analizini yaparak iki önemli sonuca varmışlardır. İlk olarak, *RANK* ve *RANKL* yalnızca *BRCA1* veya *BRCA2* mutasyonları olan meme kanserleri tarafından yüksek seviyede eksprese edilmiştir ve *RANK* protein seviyeleri tümör derecesi ile şiddetli bir korelasyon sergilemiştir. İkinci olarak, *RANK* ekspresyon düzeylerini artıran yaygın *TNFRSF11A* SNP'leri, *BRCA1* veya *BRCA2* mutasyonu olan kadınlarda meme kanseri gelişiminde artmış bir risk ile ilişkili bulunmuştur.

Josef Penninger's grubu bu çalışmayla *BRCA1* veya *BRCA2* mutasyonu zemininde gelişmekte olan meme kanserinin *RANK/RANKL* sinyalleşmesinin bloke edilmesi ile önlenebileceğini öngörmektedir. Bu bulgular, dünya çapında milyonlarca kadının hayatını değiştirerek, meme kanseri profilaksisi için yeni bir dönemin önünü açabilir (13). Farklı popülasyonlarda *BRCA1* ve/veya *BRCA2* patojenik varyasyon taşıyıcısı meme kanseri hastalarında *TNFRSF11A* geni varyasyonlarının meme kanseri gelişim riski üzerine etkilerinin araştırılmasının tedavi protokollerine katkı sağlayacağı öngörüsündeyiz. Bu bağlamda çalışmamız *BRCA1* ve/veya *BRCA2* patojenik varyasyon taşıyıcısı Türk meme kanseri hastalarında *TNFRSF11A* geni varyasyonlarının meme kanseri gelişim riski üzerine etkilerinin araştırılacağı ilk literatür çalışması olup, sonuçları ile evrensel bilime katkı sağlayacaktır.

## SONUÇLAR

*BRCA1* veya *BRCA2* mutasyonu zemininde gelişmekte olan meme kanserinin RANK/RANKL sinyalleşmesinin bloke edilmesi ile önlenebileceği ve farklı populasyonlarda *BRCA1* ve/veya *BRCA2* patojenik varyasyon taşıyıcısı meme kanseri hastalarında *RANK* geni varyasyonlarının meme kanseri gelişim riski üzerine etkilerinin araştırılmasının, tedavi protokollerine katkı sağlayacağı öngörüsüyle çalışmamızda Trakya Bölgesi'nde yaşayan, *BRCA1* ve/veya *BRCA2* patojenik varyasyonu saptanan meme kanserli olgularda, *TNFRSF11A* geni rs9646629, rs4485469, rs34739845, rs4941129, rs17069904, rs884205 SNP'lerinin meme kanseri gelişim riski üzerine etkisini araştırdık.

Elde ettiğimiz sonuçlar aşağıdaki gibi özetlenebilir;

- 1- Hasta (*BRCA1/2* mutasyonu saptanan ve *BRCA1/2* mutasyonu saptanmayan) ve kontrol grubunda rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'lerinin genotip frekansları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).
- 2- *BRCA1/2* mutasyonu saptanan ve *BRCA1/2* mutasyonu saptanmayan hasta grubu arasında rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'lerinin genotip frekansları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).
- 3- Hasta grubunda rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'leri ile metastaz ilişkisi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

4- *BRCA1/2* mutasyonu saptanan ve *BRCA1/2* mutasyonu saptanmayan hasta grupları arasında ve kendi içlerinde metastaz durumu ile rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'leri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

5- *BRCA1/2* mutasyonu saptanan ve *BRCA1/2* mutasyonu saptanmayan hasta grupları arasında ve kendi içlerinde östrojen reseptör durumu ile rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'leri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

6- *BRCA1/2* mutasyonu saptanan ve *BRCA1/2* mutasyonu saptanmayan hasta grupları arasında ve kendi içlerinde progesteron reseptör durumu ile rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'leri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

7- *BRCA1/2* mutasyonu saptanan ve *BRCA1/2* mutasyonu saptanmayan hasta grupları arasında ve kendi içlerinde CerbB2 durumu ile rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'leri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

Sonuç olarak yapılan analizlerde *TNFRSF11A* geni rs9646629, rs4485469, rs34739845, rs4941129, rs17069904, rs884205 SNP'leri ile *BRCA1* veya *BRCA2* patojenik varyasyon taşıyıcısı meme kanserli hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p >0.05$ ).

Genetik çalışma sonuçları arasındaki farklılıklar popülasyonlar arasındaki etnik farklılıklardan kaynaklanabilmektedir. Bu bağlamda *BRCA1/2* mutasyonu nedeni ile oluşan meme kanserinin etyolojisinde *TNFRSF11A* varyasyonlarının bir rolünün olabileceğinin, örneklem sayısının artırılarak Türkiye'de farklı merkezlerde yapılacak yeni çalışmalar ile desteklenmesi gerektiği öngörüsündeyiz.

