

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**TÜMÖR NEKROSİS FAKTÖR ALFA (TNF- α), BETA
(TNF- β) VE İNTERFERON GAMA (IFN- γ) GENLERİNDEKİ
POLİMORFİZMLERİN MEME KANSERİ İLE İLİŞKİSİ**

DOKTORA TEZİ

Nevin KARAKUŞ

Samsun
Eylül-2009

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**TÜMÖR NEKROSİS FAKTÖR ALFA (TNF- α), BETA
(TNF- β) VE İNTERFERON GAMA (IFN- γ) GENLERİNDEKİ
POLİMORFİZMLERİN MEME KANSERİ İLE İLİŞKİSİ**

DOKTORA TEZİ

Nevin KARAKUŞ

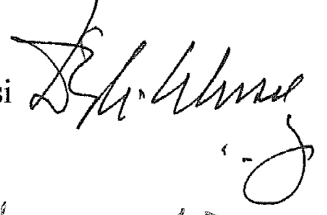
Danışman: Doç. Dr. Nurten KARA

Samsun
Eylül-2009

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Bu çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Ali Naki ULUSOY, Ondokuz Mayıs Üniversitesi



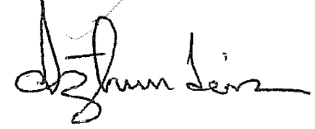
Üye: Prof. Dr. Hasan BAĞCI, Ondokuz Mayıs Üniversitesi



Üye: Prof. Dr. Gülsen ÖKTEN, Ondokuz Mayıs Üniversitesi



Üye: Prof. Dr. Öztürk Özdemir, Cumhuriyet Üniversitesi



Üye: Doç. Dr. Nurten KARA, Ondokuz Mayıs Üniversitesi



Bu tez, Enstitü Yönetim Kurul'unca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Süleyman KAPLAN
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tıbbi biyoloji ve genetik alanı ile ilgili edindiğim bilgilerin birçoğunu bana öğreten ve tez çalışmalarım sırasında bana her türlü destek ve yardımı sağlayan tez danışmanım Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç.Dr. Nurten KARA'ya, tez çalışmalarım sırasında büyük bir özveriyle araştırılacak hasta grubunun oluşturulmasını sağlayan Genel Cerrahi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr. Ali Naki ULUSOY ve Ankara Onkoloji Araştırma Hastanesi Öğretim Üyesi Doç.Dr. Cihangir Özaslan'a, çalışmalarım sırasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Hasan BAĞCI'ya, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Prof.Dr. Gülsen ÖKTEN, Prof.Dr. Mehmet ELBİSTAN ve Yrd.Doç.Dr. Sezgin GÜNEŞ'e,

Laboratuvar çalışmalarım sırasında her türlü yardım ve desteğini gördüğüm Anabilim Dalımız Araştırma Görevlileri Emre TAŞKIN ve Şengül TURAL ile Sağlık Teknisyenleri Öznur MIRIK ve Mukadder DUMLU'ya,

Doktora çalışmalarım sırasında gösterdikleri sabır ve desteklerinden dolayı aileme, kardeşlerime, eşime ve kızıma teşekkür ederim.

Not: Araştırma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Araştırma Fonu (T-403 No'lu Proje) tarafından desteklenmiştir.

ÖZET

TÜMÖR NEKROSİS FAKTÖR ALFA (TNF- α), BETA (TNF- β) VE İNTERFERON GAMA (IFN- γ) GENLERİNDEKİ POLİMORFİZMLERİN MEME KANSERİ İLE İLİŞKİSİ

Nevin KARAKUŞ, Doktora Tezi

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Samsun, Eylül 2009

Meme kanseri, kadınlarda en yaygın görülen kanser tipidir ve sıklığı giderek artmaktadır. Anti-tümör immün cevabın oluştuğu kanserlerde, sitokin genlerindeki polimorfizmler, kansere yatkınlığın araştırılmasında önemlidir. Bu çalışmada, çoğunluğu Karadeniz ve bir kısmı İç Anadolu Bölgesi'ne ait populasyonda, TNF- α , TNF- β ve IFN- γ sitokin gen polimorfizmlerinin meme kanseri ile ilişkisini araştırmayı amaçladık. Bu çalışmaya meme kanserli 204 kadın hasta ve 35 yaş üstü 204 sağlıklı kadın kontrol dahil edildi. Yoğun tuz çözeltilinde çöktürme yöntemiyle periferik kandan elde edilen hasta ve kontrol DNA'ları, PCR, ASO PCR ve RFLP yöntemleri uygulanarak değerlendirildi. TNF- α -308 G>A polimorfizmi açısından hasta ve kontrollerin genotip ve allel sıklıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (sırasıyla p=0.333 ve p=0.4175). TNF- β +252 A>G polimorfizmi için, hasta ve kontrollerin genotip dağılımlarında (p=0.016), IFN- γ +874 T>A polimorfizmi için ise hem allel hem genotip dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğu görüldü (sırasıyla p=0.0312 ve p=0.001) ve IFN- γ TA+AA genotiplerinin, meme kanseri riskini önemli derecede artırdığı saptandı. Yapılan haplotip ve kompozit genotip analizlerinde TNF- α / β GAAG haplotipinin (p=0.0424), TNF- α /IFN- γ GGTT ve GATT kompozit genotiplerinin (sırasıyla p=0.0296 ve p=0.0129), TNF- β /IFN- γ AGTT kompozit genotipinin (p=0.0003), TNF- α / β /IFN- γ GGAGTT ve GAAGTT kompozit genotiplerinin (sırasıyla p=0.0437 ve p=0.0038) meme kanserine karşı koruyucu etkisi olduğu saptandı. Ancak, TNF- α /IFN- γ GGTA kompozit genotipinin meme kanseri için risk oluşturduğu tespit edildi (p=0.0156).

Sonuç olarak, TNF- α / β ve IFN- γ genleri polimorfik genotiplerinin tek veya kompozit şeklinde meme kanseri ile ilişkisi olduğu saptanmıştır. Bu çalışmaların genişletilmesi ile daha açıklayıcı ve kesin sonuçların elde edilebileceği kanaatindeyiz.

ABSTRACT

THE ASSOCIATION OF TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA (TNF- α), BETA (TNF- β) AND INTERFERON GAMMA (IFN- γ) GENE POLYMORPHISMS WITH BREAST CANCER

Nevin KARAKUS, Ph. D. Thesis

Ondokuz Mayıs University Samsun, September 2009

Breast cancer is the most common malignancy among women and its incidence is increasing gradually. Cytokine genes are important for researching cancer predisposition in cancers that elicit anti-tumor immun response. In this study, we aim to research the association of breast cancer with TNF- α , TNF- β and IFN- γ cytokine genes polymorphisms in a population which is composed of mostly Blacksea and partly Middle Anatolia region. This study involves 204 female breast cancer patients and 204 healthy female controls older than 35. The DNAs isolated from peripheral bloods of patients and controls by salting-out method, were analysed by the technics of PCR, ASO PCR and RFLP. There was no significant difference in the genotype and allele frequencies of patients and controls for TNF- α -308 G>A polymorphism ($p=0.333$ and $p=0.4175$ respectively). There were statistically significant differences between the genotype frequencies of patients and controls for TNF- β +252 A>G polymorphism ($p=0.016$) and the allele and genotype frequencies for the IFN- γ +874 T>A polymorphism ($p=0.0312$ and $p=0.001$ respectively) and IFN- γ TA+AA genotypes were estimated to increase the breast cancer risk significantly. In the haplotype and composite genotype analysis, the TNF- α / β GAAG haplotype ($p=0.0424$), the TNF- α /IFN- γ GGTT and GATT composite genotypes ($p=0.0296$ and $p=0.0129$ respectively), the TNF- β /IFN- γ AGTT composite genotype ($p=0.0003$), the TNF- α / β /IFN- γ GGAGTT and GAAGTT composite genotypes ($p=0.0437$ and $p=0.0038$ respectively) were estimated to have protective effect against breast cancer. However, the TNF- α /IFN- γ GGTA composite genotype is a risk factor for breast cancer ($p=0.0156$).

In conclusion, the polymorphic genotypes of TNF- α / β and IFN- γ are determined to have association with breast cancer in the form of single or composite. By enlarging the study we hope that more explanatory and definitive results can be obtained.

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADH	Alkol dehidrogenaz
AP-2	Aktivatör protein-2
ASO PCR	Allel spesifik oligonükleotid PCR
AT	Ataxia telangiectasia
ATM	Ataxia telangiectasia mutasyonlu
BRCA1	Meme kanseri 1
BRCA2	Meme kanseri 2
CHEK2(CHK2)	Kontrol noktası kinazı 2
CYP19	Sitokrom P450, aile 19, altaile A, polipeptid 1
CYP1A1	Sitokrom P450, altaile 1, polipeptid 1
CYP2D6	Sitokrom P450, subfamily IID, polipeptid 6
ER	Östrojen reseptör
ERCC4/XPF	Kesip-çıkarma tamiri, komplementasyon başarısız, çin hamsteri 4'te
GAS	Gamma aktive edici dizi
GSTM1	Glutation S-transferaz, mu-1
GSTP1	Glutation S-transferaz, P1
HER2/erbB2	v-erb-b2 eritroblastik lösemi viral onkogen homolog 2
HLA	Human lökosit antijen
HRT	Hormon replasman tedavisi
HSP70	Isı şok proteini 70 KD
IFN-γ	İnterferon gama
IFNγR1	IFN- γ reseptörü 1
IFNγR2	IFN- γ reseptörü 2
JAK	Janus kinaz
LFS	Li-Fraumeni sendromu
LT-β	Lenfotoksin beta
LTβR	Lenfotoksin beta reseptörü
MHC	Major histokompatibilite kompleksi
MLH1	mutL homolog 1
MSH2	mutS homolog 2

MTHFR	5.10-metilentetrahidrofolat redüktaz
NFκB	Nüklear faktör Kb
p53 (TP53)	Tümör protein 53
PCR	Polimereaz zincir reaksiyonu
PHB	Prohibitin
PJS	Peutz-Jeghers sendromu
PR	Progesteron reseptör
PTEN	Fosfotaz ve tensin homolog
RFLP	Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi
SNP	Tek nükleotid değişimi
STAT	Transkripsiyonun sinyal aktarıcısı ve aktivatörü
STK11/LKB1	Serin threonin kinaz
TNF-α	Tümör nekrosis faktör alfa
TNF-β (LT-α)	Tümör nekrosis faktör beta (Lenfotoksin alfa)
TNFR-1 (p60)	TNF reseptör 1
TNFR-2 (p80)	TNF reseptör 2
UTR	Transle edilmeyen bölge
XRCC1	X-ray tamiri, komplementasyon başarısız, çin hamsteri 1'de
XRCC3	X-ray tamiri, komplementasyon başarısız, çin hamsteri 3'de