## ÖZET

Meme kanseri kadınlarda en sık görülen malignitedir ve kadınlarda kanserden ölümlerin başlıca nedenlerinden birisidir. Etiyolojisinde çevresel faktörlere maruz kalma, endojen hormonlar ya da genetik yatkınlık gibi çok sayıda faktör rol oynar. Genetik yatkınlıktan sorumlu olan *BRCA1* ve *BRCA2* genlerindeki germline mutasyonlar risk faktörleri olarak en başta gelmektedir. *TNFRSF11A*, osteoklast aktivasyonu ve gelişimi için gerekli bir gendir. Aynı zamanda, gebelik sırasında meme bezinin laktasyonunun formasyonu için de temel teşkil eder. Yapılan çalışmalarda *TNFRSF11A*, *BRCA1* mutasyon taşıyıcısı olan farelerde meme karsinogenezini önemli düzeyde etkilediğinden dolayı, kalıtsal *BRCA1/2* mutasyonuna sahip kadınlarda meme kanseri riskinin genetik düzenleyicileri olarak *TNFRSF11A*'yı kodlayan sorumlu lokusların rolü belirlenmiştir. Bu nedenle *BRCA1/2* mutasyonu nedeni ile oluşan meme kanserinin etyolojisinde *TNFRSF11A*'nın bir rolünün olabileceği öngörülmektedir.

Çalışmamızda, *BRCA1* veya *BRCA2* patojenik varyasyon taşıyıcısı meme kanserli olgularda, *TNFRSF11A* geni rs9646629, rs4485469, rs34739845, rs4941129, rs17069904, rs884205 tek nükleotid polimorfizmlerinin meme kanseri gelişim riski üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya *BRCA1* veya *BRCA2* patojenik varyasyon saptanan 23 hasta ve *BRCA1* veya *BRCA2* patojenik varyasyon saptanmayan 28 hasta, kontrol grubu olarak da 55 sağlıklı kişi dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen hasta ve kontrol grubunda periferik venöz kandan genomik DNA izolasyonları yapılarak, kullanılan kitin protokolüne



uygun olarak gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemiyle, tek nükleotid polimorfizmleri için allelik diskriminasyon yapılarak genotipler belirlendi.

Yapılan analizler sonucunda *TNFRSF11A* geni rs9646629, rs4485469, rs34739845, rs4941129, rs17069904, rs884205 tek nükleotid polimorfizmleri ile *BRCA1* veya *BRCA2* patojenik varyasyon taşıyıcısı meme kanserli hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p > 0.05$ ).

**Anahtar Kelimeler:** *TNFRSF11A*, meme kanseri, *BRCA1*, *BRCA2*, tek nükleotid polimorfizmi



**INVESTIGATING THE EFFECTS OF *TNFRSF11A* GENE  
VARIATIONS ON THE RISK OF THE BREAST CANCER  
DEVELOPMENT ON PATIENTS CARRYING *BRCA1* AND *BRCA2*  
MUTATIONS**

**SUMMARY**

Breast cancer is a malignant cancer type most often seen on females and is responsible for most of the deaths in women by cancer. A lot of factors are involved in its etiology, such as environmental factors, endogenous hormones or genetic predisposition. One of the leading risk factors are the germline mutations that happens in *BRCA1* and *BRCA2* genes. *TNFRSF11A* is a gene required for osteoclasts activation and evolution. At the same time it is the basis for formation of lactation in mammary gland during pregnancy. In studies, because *TNFRSF11A*, *BRCA1* triggered breast cancerogenesis significantly in mutation carrying rats, the loci responsible for coding *RANK* as breast cancer risks genetic regulator in females with genetic *BRCA1/2* mutation was identified. For this reason it is thought that *TNFRSF11A* might play a role in breast cancer etiologies that happen because of *BRCA1/2* mutation.

In our research, the aim was to investigate the effects of *TNFRSF11A* gene rs9646629, rs4485469, rs34739845, rs4941129, rs17069904, rs884205 single nucleotide polymorphisms on breast cancer development in *BRCA1* or *BRCA2* pathogenic variation carrier phenomenon

with breast cancer. The research was conducted on 23 patients diagnosed with *BRCA1* or *BRCA2* pathogenic variation and 28 patients that didn't have any trace of *BRCA1* or *BRCA2* pathogenic variation, and 55 healthy people included as a control group. Genotypes were determined on patients and control group included in the research by isolating the DNA from peripheral venous blood, using the polymerases chain reaction system in accordance with the protocol of the kit used, and by allelic discrimination for single nucleotide polymorphisms.

In the light of the analyses performed, no statistically significant differences were found between *TNFRSF11A* gene rs9646629, rs4485469, rs34739845, rs4941129, rs17069904, rs884205 single nucleotide polymorphisms and breast cancer patients carrying *BRCA1* or *BRCA2* pathogenic variation.

**Key words:** *TNFRSF11A*, breast cancer, *BRCA1*, *BRCA2*, single nucleotide polymorphism

## KAYNAKLAR

1. Mehrgou A, Akouchekian M. The importance of *BRCA1* and *BRCA2* genes mutations in breast cancer development. *Med J Islam Repub Iran* 2016;30(369):1-12.
2. Sigl V, Owusu Boaitey K, Joshi PA, Kavirayani A, Wirnsberger G, Novatchkova M, et al. *RANKL/RANK* control *BRCA1* mutation-driven mammary tumors. *Nature* 2016;1-14.
3. Cabioglu N. Meme hastalıkları kitabı. Özmen V, Müslümanoğlu M (Editörler). Memenin anatomisi, fizyolojisi'nde. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2012. s.3-16.
4. Ünal G. Meme hastalıkları. Ünal G, Ünal H (Editörler). Memenin cerrahi anatomisi'nde. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2001. s.19-23.
5. Taşmalı MK. Meme Lezyonlarında Difüzyon-Stır Ağırlıklı Manyetik Rezonans Bulguları İle Patolojik Korelasyon (tez). İstanbul: İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2009.
6. Guyton AC, Hall JE. *Textbook of medical physiology*. 11<sup>th</sup> ed. Pennsylvania: Elsevier Saunders, 2006:1011-18.
7. Freeman ME, Kanyicska B, Lerant A, Nagy G. Prolactin: structure, function, and regulation of secretion. *Physiol Rev* 2000;80(4):1523-631.
8. Bussolati G, Cassoni P, Ghisolfi G, Negro F, Sapino A. Immunolocalization and gene expression of oxytocin receptors in carcinomas and non-neoplastic tissues of the breast. *Am J Pathol* 1996;148(6):1895–903.
9. Cabioglu N. Meme hastalıkları kitabı. Özmen V, Müslümanoğlu M (Editörler). Memenin anatomisi, fizyolojisi'nde. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2012. s.3-16.
10. Lippman ME. Breast Cancer. In: Longo DL, editor. *Harrison's Hematology and Oncology*. New York McGraw Hill; 2010. p.459-71.

11. Tükün A, Akay GG. Tıbbi genetik ve klinik uygulamaları. Dündar M (Editör). Kanser Genetiği'nde. Kayseri: Ufuk Kitap Kırtasiye Yayıncılık Tic. Tur. Ltd. Şti.; 2016. s. 1221-290.
12. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. CA Cancer J Clin 2005;55:74-108.
13. Galluzzi L, Buqué A, Kroemer G. Prevention of breast cancer by RANKL/RANK blockade. Nature 2016;26:751-752.
14. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. CA Cancer J Clin 2010;60:277-300.
15. Anderson TJ, Lamb J, Donnan P, Alexander FE, Huggins A, Muir BB, et al. Comparative pathology of breast cancer in a randomized trial of screening. Br J Cancer 1991;64:108-113.
16. Tuncer AM. Cancer Control in Turkey. Ankara: Turkish Republic Ministry of Health, Dept. of Cancer Control 2008;(740):5-9.
17. Koçak S, Çelik L, Özbaş S, Dizbay Sak S, Tükün A, Yalçın B. Meme kanserinde risk faktörleri, riskin değerlendirilmesi ve prevansiyon: İstanbul 2010 konsensus raporu. The Journal of Breast Health 2011;7(2):47-67.
18. Özmen V, Fidaner C, Aksaz E, Bayol Ü, Dede İ, Göker E, ve ark. Türkiye'de meme kanseri erken tanı ve tarama programlarının hazırlanması. Meme Sağlığı Dergisi 2009;5(3):125-134.
19. Uluslararası Kanser Araştırmaları Kurumu (IARC). Dünya Kanser Raporu. Lyon: WHO; 2008.
20. Bastani R, Maxwell AE, Bradford C, Das, IP, Yan, KX. Tailored risk notification for women with a family history of breast cancer. Preventive Medicine 1999;29:355-364.
21. Breast cancer and hormone replacement therapy [editorial]. Lancet 1997;350:1042-1043.
22. Rossing MA, Daling JR, Weiss NS, Moore DE, Self SG. Risk of breast cancer in a cohort of infertile women. Gynecol Oncol 1996;60:3-7.
23. Michels KB, Xue F, Colditz GA, Willett WC. Induced and spontaneous abortion and incidence of breast cancer among young women: a prospective cohort study. Arch Intern Med 2007;167:814-820.
24. Harman Ö. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Medikal Onkoloji Bölümü'ne Başvuran Meme Kanseri Hastalarında Risk Faktörlerinin Dağılımı (tez). Ankara: Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2007.
25. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58,209 women with breast cancer and 101,986 women without the disease. Lancet 2001;358:1389-99.