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Meme Kanserinin Epidemiyolojisi	4
2.2. Meme Kanserinin Etiyolojisi ve Risk Faktörleri.....	4
2.2.1. Demografik Karakterler.....	4
2.2.2. Aile öyküsü.....	5
2.2.3. Üreme Faktörleri.....	5
2.2.4. Diğer Hormonal Faktörler.	6
2.2.5. Yaşam Tarzıyla İlgili Faktörler	6
2.2.6. Diğer Faktörler	6
2.3. Meme Kanserinin Genetiği.....	7
2.3.1. Penetransı Yüksek Olan Meme Kanseri Genleri.....	9
2.3.2. Penetransı Düşük Olan Meme Kanseri Yatkınlık Genleri	11
2.4. Meme Kanserinin Moleküler Etiyolojisi.....	12
2.5. Meme Kanseri ve SNP'ler.....	14
2.6. Sitokin Genleri ve Gen Polimorfizmleri.....	15
2.6.1. Tümör Nekrosis Faktör Alfa (TNF- α =TNFA), [=Tümör Nekrosis Faktör (TNF), TNF Superfamily Member 2 (TNFSF2)], (MIM: 191160).....	17
2.6.2. Tümör Nekrosis Faktör Beta (TNF- β =TNFB) [=Lenfotoksin alfa (LT- α =LTA), TNF Superfamily Member 1 (TNFSF1)], (MIM:153440).....	22
2.6.3. İnterferon Gama (IFN- γ), (MIM: 147570).....	26
2.7. Meme Kanserinin Tedavisi.....	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	35
3.1 Hasta Profili ve Biyolojik Gereç Eldesi.....	35
3.2. Kullanılan Kimyasal Materyaller.....	35
3.3. Kullanılan Cihazlar ve Teknik Malzemeler.....	36
3.4. Uygulanan Yöntemler.....	37
3.4.1. Kullanılan Solusyonlar ve Bunların Hazırlanması.....	37
3.4.2. DNA İzolasyonu.....	39

3.4.3.	DNA Miktarının Tayini.....	40
3.4.4.	TNF- α Geninin ASO PCR ve PCR-RFLP Yöntemleri ile Genotiplenmesi.....	40
3.4.5.	TNF- β Geninin PCR-RFLP Yöntemi ile Genotiplenmesi.....	45
3.4.6.	IFN- γ Geninin ASO PCR Yöntemi ile Genotiplenmesi.....	47
3.4.7.	Agaroz Jelin Hazırlanışı.....	51
3.4.8.	Agaroz Jel Elektroforezi Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	51
3.5.	İstatistiksel Değerlendirme.....	51
4.	BULGULAR.....	52
4.1.	Çalışma Grubu İle İlgili Demografik Karakterlerin Değerlendirilmesi.....	52
4.2.	TNF- α Geni Polimorfizmi.....	53
4.3.	TNF- β Geni Polimorfizmi.....	54
4.4.	IFN- γ Geni Polimorfizmi.....	55
4.5.	TNF- α , TNF- β ve IFN- γ Gen Polimorfizmleri Haplotip ve Kompozit Genotip Analizleri.....	56
5.	TARTIŞMA.....	65
5.1.	TNF- α Geni -308G>A Polimorfizmi.....	65
5.2.	TNF- β Geni +252A>G Polimorfizmi.....	70
5.3.	TNF- α -308G>A ve TNF- β +252A>G Polimorfizmleri Haplotip Analizleri.....	72
5.4.	IFN- γ Geni +874T>A Polimorfizmi.....	72
5.5.	TNF- α -308, TNF- β +252 ve IFN- γ +874 Polimorfizmleri Kompozit Genotip Analizleri.....	74
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	77
7.	KAYNAKLAR.....	78
8.	EKLER.....	108
8.1	Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formları.....	108
8.2.	Etik Kurul Raporları.....	110
9.	ÖZGEÇMİŞ.....	112

1. GİRİŞ

Meme kanseri, kadınlarda en yaygın görülen kanser tipidir ve sıklığı giderek artmaktadır (Sunpaweravong ve Sunpaweravong, 2005; Jemal ve ark., 2008). Kadınlarda, akciğer kanserinden sonra meme kanseri, kansere bağlı ölüm nedenlerinin ikincisi olup tüm kanserlerin %26'sını oluşturmaktadır (Stewart ve ark., 2004; Lester, 2007; Jemal ve ark., 2008). Meme kanserinin dünya genelinde tesbit edilen yıllık sıklığı, yaklaşık bir milyondur ki bunun 200.000'i Amerikalı, 320.000'i ise Avrupalıdır (Jemal ve ark., 2002; Bray ve ark., 2002a). Türkiye'de ise meme kanseri, 2005 yılı verilerine göre kadınlar arasında en sık görülen 10 kanser tipi içerisinde %35.47 ile ilk sırada yer almaktadır (<http://www.saglik.gov.tr>).

Meme kanserli olguların sadece %5-10'u, BRCA1 ve BRCA2 gibi nadir, penetransı yüksek genlerdeki kalıtsal mutasyonlardan kaynaklanırken, olguların çoğunluğu, penetransı düşük genlerden kaynaklanır (Dunning ve ark., 1999; Weber ve Nathanson, 2000; Nathanson ve ark., 2001; Sunpaweravong ve Sunpaweravong, 2005). BRCA1 ve BRCA2 gibi penetransı yüksek genlerdeki mutasyonlar, otozomal dominant tarzda kalıtılır ve yüksek risk oluşturur (Miki ve ark., 1994; Wooster ve ark., 1995; Nelson ve ark., 2005). Bazı daha sık rastlanan ve penetransı düşük olan genler, meme kanseri için düşük risk oluşturmalarına rağmen, bu genlerin varyantlarına popülasyonda yüksek oranda rastlanır. Bu yüzden penetransı düşük olan genler, penetransı yüksek olan genlere göre, meme kanseri olgularının daha geniş bir kısmından sorumludur (Wooster ve ark., 1995; Blackwood ve Weber, 1998; Nathanson ve Weber, 2001; Pharoah ve ark., 2002).

Meme kanseri tanısı günümüzde farklı tekniklerle konmaktadır. Bunlardan bir tanesi de SNP analizleridir. SNP'ler, genel popülasyonda sıklıkla oluşan (>%1) genetik polimorfizmlerdir. Meme kanseri ve SNP'ler arasındaki ilişki, birçok çalışmada incelenmiş olup meme kanserinin gelişmesinde bazı SNP'lerin küçük ama anlamlı risk artışına sebep olduğu gösterilmiştir (Tempfer ve ark., 2006). Bu anlamda çalışılan gen gruplarından biri de sitokinlerdir. Sitokinler, kendileri veya diğer hücrelerin davranışlarını değiştiren özel uyaranlara cevap olarak, hücreler tarafından salgılanan immün düzenleyici proteinler veya glikoproteinlerdir. Son zamanlarda, sitokin gen dizileri içinde, özellikle de bu genlerin promotor bölgelerinde, çok sayıda SNP tesbit

edilmiştir (Martin ve ark., 2003). Birer sitokin olan TNF- α , TNF- β ve IFN- γ genlerindeki polimorfizmler, kanser de dahil bir çok hastalık ile ilişkilendirilmiştir (Bidwell ve ark., 2001; Haukim ve ark., 2002; Hollegaard ve Bidwell, 2006). Bu çalışmada, TNF- α , TNF- β ve IFN- γ genlerindeki SNP'ler, meme kanserinde risk faktörü olabileceği düşüncesi ile araştırılmıştır.

TNF- α , hem protümörijenik hem de antitümörijenik özellikleri içeren geniş bir aktiviteye sahip multifonksiyonel bir sitokindir (Naylor ve ark., 1993; Balkwill, 2002). Yüksek miktarlarda TNF- α 'ya, enflamatuvar dokularda, memeyi de içeren birçok insan tümöründe rastlanmıştır (Balkwill, 2002). TNF- α promotor bölgesi içinde çeşitli polimorfizmler, TNF- α 'nın ifadesi ile ilişkilendirilmiştir (Kroeger ve ark., 1997; Jang ve ark., 2001; Kirkpatrick ve ark., 2004). Bunlardan biri de promotor bölgede genin başlama bölgesinin 308 bç önünde yerleşik bulunan G>A polimorfizmidir (Wilson ve ark., 1992). TNF- α -308G>A değişimi, TNF- α 'nın ifadesini etkiler ve -308G alleli azalmış TNF- α üretirken, -308A alleli yüksek miktarda TNF- α üretimi ve dolayısıyla artan meme kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir (Chen ve ark., 1996; Wilson ve ark., 1997; Kroeger ve ark., 1997).

TNF- β , MHC içinde ard arda yerleştiği TNF- α ile benzer biyolojik özellikler gösteren bir sitokindir (Carroll ve ark., 1987; Inoko ve Trowsdale, 1987; Smith, 1994). TNF- β geninin, birinci intronu içinde +252 konumundaki A>G polimorfizminin, TNF- β 'nin plazma düzeyini ve in vitro TNF- β ifadesini etkilediği rapor edilmiştir (Messer ve ark., 1991; Ozaki ve ark., 2002). TNF- β üretimi, TNF- β GG genotipine sahip olanlarda, A allelini içeren genotiplere sahip olanlara göre anlamlı derecede düşüktür (Whichelow ve ark., 1996). TNF- β +252 A>G polimorfizmi, meme kanseri gelişimi ile ilişkilendirilmiştir (Park ve ark., 2002; Lee ve ark., 2005b).

IFN- γ , immun düzenleyici ve anti-proliferatif etki gösteren bir sitokindir (Stark ve ark., 1998). IFN- γ 'nın, meme kanser hücrelerini de içeren birçok tümör kaynaklı hücre hattında büyümeyi inhibe ettiği rapor edilmiştir (Wadler ve Schwartz, 1990; Kirchoff ve Hauser, 1999; Ruiz-Ruiz ve ark., 2000). IFN- γ geninin birinci intronunda +874 konumunda T'den A'ya şeklinde olan bir tek nükleotid değişimi tanımlamıştır (Pravica ve ark., 2000). +874T ve A alleleline sahip olma, sırasıyla yüksek ve düşük IFN- γ ifadesi ile ilişkilendirilmiştir (Rossouw ve ark., 2003). IFN- γ geni +874

polimorfizmi, meme kanseri de dahil birçok hastalıkla ilişkilendirilmiştir (Lio ve ark., 2002; Daher ve ark., 2003; Ben-Ari ve ark., 2003; Kamali-Sarvestani ve ark., 2005a).

Çoğunluğu Karadeniz ve bir kısmı İç Anadolu Bölgesi'nden oluşan hastaların kullanılmış olduğu çalışmamızın amacı, TNF- α -308 (G>A), TNF- β +252 (A>G) ve IFN- γ +874 (T>A) polimorfizmleri ile meme kanseri arasında bir ilişki olup olmadığının araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 MEME KANSERİ EPİDEMİYOLOJİSİ

Meme kanseri, kadınlarda en yaygın görülen kanser tipidir ve sıklığı giderek artmaktadır (Sunpaweravong ve Sunpaweravong, 2005; Jemal ve ark., 2008). Kadınlarda gözlenen kanserlerin %26'sından sorumludur (Lester, 2007; Jemal ve ark., 2008). Meme kanseri kadınlarda, akciğer kanserinden sonra kansere bağlı ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer almaktadır (Stewart ve ark., 2004; Jemal ve ark., 2008). Dünya Sağlık Örgütüne (WHO) bağlı Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu'nun (IARC) 2002 yılındaki değerlendirmesinde, 1.152.000 yeni meme kanserli olgu ve 411.000 meme kanserinden ölüm tesbit edilmiştir (Parkin ve ark., 2005). Tahminlere göre, 2010 yılında meme kanserli hasta sayısının 1.500.000, meme kanserinden kaybedilecek kadın sayısının ise 500.000 olacağı ileri sürülmektedir. Meme kanseri, 2005 yılı verilerine göre Türkiye'de kadınlar arasında en sık görülen 10 kanser tipi içerisinde %35.47 ile ilk sırada yer almaktadır (<http://www.saglik.gov.tr>). Ülkemizde henüz düzenli bir meme kanseri kayıt programı olmadığından, kesin sıklığın belirlenmesi güçtür ancak mevcut verilere göre, doğu bölgelerimizde 20/100.000, batı bölgelerimizde ise 40-50/100.000 oranında bir sıklığın olduğu öne sürülmektedir (Özmen, 2006).