26. Eti Aslan F, Gürkan A. Kadınlarda meme kanseri risk düzeyi. *Meme Sağlığı Dergisi* 2007;3(2):63-68.
27. Saslow D, Boetes C, Burke W, Harms S, Leach MO, Lehman CD, et al. American Cancer Society guidelines for breast screening with MRI as an adjunct to mammography. *CA: a cancer journal for clinicians* 2007;57(2):75-89.
28. Wang DY, DeStavola BL, Allen DS, Fentiman IS, Bulbrook RD, Hayward JL, et al. Breast cancer risk is positively associated with height. *Breast Cancer Research and Treatment* 1997;43(2):123-128.
29. John EM, Kelsey JL. Radiation and other environmental exposures and breast cancer. *Epidemiol Rev* 1993;15(1):157-162.
30. John EM, Phipps AI, Knight JA, Milne RL, Dite GS, Hopper JL, Andrulis IL, Southey M, et al. Medical radiation exposure and breast cancer risk: findings from the Breast Cancer Family Registry. *Int J Cancer* 2007;121:386-394.
31. Chlebowski RT, Hendrix SL, Langer RD, Stefanick ML, Gass M, Lane D, et al. WHI Investigators. Influence of estrogen plus progestin on breast cancer and mammography in healthy postmenopausal women: the women's health initiative randomized trial. *JAMA* 2003;289(24):3243-3253.
32. Million Women Study Collaborators. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the million women study. *Lancet* 2003;362:419-427.
33. WHI Investigators. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the women's health initiative randomized controlled trial. *JAMA* 2002;288(3):321-333.
34. Marchbanks PA, McDonald JA, Wilson HG, Folger SG, Mandel MG, Daling JR, et al. Oral contraceptives and the risk of breast cancer. *N Engl J Med* 2002;346(26):2025-2032.
35. Terry MB, Zhang FF, Kabat G, Britton JA, Teitelbaum SL, Neugut AI, et al. Lifetime alcohol intake and breast cancer risk. *Ann Epidemiol* 2006;16:230-240.
36. Lahmann PH, Friedenreich C, Schuit AJ, Salvini S, Allen NE, Key TJ, et al. Physical activity and breast cancer risk: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16(1):36-42.
37. Cho E, Chen WY, Hunter DJ, Stampfer MJ, Colditz GA, Hankinson SE, Willett WC. Red meat intake and risk of breast cancer among premenopausal women. *Arch Intern Med* 2006;166:2253-2259.
38. Bertone-Johnson ER, Chen WY, Holick MF, Hollis BW, Colditz GA, Willett WC, et al. Plasma 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14(8):1991-1997.

39. Lin J, Cook NR, Albert C, Zaharris E, Gaziano JM, Van Denburgh M, Buring JE, Manson JE. Vitamins C and E and beta carotene supplementation and cancer risk: a randomized controlled trial. *J Natl Cancer Inst* 2009;101:14-23.
40. Kushi LH, Fee RM, Sellers TA, Zheng W, Folsom AR. Intake of vitamins A, C, and E and postmenopausal breast cancer. The Iowa Women's Health Study. *Am J Epidemiol* 1996;144(2):165-174.
41. Ganmaa D, Willett WC, Li TY, Feskanich D, van Dam RM, Lopez-Garcia E, et al. Coffee, tea, caffeine and risk of breast cancer: a 22-year follow-up. *Int J Cancer* 2008;122:2071-2076.
42. Cui Y, Miller AB, Rohan TE. Cigarette smoking and breast cancer risk: update of a prospective cohort study. *Breast Cancer Res Treat* 2006;100:293-299.
43. Mahoney MC, Bevers T, Linos E, Willett WC. Opportunities and strategies for breast cancer prevention through risk reduction. *CA Cancer J Clin* 2008;58:347-371.
44. Eliassen AH, Colditz GA, Rosner B, Willett WC, Hankinson SE. Adult weight change and risk of postmenopausal breast cancer. *JAMA* 2006;296(2):193-201.
45. Boyd NF, Guo H, Martin LJ, Sun L, Stone J, Fishell E, et al. Mammographic density and the risk and detection of breast cancer. *N Engl J Med* 2007;356:227-236.
46. Tamimi RM, Byrne C, Colditz GA, Hankinson SE. Endogenous hormone levels, mammographic density, and subsequent risk of breast cancer in postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst* 2007;99:1178-1187.
47. Güllüoğlu BM. Meme hastalıklarına yaklaşım: Meme kanseri için risk değerlendirmesi ve tarama stratejileri. *Türk Aile Hek Derg* 2008;12(1):9-17.
48. Fisher B, Dignam J, Wolmark N, Wickerham DL, Fisher ER, Mamounas, et al. Tamoxifen in treatment of intraductal breast cancer: National surgical adjuvant breast and bowel project B-24 randomized controlled trial. *Lancet* 1999;353:1993-2000.
49. Rosen PP, Kosloff C, Lieberman PH, Adair F, Braun DW. Lobular carcinoma in situ of the breast. Detailed analysis of 99 patients with average follow up of 24 years. *Am J Surg Pathol* 1978;2(3):225-251.
50. Marshall LM, Hunter DJ, Connolly JL, Schnitt SJ, Byrne C, London SJ, et al. Risk of breast cancer associated with atypical hyperplasia of lobular and ductal types. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997;6:297-301.
51. Degnim AC, Visscher DW, Berman HK, Frost MH, Sellers TA, Vierkant RA, et al. Stratification of breast cancer risk in women with atypia: a Mayo cohort study. *J Clin Oncol* 2007;25(19):2671-2677.
52. Tavassoli FA, Devilee P. World Health Organization Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs. 2<sup>nd</sup> ed. Lyon: IARC Press, 2003:112-9.