2.2. MEME KANSERİNİN ETİYOLOJİSİ VE RİSK FAKTÖRLERİ

Meme kanserinin etiyojisi son derece karmaşıktır; hastalığın başlaması ve ilerlemesi, epigenetik, genetik, endokrin ve dış çevresel faktörlerin bir seri etkileşimi sonucu oluşan çok basamaklı bir süreçtir (Welch ve ark., 2000). Bundan dolayı, meme kanseri, diabet, astım ve kalp hastalıkları gibi kompleks bir hastalıktır (Houlston ve Tomlinson, 2000). Meme kanserinin oluşmasına neden olan risk faktörleri şu şekilde gruplanabilir:

2.2.1. Demografik Karakterler

Cinsiyet: Cinsiyet, başlı başına bir risk faktörüdür. Tüm meme kanserlerinin %99'u kadınlarda, %1'i erkeklerde görülür. Meme kanseri için erkeklerin yaşam boyu riski %0.11 iken, kadınlarınki %13'tür (Brewster ve Helzlsouer, 2001).

Yaş: Meme kanseri sıklığı, 25 yaş öncesi çok düşüktür ve 45 yaşında 100 kata kadar artar (Hulka ve Moorman, 2001). Meme kanserli kadınların %77'si 50 yaşın üstünde, %0.3'ü 30 yaşın altındadır (Falkenberry ve Legare, 2002).

Coğrafik alan: Meme kanseri sıklığı ciddi bir coğrafik farklılık göstermektedir. Meme kanserinin sıklık ve ölüm oranlarında, düşük (Uzak Doğu, Afrika ve Güney Amerika) ve yüksek riskli (Kuzey Amerika ve Kuzey Avrupa) bölgeler arasında 5 ile 10 kat arasında değişen anlamlı bir farklılık vardır (Parkin ve ark., 2005).

2.2.2. Aile Öyküsü

Meme kanseri vakalarının çoğu sporadiktir. Meme kanseri olgularının %15-20'sinin aile öyküsünde hastalık bulunmaktadır (Falkenberry ve Legare, 2002). Anne veya kızkardeşlerden herhangi birinde veya her ikisinde meme kanseri olması, o kişinin meme kanseri riskini %2-3 artırmaktadır (Colditz ve ark., 1993).

2.2.3. Üreme Faktörleri

Menarş yaşı: Erken menarş yaşı (12 yaşından küçük), meme kanseri riskini %20-30 artırmaktadır (Kelsey ve ark., 1993; Titus-Ernstoff ve ark., 1998).

Menopoz yaşı: Geç yaşta menopoz ile meme kanseri arasında artan bir ilişki vardır (Kelsey ve ark., 1993). Menopoz yaşının her 1 yıllık artışında, meme kanseri riskinin yaklaşık %3 arttığı gösterilmiştir (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer, 1996).

Gebelik sayısı: Gebelik sayısındaki artış, meme kanseri riskinde azalma ile ilişkilendirilmiştir (Kelsey ve ark., 1993).

İlk gebelik yaşı: Erken yaşta gebeliğin, meme kanserine karşı koruyucu etkisi vardır (Kelsey ve ark., 1993). İlk doğumu 20 yaşın altında yapan kadınlarda meme kanseri riski, ilk doğumunu 30 yaşından sonra yapanlara oranla yarı yarıya daha azdır ve erken yaşta ilk gebelikten sonra takip eden gebeliklerin olması da meme kanseri riskini azaltır (Chie ve ark., 2000; Wohlfahrt ve ark., 2001).

Emzirme süresi: Uzun süre emzirme de azalan meme kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir (Lipworth ve ark., 2000). Her 12 ay emzirmede meme kanseri riskinde %4.3 azalma olduğu gösterilmiştir (Beral, 2002).

2.2.4. Diğer Hormonal Faktörler

HRT kullanımı: HRT kullanan kadınlarda, meme kanseri riskinin az miktarda arttığı gösterilmiştir (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer, 1997). HRT'yi 5 yıl veya daha fazla kullanan kadınlarda, menopozun gecikmesi nedeniyle, meme kanseri riskinin %35 arttığı gözlenmiştir (Mitrunen ve Hirvonen, 2003).

Oral kontraseptif kullanımı: Oral kontraseptif kullanımı ve meme kanseri arasındaki ilişkiyi gösteren 54 çalışmanın verilerine göre yapılan bir analiz sonucunda, oral kontraseptif kullanımının, meme kanseri riskini %2 artırdığı, fakat en fazla risk artışının 10 yıllık kullanımdan sonra ortaya çıktığı saptanmıştır (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer, 1996).

Hormonla ilişkili risk faktörlerinin çoğunun, ER ve PR pozitif olan hastalarda, negatif olanlara oranla meme kanseri ile daha kuvvetli bir ilişki içinde olduğu gösterilmiştir (Huang ve ark., 2000).

2.2.5. Yaşam Tarzıyla İlgili Faktörler

Alkol: Alkolün, hormon düzeyleri üzerine etkisinden dolayı, meme kanseri riskini gün içindeki tüketimi ile doğru orantılı olarak artırdığı gösterilmiştir (Smith-Warner ve ark., 1998; Ferraroni ve ark., 1998).

Diyet: Fazla yağ alımının ve et tüketiminin meme kanseri riskini artırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Zheng ve ark., 1998; Bartsch ve ark., 1999). Bununla beraber doğal antioksidan kaynakları olan meyva ve sebzelerin tüketiminin meme kanseri riskini azalttığı gösterilmiştir (Lee, 1999; McKeown, 1999; Gandini ve ark., 2000).

Obezite ve fiziksel aktivite: Obezite, menopoz sonrası kadınlarda, yüksek endojen östrojen seviyesi ve dolayısıyla artan meme kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir (Hunter ve Willett, 1993). Fiziksel aktivitenin meme kanseri riskini azalttığı gösterilmiştir (Bernstein ve ark., 1994; Thune ve ark., 1997; Verloop ve ark., 2000; Gross, 2000).

Sigara kullanımı: Bazı çalışmalarda, sigara kullanımı ve meme kanseri arasında çok zayıf bir ilişki olduğu gösterilmiştir (Palmer ve Rosenberg, 1993).

2.2.6. Diğer faktörler

Mammografik yoğunluk: Mammografik yoğunluk, hem menopoz öncesi hem de menopoz sonrası kadınlarda görülen bir meme kanseri risk faktörüdür. Çalışmalar,

mammografide meme yoğunluğu artışı %75'den fazla olan kadınlarda, meme kanseri riskinin 5 kat artmış olduğunu göstermiştir (Brinton ve ark., 1995; Boyd ve ark., 1995).

Önceki meme hastalığı öyküsü: İyi huylu meme hastalığı öyküsü, meme kanseri geliştirme riskini artırır. Ciddi atipik epitelial hiperplazisi olan kadınlarda, memesinde herhangi bir proliferatif değişiklik olmayan kadınlara oranla 4-5 kat daha fazla meme kanseri riski vardır (McPherson ve ark., 2000).

Genç yaşta iyonize edici radyasyon: Meme bezlerinin, yüksek dozda iyonize edici radyasyona maruz kalmasının, meme kanseri riskini artırdığı gösterilmiştir (Hulka ve Moorman, 2001).

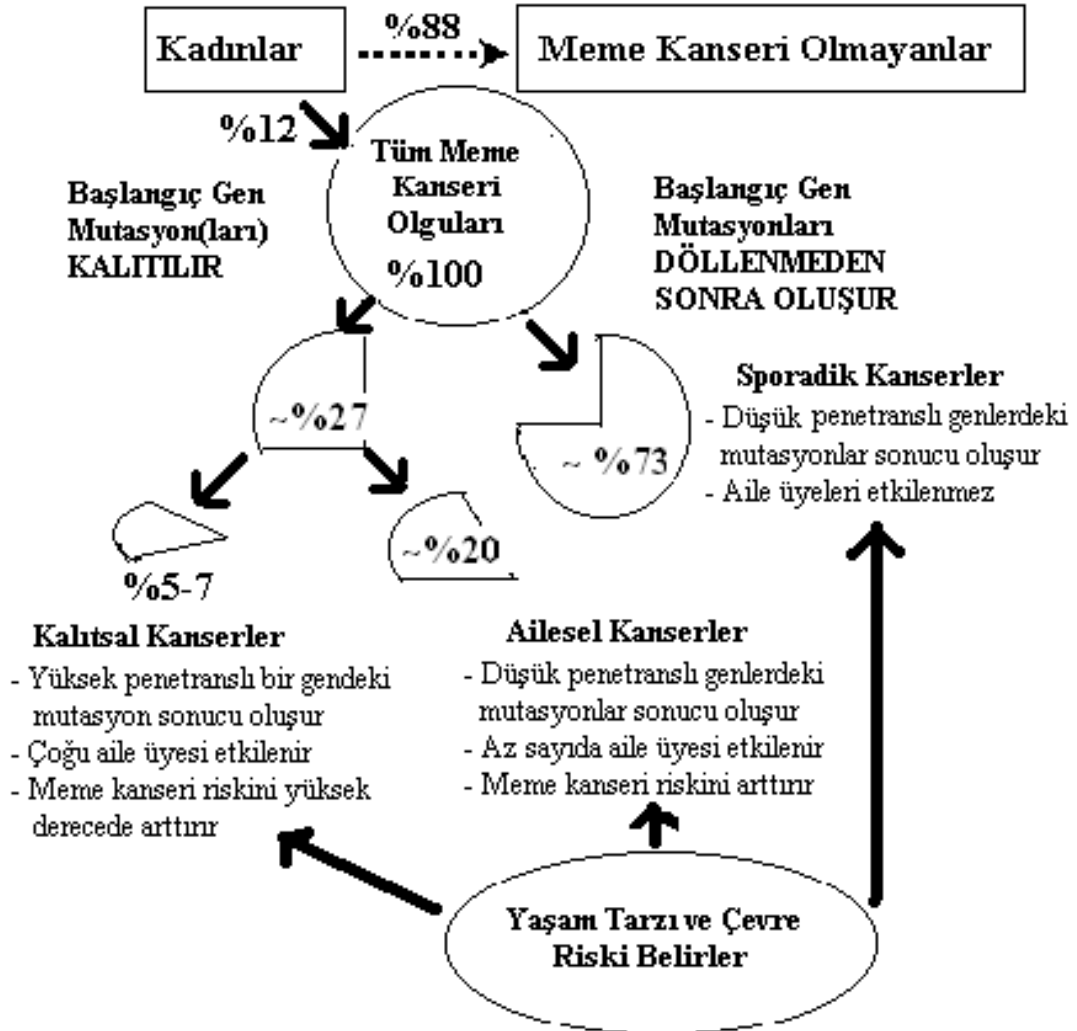
Kemik yoğunluğu: Kemik yoğunluğu, östrojenle ilişkili olarak meme kanseri için bir risk faktörüdür. Çalışmalar, menapoz sonrası kadınlarda, artmış kemik yoğunluğu ile yüksek meme kanseri riski arasında pozitif bir ilişki olduğunu göstermektedir (Biglia ve ark., 2004).

Birçok risk faktörleri değiştirilemez olduğundan dolayı, meme kanseri riskini azaltmak için etkili stratejiler geliştirmek zordur. Bilateral total mastektomi gibi cerrahi müdahaleler, meme kanserini önleyici önemli bir girişimdir (Bever ve ark., 2007).

2.3. MEME KANSERİNİN GENETİĞİ

Meme kanseri, çok sayıda kanserle ilişkili genin mutasyonu sonucu oluşur. Bu mutasyonlar, eşey hücrelerinin çeşitli genlerinde meydana geldiğinde ve nesilden nesile aktarıldığında kalıtsal veya ailesel meme kanserlerini; somatik hücrelerde meydana geldiğinde ise nesilden nesile aktarılmayan sporadik meme kanserlerini oluşturur. Meme kanserlerinin büyük çoğunluğunu sporadik kanserler oluşturmaktadır (Johnson-Thompson ve Guthrie, 2000). Sporadik meme kanserlerinde aile öyküsüne rastlanmaz. Sporadik meme kanseri vakalarının oluşumuna endojen ve yaşamsal risk faktörleriyle birlikte penetransı düşük genlerindeki mutasyonlar neden olmaktadır (Johnson-Thompson ve Guthrie, 2000). Kalıtsal sebeplere bağlı olarak gelişen kanserler ise meme kanseri olgularının %27'sinden sorumludur (Lichtenstein ve ark., 2000). Meme kanseri olgularının çok az bir kısmını oluşturan kalıtsal kanserler, BRCA1 ve BRCA2 gibi penetransı yüksek genlerdeki mutasyonlardan kaynaklanırlar ve belirgin bir meme kanseri aile öyküsü ve yüksek riske sahiptirler (Miki ve ark., 1994; Wooster ve ark., 1995; Nelson ve ark., 2005). Penetransı düşük olan genlerin sebep olduğu meme

kanseri, aynı ailede birden fazla kişide görülüyorsa, ailesel meme kanseri adı verilen üçüncü bir sınıftan bahsedilebilir. Penetransı düşük olan genlerdeki mutasyonlardan kaynaklanan ailesel kanserlere, kalıtsal kanserlerden daha sık rastlanır ve bunlar, düşük meme kanseri riski ve daha zayıf meme kanseri aile öyküsüyle ilişkilidirler (Rebbeck, 1999). Penetransı düşük olan genler, düşük meme kanseri riski oluşturmalarına rağmen, bu genlerin varyantlarına popülasyonda yüksek oranda rastlanır. Bu yüzden penetransı düşük olan genler, penetransı yüksek olan genlere göre, meme kanseri olgularının daha geniş bir kısmından sorumludur (Wooster ve ark., 1995; Blackwood ve Weber, 1998; Nathanson ve Weber, 2001; Pharoah ve ark., 2002) (Şekil 1).



Şekil 1: Kadınlardaki meme kanseri risk değerleri
(<http://envirocancer.cornell.edu/factSheet/General/fs48.inheritance.pdf>)

2.3.1. Penetransı Yüksek Olan Meme Kanseri Genleri

Kalıtsal meme kanseri, bütün meme kanseri olgularının sadece %5-10'undan sorumludur (Sunpaweravong ve Sunpaweravong, 2005). Kalıtsal meme kanserinde en sık rastlanan ve penetransı yüksek olan BRCA1 ve BRCA2 genlerindeki mutasyonlar, bütün kalıtsal meme kanserlerinin yaklaşık olarak %80-90'nından sorumludur (de Jong ve ark., 2002). BRCA1 geni, kromozom 17'nin uzun kolu üzerinde (17q21), BRCA2 geni ise kromozom 13'ün uzun kolu üzerinde (13q12-13) yer alır (Hall ve ark.,1990; Wooster ve ark.,1994). BRCA1, yaklaşık 81 kb uzunlukta ve 24 ekzondan oluşan, 1863 aminoasitlik protein kodlayan bir genidir. BRCA2 geni ise, 70 kb uzunlukta ve 27 ekzondan oluşmakta olup 3418 aminoasitlik bir protein kodlar (Wooster ve ark., 1995; Tavtigian ve ark., 1996). Her iki gen de tümör baskılayıcı protein kodlar ve DNA çift-zincir kırığı tamirinde rol alırlar, fakat kalıtsal kanser sendromlarında yer alan birçok genden farklı olarak BRCA1 ve BRCA2, sporadik meme kanserlerinde mutasyona uğramamıştır (Futreal ve ark., 1994; Lancaster ve ark., 1996; Welch ve ark., 2000).

BRCA1 geni tanımlandıktan sonra 800'den fazla soyhattı mutasyon tespit edilmiştir (Ahmed ve ark., 2009). BRCA1'de tanımlanan en yaygın kurucu (founder) mutasyonlar, 185delAG ve 5382insC'dir (Couch ve Weber, 1996). BRCA2 için şimdiye kadar 650'den fazla soyhattı mutasyon tanımlanmıştır (Ahmed ve ark., 2009). BRCA2'deki 6174delT mutasyonu Ashkenazilerde, 999del5 mutasyonu İzlandalılarda yaygındır (Struewing ve ark., 1997; Johannesdottir ve ark., 1996). BRCA1'deki soyhattı (germline) mutasyonlar, kalıtsal meme kanseri gözlenen ailelerinin yaklaşık olarak %15-45'inde (çalışılan popülasyona bağlı olarak), kalıtsal meme ve ovaryum kanserinin birlikte gözleendiği ailelerin ise en az %80'inde görülmektedir (Easton ve ark., 1993a; Narod ve ark., 1995; Couch ve ark., 1997; Ford ve ark., 1998). BRCA2'deki soyhattı mutasyonlar, hem kadınların hem de erkeklerin etkilenmiş olduğu meme kanseri ailelerinin yaklaşık olarak %76'sında görülmektedir (Ford ve ark., 1998). Bu oran, sadece kadınların meme kanseri olduğu ailelerde %32'ye ve meme-ovaryum kanserli ailelerde %14'e düşmektedir (Ford ve ark., 1998). BRCA1 ve BRCA2 gen mutasyonlarını taşıyan kadınların meme kanseri riski BRCA1 için %60-87, BRCA2 için %45-85'tir (Easton ve ark., 1993b; Easton ve ark., 1995; Struewing ve ark., 1996; Easton ve ark., 1997; Ford ve ark., 1998; Antoniou ve ark., 2003) (Tablo 1). Diğer

genlerdeki değişimler, BRCA1/2 mutasyon taşıyıcılarındaki riski değiştirebilmektedir (Antoniou ve Easton, 2006).

Penetransı yüksek olan genler arasında p53 (TP53), kalıtsal meme kanseri ile ilişkilendirilen ilk tümör baskılayıcı gen dir ve kromozom 17'nin kısa kolu üzerinde (17p13.1) yer alır (McBride ve ark., 1986; Miller ve ark., 1986). p53, tümörlerde mutasyona uğradığı gösterilen ilk gen dir (DeLeo ve ark., 1979) ve kanserlerin tümünde en sık mutasyona uğrayan genlerden biridir (Malkin, 1994). p53, hücre döngüsü düzenlenmesinde, DNA hasarlarının tamirinde, anormal hücrelerin çoğalmasının ve anjiogenezin engellenmesinde görev alan önemli bir çekirdek fosfoproteinidir. Soyhattı p53 mutasyonları, otozomal dominant kalıtmımlı bir kanser yatkınlık sendromu olan LFS'li hastalarda tanımlanmıştır ve etkilenmiş kadınlar, genel populasyonla karşılaştırıldığı zaman, 45 yaşından önce meme kanseri için 18 kat gibi yüksek bir riske sahiptir (Garber ve ark., 1991). Penetransı yüksek olmasına rağmen, LFS ve TP53'deki soyhattı mutasyonlar, nisbeten nadirdir ve bütün meme kanseri olgularının %1'inden daha azından sorumludur (Sidransky ve ark., 1992; Borresen ve ark., 1992). P53 mutasyonları, sporadik meme kanserlerinin ise %20-40'ında görülür (Beroud ve Soussi, 1998; Soussi ve ark., 2000; Soussi ve Beroud, 2001; Oliver ve ark., 2002; Beroud ve Soussi, 2003) (Tablo 1).

Penetransı yüksek olan diğer bir gen olan PTEN'deki soyhattı mutasyonlar, nadir bir meme ve tiroid kanseri yatkınlık sendromu olan Cowden Sendromlu hastaların %80'inde bulunur ve bu hastalarda meme kanseri riski %25-50'dir (de Jong ve ark., 2002) (Tablo 1). PTEN geni 10q23'de yer alır ve proteini bir fosfatazdır (Myers ve ark., 1997). PTEN mutasyonları sporadik meme kanserlerinde nadirdir ve sporadik olguların sadece %5'inde bulunur (Teng ve ark., 1997; Feilotter ve ark., 1999).

AT, ATM genindeki (11q23'de yer alır) (Pecker ve ark., 1996) mutasyonlardan kaynaklanan otozomal resesif bir hastalıktır ve ATM mutasyonları için heterozigot olan AT taşıyıcıları, meme kanseri için artan riske sahiptir (de Jong ve ark., 2002). STK11/LKB1 genindeki (19q13.3'de yer alır) kesikli (truncating) soyhattı mutasyonların sebep olduğu otozomal dominant bir hastalık olan PJS'li hastalar da, artan meme kanseri riskine sahiptir (Boardman ve ark., 1998; de Jong ve ark., 2002). CHEK2 (CHK2) geni, kromozom 12'de yerleşiktir ve DNA tamirinde görev alan bir hücre döngüsü kontrol noktası kinazı sentezler. CHEK2 1100delC mutasyonunun,

kadınlardaki meme kanserine iki kat, erkeklerde ise 10 kat artışa neden olduğu saptanmıştır (Meijers-Heijboer ve ark., 2002) (Tablo 1).

MSH2/MLH1 genlerindeki mutasyonlardan kaynaklanan ve otozomal dominant bir hastalık olan Muir-Torre sendromlu bireylerde, kolorektal kansere ek olarak, kadın taşıyıcıların %25'inde, ortalama 68 yaşlarında, meme kanserinin de geliştiği gözlenmiştir (Cohen ve ark., 1991).

Tablo 1: Mutasyonları meme kanserine neden olan genler (Bradbury ve Olopade'den, 2007)

Kalıtsal sendrom	Gen (kromozomal yerleşimi)	Meme kanseri riski (70 yaş civarı)	Populasyondaki taşıyıcı sıklığı
Kalıtsal Meme ve Ovaryum Kanseri	BRCA1(17q)	%65	1/860
	BRCA2 (13q)	%45	1/740
LiFraumi	TP53 (17p)	%50-60 (45 yaş civarı)	1/5,000
Cowden's	PTEN (10q)	%25-50	1/250,000
Peutz-Jegers	LKB1/STK11 (19p)	%54 (64 yaşına kadar)	1/25,000-280,000
Ataxia-telangiectasia	ATM (11q)	%23	1/100
CHEK2-ilişkili meme kanseri	CHEK2 (22q)	%11	1/90

2.3.2. Penetransı Düşük Olan Meme Kanseri Yatkınlık Genleri

İyi tanımlanan penetransı yüksek olan genlerden ayrı olarak, meme kanserine yatkınlığı artıran başka genler de mevcuttur. Penetransı düşük olan genler olarak adlandırılan bu genler, yaşamboyu meme kanseri riskinde düşük veya orta düzeyde artış oluştururlar. Penetransı düşük olan kanser yatkınlık allellerinin, gen ekspresyonu veya fonksiyonunda değişiklik yapan ve bu yüzden hastalık riskini değiştiren genetik polimorfizmlerin (çoğunluğu SNP) sonucu oluştuğu gösterilmiştir (Shields ve Harris, 2000; Ahmed ve ark., 2009).