53. Winter SF, Hunter KW. Mouse modifier genes in mammary tumorigenesis and metastasis. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2008;13:337–342.
54. Andrade RC, dos Santos ACE, de Aguirre Neto JC, Nevado J, Lapunzina P, Vargas FR. TP53 and CDKN1A mutation analysis in families with Li-Fraumeni and Li-Fraumeni like syndromes. *Fam Cancer* 2017;16:243-248.
55. Chow LML, Baker SJ. PTEN function in normal and neoplastic growth. *Cancer Lett* 2006;241:184–96.
56. Gene. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/> 26.04.2017
57. Dalay N, Yazıcı H. Meme hastalıkları kitabı. Özmen V (Editör). Meme kanserinde biyoloji ve genetik'te. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2012. s.205-220.
58. Lim W, Hearle N, Shah B, Murday V, Hodgson SV, Lucassen A, et al. Further observations on LKB1/STK11 status and cancer risk in Peutz–Jeghers syndrome. *Br J Cancer* 2003;89:308–13.
59. Breast Cancer Association Consortium. Commonly studied single-nucleotide polymorphisms and breast cancer: results from the Breast Cancer Association Consortium. *J Natl Cancer Inst* 2006;98(19):1382–96.
60. Easton DF, Pooley KA, Dunning AM, Pharoah PD, Thompson D, Ballinger DG, et al. Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci. *Nature* 2007;447(7148):1087–93.
61. Antoniou AC, Pharoah PDP, McMullan G, Day NE, Stratton MR, Peto J, et al. A comprehensive model for familial breast cancer incorporating *BRCA1*, *BRCA2* and other genes. *Br J Cancer* 2002;86(1):76–83.
62. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Thompson & Thompson Tıbbi genetik (çeviri: D. Aktaş). Genetik ve kanser'de. Ankara, İstanbul: Güneş Kitabevi; 2005. s. 311-333.
63. Yiannakopoulou E. Etiology of familial breast cancer with undetected *BRCA1* and *BRCA2* mutations: clinical implications. *Cell Oncol* 2014;37:1–8.
64. Venkitaraman AR. Cancer susceptibility and the functions of *BRCA1* and *BRCA2*. *Cell* 2002;108:171–182.
65. Arai M, Utsunomiya J, Miki Y. Familial breast and ovarian cancers. *Int J Clin Oncol* 2004;9:270–282.
66. Lalloo F, Evans DG. Familial breast cancer. *Clin Genet* 2012;82:105–114.
67. King MC, Marks JH, Mandell JB. Breast and Ovarian Cancer Risks Due to Inherited Mutations in *BRCA1* and *BRCA2*. *Science* 2003;302:643-646.
68. Hughes DC. Use of association studies to define genetic modifiers of breast cancer risk in *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers. *Fam Cancer* 2008;7(3):233-44.



69. Nathanson KL, Weber BL. 'Other' breast cancer susceptibility genes: searching for more holy grail. *Hum Mol Genet* 2001;10(7):715-20.
70. Antoniou AC, Sinilnikova OM, Simard J, Le'one' M, Dumont M, Neuhausen SL, et al. RAD51 135G>C modifies breast cancer risk among BRCA2 mutation carriers: results from a combined analysis of 19 studies. *Am J Hum Genet* 2007;81:1186–1200.
71. Ripperger T, Gadzicki D, Meindl A, Schlegelberger B. Breast cancer susceptibility: current knowledge and implications for genetic counselling. *Eur J Hum Genet* 2009;17(6):722-31.
72. Nadeau JH. Modifier genes and protective alleles in humans and mice. *Current Opinion in Genetics & Development* 2003;13:290–295.
73. Kurban S, Mehmetoğlu İ. Osteoprotegerin, Rank ve Rank Ligandı. *Türk Biyokimya Dergisi* 2007;32(4):178-184.
74. Boyce BF, Xing L. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis Research & Therapy* 2007;9(Suppl 1):1-7.
75. Lu Y, Liu P, Recker RR, Deng H-W, Dvornyk V. TNFRSF11A and TNFSF11 are associated with age at menarche and natural menopause in white women. *Menopause* 2010;17(5):1048-1054.
76. Bonifaci N, Palafox M, Pellegrini P, Osorio A, Benitez J, Peterlongo P, et al. Evidence for a link between TNFRSF11A and risk of breast cancer. *Cancer Breast Cancer Res Treat* 2011;129:947-954.
77. Fardmanesh H, Shekari M, Movafagh A, Alizadeh Shargh S, Poursadegh Zonouzi AA, Shakerizadeh S, et al. Upregulation of the double-stranded RNA binding protein DGCR8 in invasive ductal breast carcinoma. *Gene* 2016;581(2):146–151.
78. Li R, Zhang K, Penedo TL, Kragel CP, Grizzle WE, Hameed O, et al. The RANK Pathway in Advanced Breast Cancer: Does Src Play a Role? *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2016;24(1):42–50.
79. Kiesel L, Kohl A. Role of the RANK/RANKL pathway in breast cancer. *Maturitas* 2016;86:10–16.
80. Yoneda T, Tanaka S, Hata K. Role of RANKL/RANK in primary and secondary breast cancer. *World J Orthop* 2013;4(4):178-185.
81. Azim HA, Peccatori FA, Brohée S, Branstetter D, Loi S, Viale G, et al. RANK-ligand (RANKL) expression in young breast cancer patients and during pregnancy. *Breast Cancer Research* 2015;17(24):1-9.
82. Nolan E, Vaillant F, Branstetter D, Pal B, Giner G, Whitehead L, et al. RANK ligand as a potential target for breast cancer prevention in *BRCA1*-mutation carriers. *Nat Med* 2016;22(8):933-9.