Penetransı düşük olan meme kanseri yatkınlık genlerindeki polimorfizmler, iç ve dış etkilerle birlikte, meme tümörü gelişimi üzerinde büyük etkiye sahiptirler (Rothman ve ark., 2001). Penetransı düşük olan yatkınlık genleri, meme karsinogenezinde yer aldığı bilinen biyokimyasal ve fizyolojik yolların çalışılması ile tanımlanabilir. Aday polimorfik genler, östrojen veya çeşitli karsinojenlerin metabolizmasında, bu reaksiyonlardan köken alan reaktif oksijen radikallerinin detoksifikasyonunda rol alan enzimler ve DNA tamiri veya hücre sinyal yolağı işleminde rol alan proteinleri kodlayan genleri içerir (Dumitrescu ve Cotarla, 2005). CYP1A1, CYP2D6, CYP19, GSTM1 ve GSTP1, ADH, MTHFR, XRCC1 ve XRCC3, ERCC4/XPF, PR, ER, TNF- α , HSP70, p53, HER2/erbB2 veya PHB gibi düşük-penetranslı genlerdeki çeşitli polimorfizmlerin, meme kanseri ile olan ilişkileri çalışılmış ve hastalıkla ilişkilendirilmiş veya ilişkilendirilmemiştir (Dumitrescu ve Cotarla, 2005; Frank ve ark., 2005; Damin ve ark., 2006; Karakus ve ark., 2008).

Henüz penetransı düşük olan yatkınlık genleri hakkındaki veriler sınırlı olup bu genlerin meme kanseriyle ilişkisi ile ilgili elde edilen sonuçlar birbirinde farklılık göstermektedir. Bu yüzden, dünya genelinde, kanser hastalarının çoğunda, hastalığa yatkınlıktan ve prognozdan sorumlu olan ve daha sık rastlanan, düşük penetranslı polimorfizmlerin tanımlanması ilgi çekmektedir. Anti-tümör immün cevabın meydana geldiği gösterilen kanserlerde, ürünleri immün cevabı düzenleyen genlerdeki (TNF- α , TNF- β , IFN- γ gibi sitokin genleri) genetik polimorfizmler, araştırmalar için aday polimorfizmlerdir.

2.4. MEME KANSERİNİN MOLEKÜLER ETİYOLOJİSİ

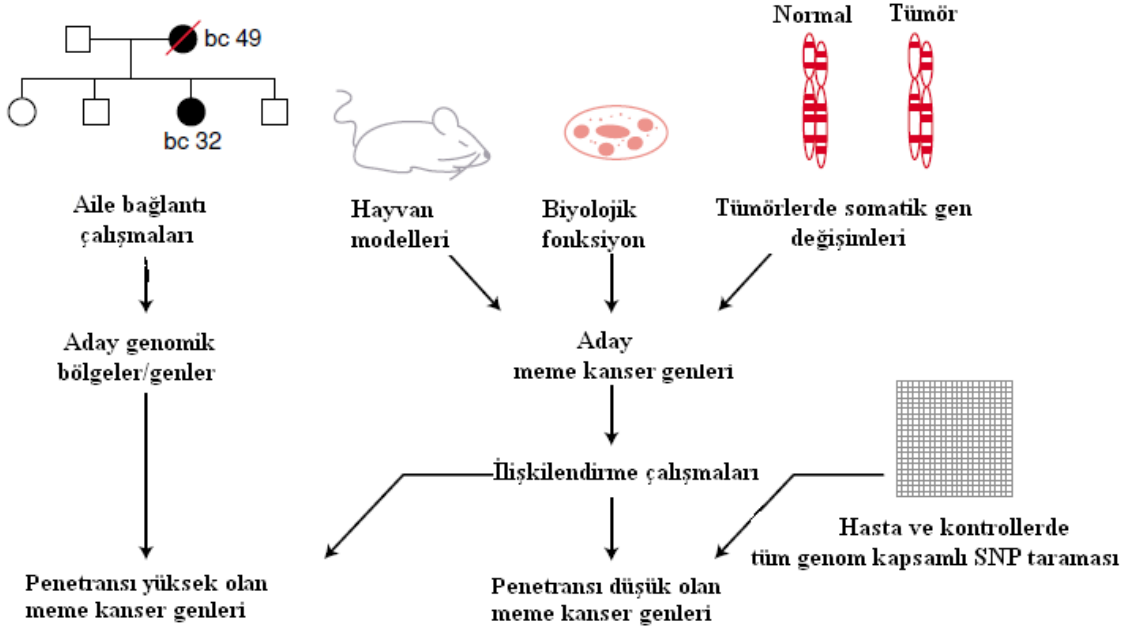
Meme kanseri gelişiminin altında yatan moleküler mekanizmalar henüz tam olarak anlaşılammıştır. Fakat genel olarak meme kanserinin başlangıcının, proto-onkogenlerin aktivasyonu ve tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu sonucunu doğuran genetik hasarlar olduğuna inanılmaktadır. Sonradan en az dört veya beş farklı gende bağımsız mutasyonlar meydana gelir. Bunu kontrolsüz hücre bölünmesi veya apoptozis izler (Kenemans ve ark., 2004).

Esas olarak bütün meme kanserlerinin etiyojisi, genomik DNA dizisinde oluşan mutasyonlardır. Bir insanın hayatı boyunca meme epitel hücreleri ve bu hücreler içindeki DNA, çeşitli mutajenler, replikasyon hataları ve yaşlanma etkisine maruz

kalmaktadır. Genomik DNA'daki mutasyonlar, mikrolelesyonlar ve duplikasyonların gelişimi gibi kromozomal aberasyonlar ve promotor hipermetilasyonu ve diğer epigenetik olaylar, transkriptin yanlış veya hiç olmamasına ve değişen protein üretimine yol açabilir. Genetik hasar genellikle tamir edilir veya hücre apoptozise yönlendirilir. Fakat nadir durumlarda, bu biriken mutasyonlar, kritik bir genin veya onun yolağının fonksiyonunu değiştirebilir ve olduğu hücrede kontrolsüz çoğalmaya neden olur. Daha fazla genetik değişimler ve klonal çoğalma sonuçta, meme kanseri fenotipinin oluşmasına sebep olur.

Meme kanseri yatkınlığa neden olan genetik faktörlerin moleküler tanımlanmasında kullanılan üç temel deneysel yöntem vardır. Bunlar, genomu kapsayan bağlantı analizi, aday genlerin mutasyonlarının taranması ve ilişkilendirme çalışmalarıdır. Aile bağlantı çalışmaları sadece penetransı yüksek olan meme kanseri genlerinin tanımlanmasında uygundur. Penetransı düşük olan genlerin tanımlanması için, etkilenmiş ve etkilenmemiş popülasyonlarda aday gene dayalı ilişkilendirme çalışmaları, tümörlerde somatik mutasyonların (genetik, epigenetik ve gen ifade değişimleri) analizi ve yeni, daha geniş kapsamlı genomik teknikleri içeren yaklaşımlar kullanılır (Polyak, 2002) (Şekil 2). İlişkilendirme çalışmalarının en basit ve en etkili olanı, bizim de bu çalışmada yaptığımız gibi meme kanserli hastalar ve kontrollerin allel sıklıklarını karşılaştıran hasta-kontrol yaklaşımıdır. Hasta-kontrol çalışmaları, genetik polimorfizmler ile popülasyonda sık gözlenen hastalıklar arasındaki ilişkiyi araştırmak için kullanılan en yaygın yöntemdir. Bu tür çalışmalarda genetik etkileri %80 güvenilirlikle ($OR \geq 2.0$) tesbit etmek için en az 200 hasta ve 200 kontrolün çalışılması gerektiği öne sürülmektedir (Garcia-Closas ve ark., 2000).

Aday meme kanseri yatkınlık genlerinin, kodlanan bölgelerindeki polimorfizmlere ek olarak, yakın zamanda yapılan çalışmalar, promotorler ve intronlar gibi kodlamayan bölgelerdeki dizi değişimlerinin de meme kanseri riski üzerinde etkili olabileceğini göstermiştir. Bu değişimlerin moleküler etkisi henüz açık değildir, fakat bu değişimlerin, genlerin mRNA/protein düzeylerini etkilediği birçok çalışmada gösterilmiştir (Polyak, 2002).



Şekil 2: Meme kanserine neden olan gen mutasyonlarının tayini için kullanılan yaklaşımların özeti. bc 49, 49 yaşında ortaya çıkan meme kanseri (Polyak'dan, 2002)

2.5. MEME KANSERİ VE SNP'ler

İnsan genomunun dizilenmesiyle birlikte, DNA'nın yaklaşık %99.9'unun bütün insanlarda benzer olduğu görülmüştür (Kotnis ve ark., 2005). %0.1'lik fark, bireyler arası varyasyondan ve her bireyin bireysel fenotipinden sorumludur. Tek baz değişimi şeklinde görülen bu küçük genetik varyasyonlar, SNP'ler olarak adlandırılırlar. SNP'ler, genel popülasyonda sıklıkla oluşan (>%1) genetik değişimler olarak sınıflandırılırken, proteinler üzerinde bariz fonksiyonel değişiklikler oluşturan nadir varyantlar ise mutasyon olarak sınıflandırılır. Mutasyonlarla karşılaştırıldığı zaman, SNP'ler, fonksiyonel olarak anlamsız olarak düşünülmekte iken, sonraki bulgular, dikkate değer bir kısmının proteinlerin iç özelliklerini ve fonksiyonlarını çeşitli derecelerde etkilediğini göstermiştir (Collins ve ark., 1997; Chakravarti, 1998; Mehrian-Shai ve Reichardt, 2004). SNP'ler insan genomunda, en fazla görülen genetik değişimlerdir (Don Haeng ve Ki-Baik, 2008). SNP'lerin yaklaşık 30.000'i klinik olarak görülebilir fenotipik etkiye sahiptir ve bunlar, artmış/azalmış transkripsiyon, değişmiş transkripsiyon sonrası ve translasyon sonrası aktivite veya proteinin dördüncül

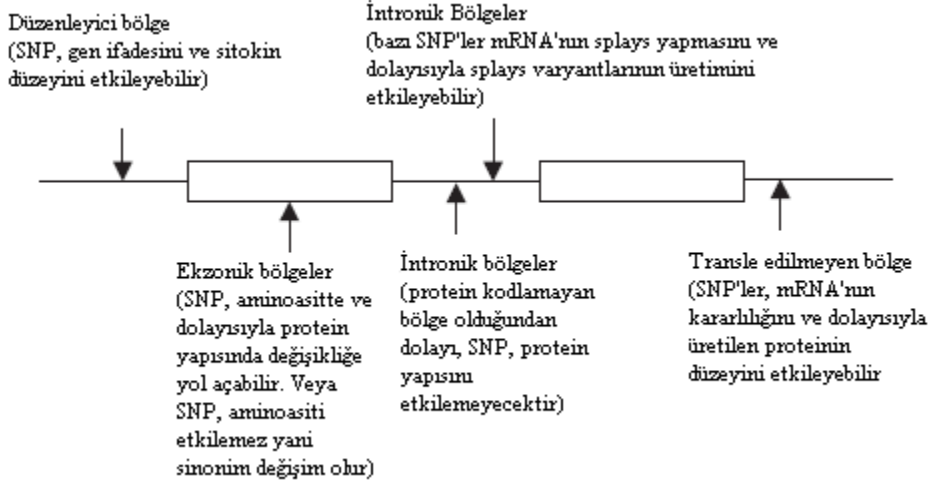
yapısında değişiklikler oluşturabilirler (Li ve ark., 2001; Shastri, 2002). SNP'ler, bireyler arasındaki kan basıncı, ilaç metabolizması, kan pıhtılaşması ve kardiyovaküler fonksiyon bozuklukları gibi birçok fizyolojik fonksiyon çeşitliliğinden sorumludur (Herrington, 2003; McGillavry ve Prins, 2003; Tempfer ve ark., 2004).

Tek bir SNP'nin etkisi genellikle küçük olmasına rağmen, fonksiyonel olarak birbiriyle ilişkili SNP'lerin toplu genetik etkisi, eklemeli veya sinerjik olarak artan meme kanseri riski oluşturabilir. Meme kanseri ve SNP'ler arasındaki ilişki, birçok çalışmada incelenmiştir. Aslında meme kanseri, SNP'lerin en çok çalışıldığı hastalık grubu olup birçok SNP'nin küçük ama anlamlı risk artışına sebep olduğu gösterilmiştir (Tempfer ve ark., 2006).

2.6. SİTOKİN GENLERİ VE GEN POLİMORFİZMLERİ

İmmün sistem, insanları enfekte edici ajanlara ve tümör gelişimine karşı korumak için gelişmiş karmaşık bir hücreler ağıdır. İmmün sistemin bir parçası olan sitokinler, özel uyarılara cevap olarak hücreler tarafından salgılanan immün düzenleyici proteinler veya glikoproteinlerdir. Hedef hücreler üzerinde ve özellikle hematopoetik sistemde, aktivite gösterirler; hedef hücrelerdeki özel sitokin reseptörlerine bağlanırlar ve bu hücreler içindeki sinyal iletimi ve ikincil mesaj yolunu başlatırlar. Bu olaylar, mitotik bölünme, büyüme ve farklılaşma, göç veya apoptosize yol açan gen aktivasyonu ile sonuçlanabilir. Sitokinler, hem kendi hem de diğer sitokin ve sitokin reseptörlerinin sentezini düzenleyen oldukça karmaşık ve birbirleriyle bağlantılı bir sistem içinde çalışırlar. İmmün hücreler tarafından, hem antijene-özgü hemde antijene-özgü olmayan uyarılara cevap olarak, çok sayıda sitokinin üretimi, inflamatuvar immün cevapta kritik rol oynar (Howell ve Rose-Zerilli, 2007). Sitokinler çok düşük yoğunlukta fonksiyon göstermesine rağmen, etkileri dolaşımdaki miktarlarıyla yakından ilgilidir. Bu yüzden, sitokin üretimini artıran gen ifade bozuklukları, organizmanın homeostazisini bozar ve organa özgü veya sistemik sorunlara yol açar (Cuenca ve ark., 2001). Sitokinler, immün hücreler kadar birçok organ sistemindeki hücrelerin hayatta kalma, çoğalma, farklılaşma ve fonksiyonunu düzenlemekte ve ayrıca kanseri de içeren birçok hastalığın mekanizmasında yer almaktadır (Kubo ve ark., 2003).

Sitokinler ve sitokin reseptör genleri, yüksek derecede polimorfiktir. Bu genler, ekzon dizileri açısından korunmuştur. Bu genlerdeki polimorfizmlerin çoğunluğu, genlerin transle edilmeyen bölgelerinde bulunmaktadır (http://www.ashihla.org/publicationfiles/ASHI_Quarterly/26_4_2002/Polymorphism.pdf). Genin 5' ve 3' düzenleyici dizilerindeki polimorfizmler, transkripsiyon faktörünün bağlanma bölgesinin yapısını değiştirerek transkripsiyonu etkileyebilirler. İntronik polimorfizmler, mRNA'nın splay bölgelerini veya ifadeyi yükseltici (enhancer) ve susturucu (silencer) bölgelerin yapısını etkileyebilir (Bidwell; 1998) (Şekil 3).



Şekil 3: Sitokin genlerindeki SNP bölgeleri ve onların olası sonuçları (Ollier'den, 2004)

Sitokinler, otoimmün, enfeksiyonel, alerjik veya kardiyovasküler hastalıklar gibi birçok hastalıkta etkin rol oynamaktadır. Bu nedenle sitokin gen polimorfizmlerinin bu hastalıklarla ilişkisinin incelendiği çok sayıda genetik çalışma yapılmıştır (Bidwell ve ark., 1999; Haukim ve ark., 2002; Hollegaard ve Bidwell, 2006). Örneğin, TNF- α promotorundaki polimorfizmler ile romatoid artrit, serebral sıtma, astım ve kardiyak, böbrek ve akciğer transplantasyonundan sonra ciddi rejeksiyon arasında ilişki gösteren yayınlar mevcuttur (McGuire ve ark., 1994; Moffatt ve Cookson, 1997; Sankaran ve ark., 1999; Pelletier ve ark., 2000; Bathgate ve ark., 2000; Azzawi ve ark., 2001). Sitokin polimorfizmleri ve kanser arasındaki ilişkiyi gösteren çalışmaların sayısı da hızla artmaktadır. TNF- α ve TNF- β (LT- α) SNP'leri ile kronik lenfositik lösemi, non-

Hodgkin's lenfoma ve meme kanseri gibi bazı kanserler arasında ilişki gösteren çalışmalar vardır (Demeter ve ark., 1997; Chouchane ve ark., 1997; Warzocha ve ark., 1998; Mestiri ve ark., 2001). Sitokin gen polimorfizmleri ile ilgili çok sayıda in vitro ekspresyon çalışmaları ve in vivo hastalık ilişki çalışmaları mevcuttur (Bidwell ve ark., 2001; Haukim ve ark., 2002; Hollegaard ve Bidwell, 2006).

2.6.1. Tümör Nekrosis Faktör Alfa (TNF- α =TNFA), [= Tümör Nekrosis Faktör (TNF), TNF Superfamily Member 2 (TNFSF2)], (MIM: 191160)

TNF- α , multifonksiyonel bir sitokin olup ilk olarak in vitro ve in vivo solid tümörlerin nekrozuna aracılık eden ve makrofajdan elde edilmiş bir serum proteini olarak tanımlanmıştır (Carswell ve ark., 1975). TNF- α , çoğunlukla aktive edilmiş makrofajlar, T lenfositleri ve doğal öldürücü (NK) hücreler tarafından sentezlenir; düşük seviyelerde ise, fibroblastlar, düz kas hücreleri ve tümör hücreleri gibi çeşitli hücrelerden sentezlenmektedir (Vassalli, 1992; Naylor ve ark., 1993). TNF- α , hem salgı proteini, hem de membrana bağlı protein olarak eksprese edilir ve homotrimerik formda bulunur (Li ve ark., 2000).

TNF- α 'nın biyolojik fonksiyonu çok karmaşıktır. Akut durumlarda, TNF- α 'nın lokal üretimi faydalıdır. Vasküler endoteldeki adezyon moleküllerinin üretimini artırarak immün hücrelerin, özellikle nötrofil ve makrofajların, doku hasarı veya enfeksiyonun olduğu bölgeye gitmesine izin verir (Barbara ve ark., 1996). Bunun yanı sıra, TNF- α , fagositleri aktive ederek, onların enfekte edici ajanları ve hücre enkazlarını temizlemesini sağlar. Fakat TNF- α 'ya sistemik ve uzun süreli maruz kalmak zararlı olabilir. Dolaşımdaki fazla TNF- α seviyesi, toksik şok ve cerrahi veya travma hastalarında metabolizmanın bozulması ile ilişkili bulunmuştur (Tracey ve ark., 1986).

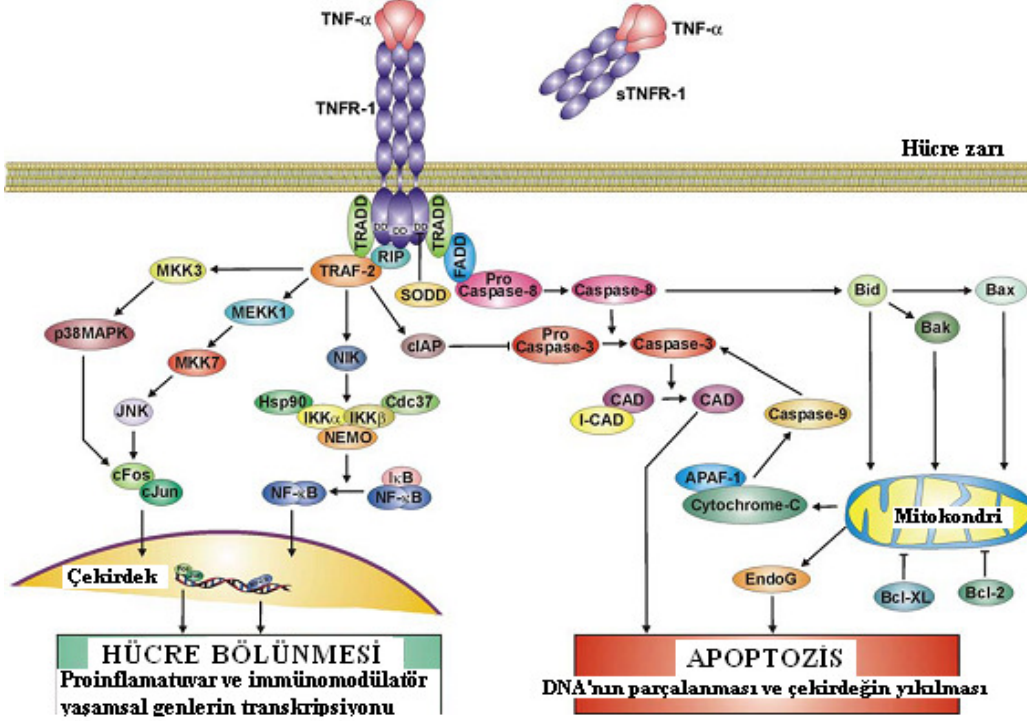
TNF- α , hem protümörijenik hem de antitümörijenik özellik göstermektedir (Naylor ve ark., 1993; Balkwill, 2002). Tercihen, yüksek dozda lokal TNF- α uygulaması, tümör kan damarlarını tahrip eder ve güçlü bir anti-tümör aktivitesine sahiptir (Lejeune ve ark., 1998). Fakat kronik olarak üretildiğinde, bu sitokin, endojen tümör geliştirici olarak aktivite gösterir ki bu durumda, tümör gelişimi ve yayılması için gerekli olan dokunun yeniden şekillenmesi ve stromal gelişime yardımcı olur (Balkwill ve Mantovani, 2001). Kanser gelişiminin, TNF- α 'nın düzensiz ve fazla üretimi ile ilgili olduğu gösterilmiştir (Balkwill, 2002). Yüksek miktarlarda TNF- α 'ya, enflamatuvar

dokularda, memeyi de içeren birçok insan tümöründe (Balkwill, 2002) ve hatta obezite ve kanser hastalarının serum örneklerinde rastlanmıştır (Bray ve ark., 2002b; El-Omar ve ark., 2000). Bu yüzden TNF- α 'nın ifade düzeyi, kanserde patogenez ve hastalığın prognozu hakkında belirleyici olabilir (Moore ve ark., 1999; Suganuma ve ark., 1999). Meme tümörünün mikroçevresindeki kronik enflamasyonun, özellikle de yüksek TNF- α seviyesinin, meme kanserinin büyümesi kadar ilerlemesine de yol açabildiği gösterilmiştir (Leek ve ark., 1998).