## ŞEKİLLER LİSTESİ

<b>Şekil 1.</b>	Meme bezi anatomik yapısı.....	4
<b>Şekil 2.</b>	<i>BRCA1</i> ve <i>BRCA2</i> genlerinin kromozomlar üzerindeki lokasyonları.....	16
<b>Şekil 3.</b>	<i>TNFRSF11A</i> geninin 18. kromozom üzerindeki lokasyonu.....	22

## TABLolar LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b>	Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real-Time PCR) işlemindeki bileşenler.....	27
<b>Tablo 2.</b>	Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real-Time PCR) aşamaları ve protokolü.....	28
<b>Tablo 3.</b>	Hasta ve kontrol grubunun yaş demografik özelliklerine göre dağılımı.....	29
<b>Tablo 4.</b>	Çalışmaya dahil edilen <i>TNFRSF11A</i> geni SNP'leri .....	30

<b>Tablo 5.</b>	Hasta ve kontrol grubunda rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'lerinin frekanslarının karşılaştırılması.....	31
<b>Tablo 6.</b>	<i>BRCA1/2</i> mutasyonu saptanan ve saptanmayan hasta grupları arasında, rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'lerinin genotip frekanslarının karşılaştırılması.....	32
<b>Tablo 7.</b>	Hasta grubunda rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'leri ile metastaz ilişkisinin karşılaştırılması.....	34
<b>Tablo 8.</b>	<i>BRCA1/2</i> mutasyonu saptanan ve <i>BRCA1/2</i> mutasyonu saptanmayan hasta gruplarında metastaz durumu ile rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'leri ilişkisi.....	35
<b>Tablo 9.</b>	<i>BRCA1/2</i> mutasyonu saptanan ve <i>BRCA1/2</i> mutasyonu saptanmayan hasta gruplarında östrojen reseptör durumu ile rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'leri ilişkisi.....	37
<b>Tablo 10.</b>	<i>BRCA1/2</i> mutasyonu saptanan ve <i>BRCA1/2</i> mutasyonu saptanmayan hasta gruplarında progesteron reseptör durumu ile rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'leri ilişkisi .....	38
<b>Tablo 11.</b>	<i>BRCA1/2</i> mutasyonu saptanan ve <i>BRCA1/2</i> mutasyonu saptanmayan hasta gruplarında CerbB2 durumu ile rs4485469, rs9646629, rs34739845, rs17069904, rs884205, rs4941129 SNP'leri ilişkisi.....	40

## ÖZGEÇMİŞ

10.06.1991'de Merkez/Siirt'te doğdum. İlk ve ortaöğretimi, İstanbul Ressam Şevket Dağ İlköğretim Okulu'nda tamamladım. 2010 yılında İstanbul Bahçelievler Lisesi'nden mezun oldum. 2011 yılında Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nü kazandım. 2011-2015 yıllarında lisans eğitimimi tamamlayarak 2015 Eylül ayında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladım.

## **EKLER**

**EK-1**

### **BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU**

Bir araştırma projesine davet edilmektesiniz. Bu araştırmanın yürütülmesi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun 28.09.2016 tarih ve 16/03 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Araştırmaya katılmaya karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını anlamanız çok önemlidir.

Araştırmaya katılım tamamen gönüllülük ilkesine bağlı olup katılmayı reddetmeniz herhangi bir cezaya ya da elde edilecek herhangi bir yararın kaybedilmesine kesinlikle yol açmayacaktır.

Aynı şekilde araştırmaya katılmayı kabul ettikten sonra da araştırmanın herhangi bir yerinde hiçbir neden göstermeksizin herhangi bir zarar ya da elde edilmesi beklenen bir yarar kaybına yol açmadan araştırmadan çekilebilirsiniz.

Araştırma kapsamında yapılan işlemlerin mali giderleri araştırmacılar ya da destekleyici (Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi-TÜBAP) tarafından karşılanacak olup size ya da sosyal güvenlik kurumunuza hiçbir mali yük getirmeyecektir.

Aşağıdaki bilgileri dikkatlice okuyun ve araştırmaya katılmak isteyip istemediğinize karar vermek için lütfen biraz düşünün.

- **Araştırmanın bilimsel adı:** TNFRSF11A Geni Varyasyonlarının *BRCA1* ve/veya *BRCA2* Mutasyonu Saptanan Hastalarda, Meme Kanseri Gelişim Riski Üzerine Etkilerinin Araştırılması
- **Araştırmanın anlaşılabilir basit adı:** Meme kanseri riskini arttıran genetik değişikliklerin araştırılması.
- **Sorumlu Araştırmacının adı ve görev yeri:** Doç. Dr. Hakan GÜRKAN, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, EDİRNE
- **Araştırmanın amacı:** Meme kanseri gelişimi riskini arttıran genetik varyasyonların araştırılması.
- **Araştırmanın niteliği (klinik, laboratuvar, epidemiyolojik, tez çalışması vb.):** Tez çalışması.
- **Araştırmanın başlama tarihi ve öngörülen süresi:** 01.11.2016/12 ay
- **Araştırmaya katılması beklenen gönüllü sayısı:** Örneklem büyüklüğü 110 olgu (55 hasta, 55 kontrol).
- **Araştırma sırasında uygulanacak olan invaziv yöntemler dahil olmak üzere gönüllüye uygulanacak yöntem, girişim ve tedavilerin tümü:** Meme kanseri tanısı alan vakalardan ve sağlıklı kontrol grubuna dahil olan olgulardan rutin genetik tetkik amacı ile EDTA'lı tüpe 5 ml periferik venöz kan alınacaktır.
- **Araştırmanın deneysel kısımları:** Alınmış olan periferik venöz kandan DNA elde edilecek ve DNA örneklerinde TNFRSF11A genine ait altı tane varyasyon araştırılacaktır.
- **Farklı uygulama ve girişimler için gönüllülerin araştırma gruplarına rastgele atanma olasılığı:** Bulunmamaktadır.
- **Katılımcının araştırmaya dahil edilme nedeni:** Meme kanseri gelişimine genetik yatkınlığının araştırılması amacı ile çalışmaya dahil edilmek istenmektedir.
- **Araştırmadan doğrudan gönüllü için beklenen yarar:** Doğrudan yarar beklenmemektedir. Çalışma sonucunda anlamlı bir ilişki saptanması durumunda hastalara genetik danışma verilecektir. Bilimsel olarak elde edilen sonuçlar evrensel bir katkı sağlayacaktır.
- **Gönüllünün sorumlulukları:** Herhangi bir sorumluluğu bulunmamaktadır.