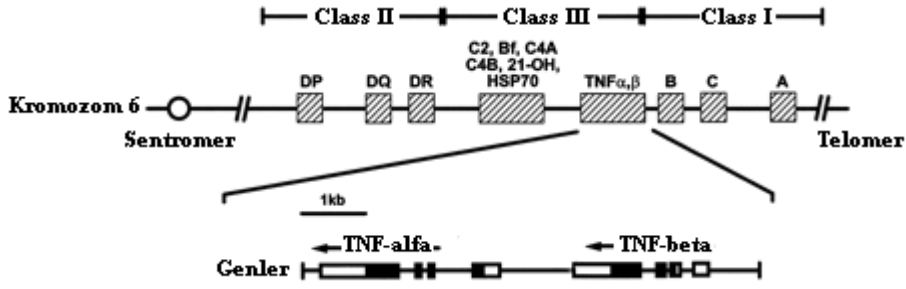
TNF- α 'nın biyoaktivitesi çoğunlukla, çözünebilir TNF- α bağlayan reseptörler tarafından düzenlenir (Smith, 1994). TNF- α , TNFR-1 ve TNFR-2 olarak adlandırılan iki farklı reseptör aracılığıyla aktivite gösterir (Vandenabeele ve ark., 1995). TNF α 'nın TNFR-2'ye olan afinitesi, TNFR-1'den 5 kat fazla olmasına rağmen, TNF- α 'nın biyolojik aktivitesinin çoğunluğunu TNFR-1 başlatır (Tartaglia ve Goeddel; 1992). TNFR-1 (p60), bütün hücre tiplerinde eksprese olmasına rağmen, TNFR-2 (p80)'nin ifadesi çoğunlukla immün hücrelerle sınırlıdır (Aggarwal, 2003). Bu iki reseptör arasındaki temel fark, TNFR-2'de eksik olan, fakat TNFR-1'de bulunan ölüm domainidir (DD = Death domain). Bu yüzden, TNFR-1, apoptotik hücre ölümünü indüklemeye yeteneğine sahip ölüm reseptör ailesinin önemli bir üyesidir. TNFR-1, apoptozisin yanı sıra, hücre yaşam sinyalleriyle de uyum sağlama özelliğine sahiptir (Şekil 4). TNFR-2 ise, apoptozisi indüklemekle beraber, hayatta kalmayı artıran doku tamiri ve anjiogenezisi de sağlayabilir.

1984 yılında klonlanmış olan TNF- α geni, insan kromozomu 6'nın kısa kolu üzerinde (6p21.3) yer alır ve TNF lokusu içinde TNF- β geni ile ardışık yerleşmiştir (Pennica ve ark., 1984). TNF- α geni, MHC'nin sınıf (class) III bölgesindeki 7 kb'lık (kilobaz) DNA içinde yer alır (Şekil 5). Gen, 2763 nükleotidden oluşur, dört ekzon ve üç intron içerir (NC_000006) (GeneID: 7124). TNF- α 'nın 1. ekzonu (338 bç) 5'UTR'yi ve sinyal dizisinin çoğunluğunu, 2. ekzonu (46 bç) sinyal dizisinin kalan kısmını ve olgun proteinin ilk amino asitini, 3. ekzonu (48 bç) olgun proteinin bir kısmını ve 4. ekzon (1210 bç) olgun proteinin kalan kısmını ve 3'UTR'yi kodlar (Posch ve ark., 2003). Gen, 1669 bç'lik bir mRNA sentezler (NM_000594). Biyolojik olarak trimerik formda hareket eden 17 kDa'luk bir protein olan TNF- α , başlangıçta hücre zarına bağlı 233 aminoasitlik bir form olarak sentezlenir ve 157 aminoasitlik sitokini oluşturmak üzere metalloproteinaz ile proteolitik işleme tabi tutulur (NP_000585). TNF- α , bir

disülfid bağı içermektedir ki, bu onun biyolojik fonksiyonu için önemlidir (Narachi ve ark., 1987).



Şekil 4: TNFR-1 sinyal yolağı. TNF- α , hem yaşamsal ve çoğalma ile ilgili yolağı hem de apoptozis yolağını TNFR-1 ile aktive eder. Kısaltmalar: APAF-1, apoptozis protein aktive edici faktör 1; Bcl-2, B-hücre lenfoma 2; Bid, Bak, Bax, and Bcl-XL, Bcl-2 ailesinin mitokondrial proteinleri; CAD, kaspaz-aktive edici DNaz; Caspase-3/8/9, sistein aspartaz (apoptotik proteaz) 3/8/9; Cdc37, HSP90'nın ko-şaperonu; cIAP, apoptozisin sitoplazmik inhibitörü; cFos/cJun, transkripsiyon faktörleri; DD, ölüm domaini; EndoG, mitokondrial DNaz; FADD, Fas-ilişkili DD; HSP90, ısı şok proteini 90; I-CAD, CAD'ın inhibitörü; I κ B, NF- κ B'nin inhibitörü; IKK α/β , I κ B kinaz; JNK, cJun n-terminal kinaz; MEKK1, mitojen-aktive edici protein kinaz/hücre-dışı sinyal-ilişkili kinaz 1; MKK3/7, MAPK kinaz 3/7; NEMO, NF- κ B esas modülatörü; NF- κ B, nükleer faktör kappa B transkripsiyon faktörü; NIK, NF- κ B indükleyici kinaz; p38MAPK, p38 mitojen-aktive edici protein kinaz; RIP, reseptörle karşılıklı etkileşen protein; SODD, DD'nin susturucusu; sTNFR-1, çözünür TNFR-1; TNF- α , tümör nekrozis faktör alfa; TNFR-1, TNF resetör 1; TRADD, TNF reseptör-ilişkili DD; TRAF-2, TNF reseptör-ilişkili faktör-2. (van Horssen'den, 2006)

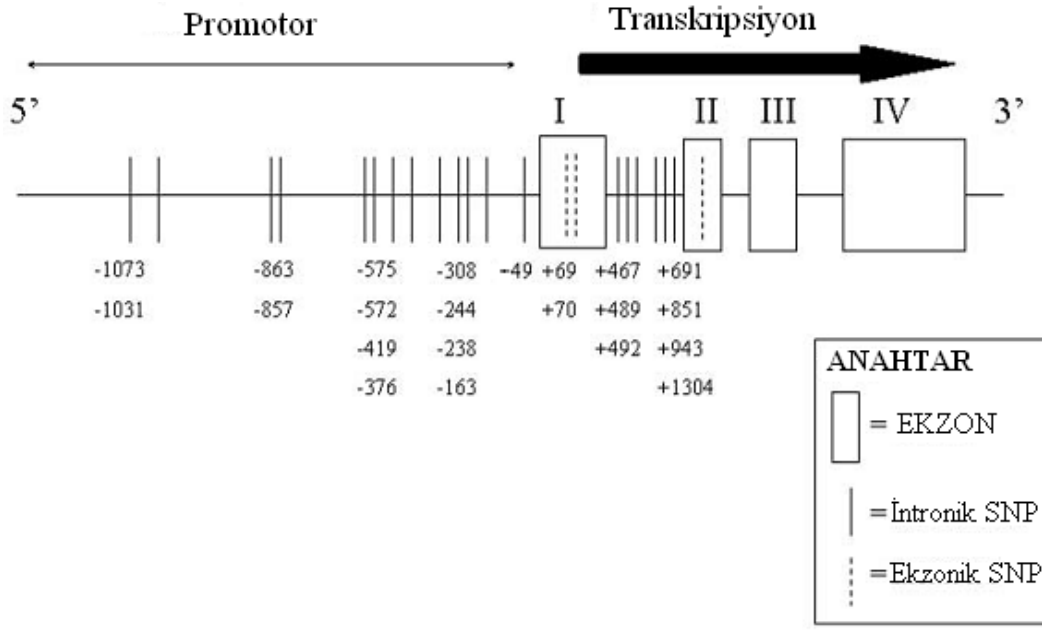


Şekil 5: TNF genlerinin yapısı. MHC bölgelerinin yerleşimleri gösterilmektedir. Açık renk kutular TNF ekzonlarının transle edilmeyen, koyu renk kutular transle edilen bölgeleri, çizgiler ise intronları göstermektedir. C2 = kompleman bileşen 2; Bf = kompleman faktör B; C4A = kompleman bileşen 4A; C4B = kompleman bileşen C4B; 21-OH = 21-hidroksilaz (Holmes'den, 2003).

TNF- α 'nın ifadesi, çoğunlukla transkripsiyonel olarak kontrol edilmekle birlikte post-transkripsiyonel veya translasyonel düzeyde de düzenlenmektedir (Aquilon ve ark., 2002). TNF- α promotor bölgesi içinde çeşitli polimorfizmler, TNF- α 'nın üretim seviyesi ile ilişkilendirilmiştir (Kroeger ve ark., 1997; Jang ve ark., 2001; Kirkpatrick ve ark., 2004).

TNF- α geni içinde promotor bölgesi de dahil olmak üzere çok sayıda (yetmiş yakın) SNP tanımlanmıştır (<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=TNF&snp=69#snp>). Bunlardan bazıları, -1073(C>T), -1031(T>C), -863(C>A), -857(C>T), -575(G>A), -572(A>C), -419(G>C), -376(G>A), -308(G>A), -244(G>A), -238(G>A), -163(G>A) ve -49(G>A)'dır (Posch ve ark., 2003; Simmonds ve ark., 2004; Elahi ve Matata, 2005). Bu durum bize TNF- α geninin 5' bölgesinin yüksek derecede polimorfik olduğunu göstermektedir. Bunlara ek olarak, ilk ekzonda +69 G>C değişimi ve +70 pozisyonunda bir sitokin insersiyonu, ilk intronda +691 pozisyonunda bir guanin delesyonu ile birlikte +467(G>A), +489(G>A), +492(G>A), +851(A>G), +943(G>A), +1304(A>G) SNP'leri mevcuttur (Simmonds ve ark., 2004; Elahi ve Matata, 2005) (Şekil 6). İlginç olarak, -1031 ile -863 pozisyonundaki SNP'ler arasında ve -376 ile -238 pozisyonundaki SNP'ler arasında bağlantı dengesizliği mevcuttur (Bağlantı dengesizliği, bir bireyde aynı veya farklı lokuslardaki iki allelin birarada bulunma

sıklığının rastlantı olarak tahmin edilenden daha fazla olması durumunda ortaya çıkar). Ek olarak, TNF- α geni -308 pozisyonundaki polimorfizm, komşusu TNF- β (LT- α) genindeki kodon 26'daki polimorfizm ile bağlantılıdır (Hamann ve ark., 1995). TNF- α -308 polimorfizmi ile HLA-A1, B8 ve DR3 haplotipleri arasında bağlantı dengesizliği gösterilmiştir (Wilson ve ark., 1993).



Şekil 6: TNF- α gen yapısı ve bilinen polimorfizmlerin bir kısmı (Simmonds'dan, 2004)

TNF- α 'daki yaygın genetik varyasyonların, genin ifade düzeyini değiştirdiği gösterilmiştir (Westendorp ve ark., 1997; Negoro ve ark., 1999). TNF- α geninde en sık gözlenen ve promotor bölgede genin başlama bölgesinin 308 bç önünde yerleşik bulunan G>A polimorfizmi (-487A>G) (rs1800629), genin transkripsiyonel aktivitesi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (Wilson ve ark., 1992). Bu noktada, guanin (G) nükleotidinin, adenin (A) nükleotidine dönüşümü şeklinde bir değişim gözlenir. -308 konumundaki guanin, sık gözlenen TNFA1 allelini tanımlarken, adenin, nadir gözlenen TNFA2 allelini tanımlar (Wilson ve ark., 1992). -308A alleli, -308G alleleline göre daha güçlü bir transkripsiyon sağlar (Messer ve ark., 1991; Wilson ve ark., 1997; Baseggio ve ark., 2001; González ve ark., 2003). TNF- α -308G>A polimorfizmi, transkripsiyon

faktörü AP-2'nin bağlanma bölgesi olan bir konsensus dizi içinde yer alır (Kroger ve Abraham, 1996). -308A alleli varlığında TNF- α 'nın 10 bp'lik bir bölgesi, AP-2'nin konsensus bağlanma bölgesi ile homoloji göstermektedir ki bu homoloji, -308G varyantında azalır (Kroger ve Abraham, 1996). Yapılan çalışmalar, -308A allelini içeren hücrelerin, -308G allelini içeren hücrelere göre altı kat daha fazla mRNA sentezlediğini göstermiştir (Cabrera ve ark., 1995). -308A alleli, çözülmüş yüksek serum TNF- α düzeyi ve periferal kan mononükleer hücreleri (PBMCs) tarafından yüksek TNF- α üretimi ile ilişkilendirilmiştir (Wilson ve ark., 1992; Stuber ve ark., 1996; Bouma ve ark., 1996b; Wilson ve ark., 1997; Louis ve ark., 1998; Knight ve ark., 1999; Tang ve ark., 2000; Fernandes ve ark., 2002; Nordlander ve ark., 2002; Schroeder ve ark., 2003; Jeong ve ark., 2004; Balog ve ark., 2004).