- **Gönüllünün (araştırma hamilelerde veya lohusalarda yapılacaksa ise embriyo, fetüs veya süt çocuklarının da) maruz kalabilecekleri riskler veya rahatsızlıklar:** Çalışmaya dahil olan olgulardan rutin tetkikler için alınacak olan periferik venöz kanın bir miktarı (200 µl) çalışmamızda kullanılacağı için gönüllünün maruz kalabileceği risk ve/veya rahatsızlık bulunmamaktadır.
- **Risklere karşı alınan önlemler:** Çalışmamızda önlem almayı gerektirecek herhangi bir risk bulunmamaktadır.
- **Gönüllüye alternatif olarak uygulanabilecek olan diğer yöntemler ve bunların olası yarar ve zararları:** Alternatif başka bir yöntem uygulanmayacaktır.
- **Araştırmaya bağlı olarak bir zarar oluştuğunda verilecek tazminat ve sağlanacak tedaviler:** Herhangi bir girişimsel işlem yapılmayacağından zarar oluşumu beklenmemektedir.
- **Gönüllülere yapılacak ulaşım, yemek gibi masraflara ilişkin ödemeler:** Çalışma size herhangi bir maddi yük getirmeyecektir.
- **Gönüllünün araştırmaya katılımının sona erdirilmesini gerektirecek durumlar veya nedenler:** Gönüllü dilediği zaman kendi rızası ile araştırmadan çıkabilir.
- **Araştırma sonunda gönüllülere bilgi verilecek mi?** Çalışma sonucunda anlamlı bir ilişki saptanması durumunda hastalara genetik danışma verilecektir.
- **Gönüllülerin araştırma hakkında, kendileri hakkında ya da araştırmayla ilgili herhangi bir beklenmedik olay hakkında daha fazla bilgi edinebilmesi için temasa geçebileceği kişi ve kendisine günün 24 saatinde erişebileceği telefon numarası:** Doç. Dr. Hakan GÜRKAN, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, EDİRNE. Tel: 0/284/2357641/2330, gsm: 0/533/2188005
- **Gönüllülerden elde edilecek olan biyolojik materyallerin hangi amaçlarla kullanılacağı:** DNA elde etmek için periferik kan örneği kullanılacaktır.
- **Gönüllülerden elde edilecek biyolojik materyaller üzerinde genetik araştırma yapılabilmesi için onay:**

“TNFRSF11A geni varyasyonlarının *BRCA1* ve/veya *BRCA2* mutasyonu saptanan hastalarda, meme kanseri gelişim riski üzerine etkilerinin araştırılması [Meme kanseri riskini arttıran genetik değişikliklerin araştırılması]” **araştırması kapsamında alınan biyolojik örneklerimin (kan, idrar, vb...);**

- Sadece yukarıda bahsi geçen araştırmada kullanılmasına izin veriyorum.**

**İleride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum.**

**Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.**

Yukarıda açıkça tanımlanan çalışmanın ne amaçla, kimler tarafından ve nasıl gerçekleştirileceği anlayabileceğim bir ifade ile bana anlatıldı.

Bu araştırmadan elde edilen bilgilerin bana ve başka insanlara sağlayacağı yararlar bana anlatıldı.

Araştırma sırasında meydana gelebilecek riskler ve rahatsızlıklar bana anlayabileceğim bir dille anlatıldı.

Araştırma sırasında oluşabilecek zarar durumunda gerçekleştirilecek işlemler bana anlatıldı.

Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ve haklarım konusunda 24 saat bilgi alabileceğim bir yetkilinin adı ve telefonu bana verildi.

Araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik ve testler ile tıbbi bakım hizmetleri için benden ya da bağlı bulunduğum sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyeceği bana anlatıldı.

Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum.

Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.

Sorumlu araştırmacı/hekime haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim.

Bu çalışmaya katılmayı reddetmem ya da sonradan çekilmem halinde hiçbir sorumluluk altına girmediğimi ve bu durumun şimdi ya da gelecekte gereksinim duyduğum tıbbi bakımı hiçbir biçimde etkilemeyeceğini biliyorum.

Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı/hekim ya da destekleyen kuruluş, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmali nedeniyle, benim onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabileceğini biliyorum.



Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun gerekli gördüğünde, gizliliğimin korunması ilkesine uygun olarak, araştırma konusuyla ilişkili orijinal tıbbi kayıtlarıma doğrudan erişimde bulunabileceğini biliyorum.

İlgili yasal düzenlemeler gereğince kimliğimi ortaya çıkaracak kayıtların gizli tutulacağı, kamuoyuna açıklanmayacağı; araştırma sonuçlarının bilimsel toplantılarda sunulabileceği ya da yayınlanabileceği, ancak, bu tür durumlarda kimliğimin kesin olarak gizli tutulacağı bana açıklandı.

Araştırma konusuyla ilgili olarak, çalışmaya devam etme isteğimi etkileyebilecek yeni bilgiler elde edildiğinde bana ya da yasal temsilcime zamanında bilgilendirme yapılacağı bana açıklandı.

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu adlı metni kendi anadilimde okudum.

Aklıma gelen bütün soruları sorma olanağı tanındı ve sorularıma doyurucu cevaplar aldım.

Yukarıda konusu belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen araştırmacı tarafından yapıldı.

Bu koşullarla, söz konusu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu'nun tam imzalı bir kopyasını aldım.

• **Gönüllünün; (El yazısı ile)**

Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya faks numarası):

.....

.....

Tarih:

• **Velayet ya da vesayet altında bulunanlar için; (El yazısı ile)**

Veli ya da Vasinin Adı- Soyadı:

İmzası:

Tarih:

Adresi (varsa telefon ve/veya faks numarası):

.....

.....

Tarih:

• **Açıklamaları yapan araştırmacının**

Unvanı, Adı- Soyadı: (El yazısı ile)

**Görev yaptığı bölüm:**

İmzası:

Tarih:

## ETİK KURUL ONAY BELGESİ

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI  
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU Edirne, Türkiye

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TÜTF-BAEK 2016/219	
	PROTOKOL ADI	TNFRSF11A Geni Varyasyonlarının BRCA1 ve/veya BRCA2 Mutasyonu Saptanan Hastalarda, Meme Kanseri Gelişim Riski Üzerine Etkilerinin Araştırılması	
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÖNVANI / ADI	Doç. Dr. Hakan GÜRKAN	
	ARAŞTIRMA MERKEZİ		
	DESTEKLEYİCİ		
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Tek Merkez Ulusal	Çok Merkez Uluslararası
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 16/03	Tarih: 28.09.2016	
	Fakültemiz Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Hakan GÜRKAN'ın sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen çalışmanın araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş araştırmaya ilişkin giderlerin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödetilmediği koşullarda ve veri toplanacak yerlerden gerekli izinler alındıktan sonra gerçekleştirilmesinde etik bilimsel standartlar açısından sakınca bulunmadığına mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.		
ETİK KURUL BİLGİLERİ			
ÇALIŞMA ESASI	Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TÜTF-BAEK Yönergesi		

## ÜYELER

Ünvan/Ad/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki(*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ülfet VATANSEVER ÖZBEK Başkan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D.	K	E H	E H	
Yrd. Doç. Dr. Esin KARLIKAYA Başkan Yardımcısı	Tıp Tarihi ve Etik	T.Ü.T.F. Tıp Tarihi ve Etik A.D.	K	E H	E H	<i>Muzafferli</i>
Prof. Dr. C. Hakan KARADAĞ Üye	Tıbbi Farmakoloji	T.Ü.T.F. Tıbbi Farmakoloji A.D.	E	E H	E H	
Yrd. Doç. Dr. F. Nesrin TURAN Üye	Biyoistatistik	T.Ü.T.F. Biyoistatistik A.D.	K	E H	E H	<i>Muzafferli</i>
Yrd. Doç. Dr. Hilmi TOZKIR Üye	Tıbbi Genetik	T.Ü.T.F. Tıbbi Genetik A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Hasan ÜMIT Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Selma Arzu VARDAR Üye	Fizyoloji	T.Ü.T.F. Fizyoloji A.D.	K	E H	E H	
Doç. Dr. Salim DÖNMEZ Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E H	E H	-
Prof. Dr. Muzaffer ESKİOCAK Üye	Halk Sağlığı	T.Ü.T.F. Halk Sağlığı A.D.	E	E H	E H	<i>Muzafferli</i>
Yrd. Doç. Dr. Vedat UĞUREL Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	T.Ü.T.F. Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	E	E H	E H	
Yrd. Doç. Dr. Rugül KÖSE ÇINAR Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F. Ruh Sağ. ve Has. A.D.	K	E H	E H	
Doç. Dr. Sevtap HEKİMOĞLU ŞAHİN Üye	Anestezi ve Reanimasyon	T.Ü.T.F. Anestezi ve Reanimasyon A.D.	K	E H	E H	
Doç. Dr. Atakan SEZER Üye	Genel Cerrahi	T.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Berkan DEMİRAL Üye		T.Ü. İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi	E	E H	E H	<i>Muzafferli</i>
Avukat Baki KURNAZ Üye		T.Ü. Rektörlüğü	E	E H	E H	<i>Muzafferli</i>

\*Araştırma ile ilişki  
\*\*Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. H. Ahmet TEPELİ  
Dekan a.  
Dekan Yrd.