TNF- α -308G/A polimorfizminin, serebral sıtma, mukokütanoz leishmania, ülseratif kolitis, Crohn's hastalığı, fetal meningokokkal hastalık, sistemik lupus eritematöz ve septik şok gibi bulaşıcı ve iltihabi hastalıklar için risk oluşturduğu gösterilmiştir (McGuire ve ark., 1994; Cabrera ve ark., 1995; Nadel ve ark., 1996; Stuber ve ark., 1996; Westerndorp ve ark., 1997; Sullivan ve ark., 1997; Hohler ve ark., 1998; Mira ve ark., 1999; Wittle ve ark., 2002; Gonzalez ve ark., 2003; Mugnier ve ark., 2003). Aynı zamanda, TNF- α -308G/A polimorfizmi ile meme kanseri de dahil birçok kanser tipi arasında artan veya azalan ilişki tesbit edilmiştir (Tablo 2).

2.6.2. Tümör Nekrosis Faktör Beta (TNF- β =TNFB), [=Lenfotoksin alfa (LT- α =LTA), TNF Superfamily Member 1 (TNFSF1)], (MIM: 153440)

Tümör nekrosis faktör ailesinin bir üyesi olan TNF- β , yüksek derecede uyarılan, salgılanan ve homotrimerik formda bulunan bir sitokindir (Eck ve ark., 1992). Çok çeşitli iltihabi, immunostimulator ve antiviral yanıtların oluşmasında etkindir. Aynı zamanda gelişim sırasında ikincil lenfoid organların oluşumunda yer alır ve apoptoziste rol oynar (GeneID: 4049).

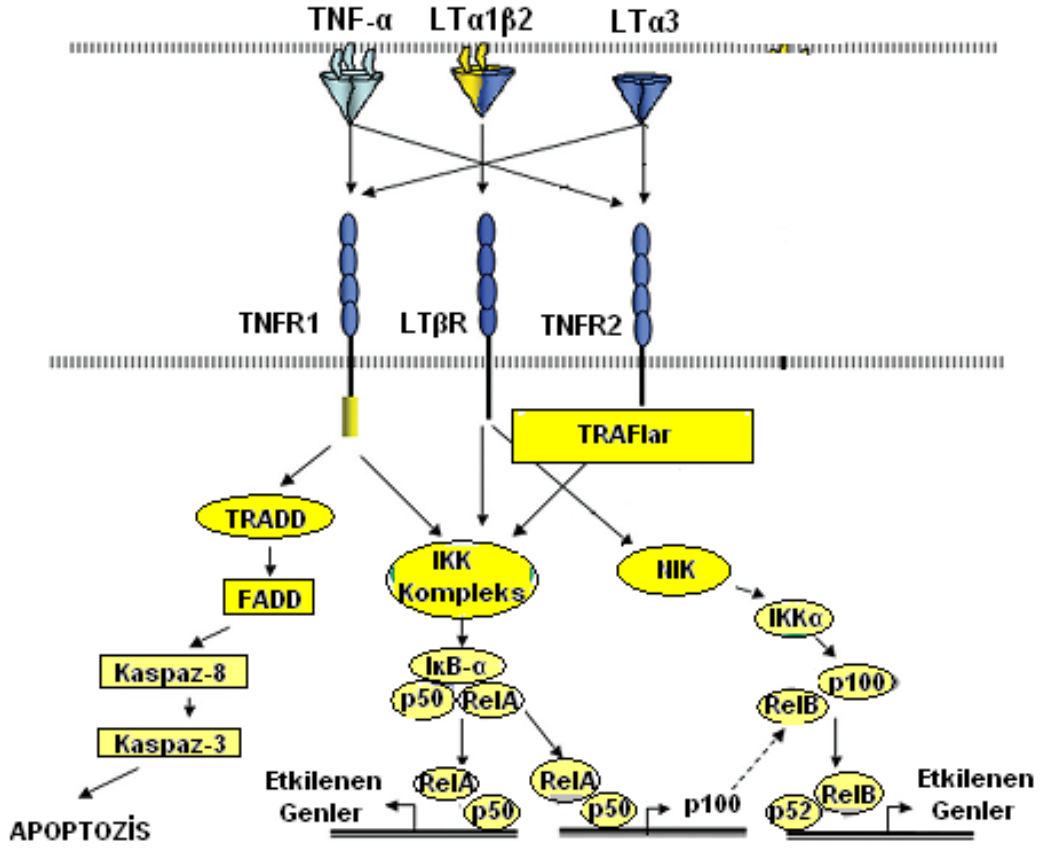
TNF- β , TNF- α gibi TNF reseptörleri tarafından tanınır ve birçok biyolojik etkileri TNF- α ile benzerdir (Smith, 1994). Her iki gen, aminoasit dizisi açısından %35 benzerlik ve %50 homoloji gösterirler (Ruuls ve Sedgwick, 1999; Chan ve ark., 2000; Locksley ve ark., 2001). Her iki protein benzer biyolojik aktiviteye sahiptir, fakat yapıları araştırıldığında, TNF- α 'nın bir disülfit bağı içermesine rağmen TNF- β 'nin

sistein amino asiti içermeyen bir glikoprotein olduğu görülmüştür (Aggarwal ve ark., 1985). TNF- α 'nın aksine, TNF- β , çoğunlukla uyarılmış T hücreleri (lenfositler) tarafından ifade edilir ve salgınır (Steffen ve ark., 1988). TNF- β , sadece salgı proteini olarak homotrimer halde ifade edilir (Li ve ark., 2000) ve hücre yüzeyine LT- β ile heterotrimer oluşturarak bağlanabilir (Browning ve ark., 1993).

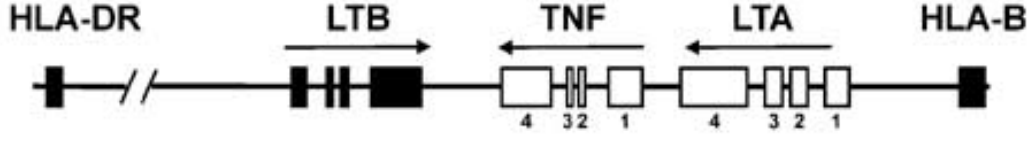
TNF- β homotrimeri (LT α 3), TNF- α ile aynı yüzey reseptörlerine (TNFR-1 ve TNFR-2) bağlanarak biyolojik etkisini gösterir (Old; 1985) (Şekil 7). TNFR1'e bağlanarak apoptozisi, TNFR2'ye bağlanarak ise gen transkripsiyonu ve hücre çoğalmasına indükler. TNF- β /LT- β kompleksi (LT α 1 β 2) ise farklı fakat diğerleri ile ilişkili bir reseptöre, LT β R'ye, bağlanır ve bu yolla gen transkripsiyonu ve hücre çoğalmasını indükler (Crowe ve ark., 1994; Browning ve ark., 1995). (Şekil 7).

Farelere transplante edilen insan solid tümörlerde TNF- β 'nin anti-tümör ve anti-metastatik etkisi rapor edilmiştir (Funahashi ve ark., 1991; Qin ve Blankenstein, 1995). Yine ovaryum ve servikal karsinoma hücrelerinde TNF- β ve TNF- α 'nın sitolitik aktivitesi gösterilmiştir (Powell ve ark., 1998). Akciğer, kolorektal ve gastrik kanserli hastalarda TNF- β lokusu için soyhattı SNP sıklığı, sağlıklı kontrollerde bulunandan anlamlı derecede farklılık göstermektedir (Shimura ve ark., 1994, 1995; Hagihara ve ark., 1995; Park ve ark., 1998).

İnsan TNF- β geni, kromozom 6'nın kısa kolu (6p21.3) üzerindeki MHC içinde HLA-B ve HLA class III genleri arasında TNF- α ile ard arda yerleşiktir (Carroll ve ark., 1987; Inoko ve Trowsdale, 1987). TNF- α ile sıkı bir bağlantı içindedir ve TNF- β 'nin poliadenilizasyon bölgesi ile TNF- α 'nın transkripsiyon başlangıç bölgesi arasında 1240 bç'lik bir alan bulunmaktadır (Posch ve ark., 2003) (Şekil 8). Gen, 2006 nükleotidden oluşur, 4 ekzon ve 3 intron içerir (NC_000006.10). TNF- β 'nin 1. ekzonu (163 bç) 5'UTR'nin büyük bir kısmını, 2. ekzonu (99 bç) 5'UTR'nin kalan 9 bazını ve sinyal dizisinin çoğunluğunu, 3. ekzon (106 bç) sinyal dizisinin son kodonunu ve olgun proteinin bir kısmını, 4. ekzon (1041 bç) olgun proteinin kalan kısmını ve 3'UTR'yi kodlar (Posch ve ark., 2003). Gen, 1386 bç'lik mRNA ve 205 a.a.'lik bir protein sentezler (NM_000595, NP_000586).

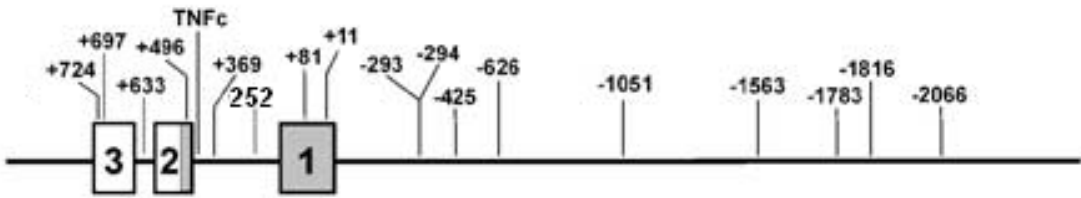


Şekil 7: TNF- α ve TNF- β genleri sinyal yolları. TNF sitokinlerinin reseptörleriyle etkileşimi oklarla gösterilmiştir. Ligandın reseptöre bağlanması, sinyal yolu kaskatının harekete geçmesine yol açar. Reseptörün hücre içi kısmında DD (ölüm domaini)'nin bulunması (TNFR-1'de), TRADD (TNFR-1 ile ilişkili ölü domain)'nin aktive olmasına ve apoptozisin gerçekleşmesine yol açar. DD'nin olmadığı durumda TNFRler, doğrudan TRAF (TNF reseptörü ile ilişkili faktör) molekülleriyle etkileşime girer ve klasik NF κ B (nükleer faktör κ B) yolağını aktifler. Bunun sonucunda da NF κ B heterodimeri (p50/RelA), çekirdeğe geçer ve etkilenen geni indükler. LT β R aynı zamanda, p100'ün işlenmesi ve p52/RelB'nin çekirdeğe aktarımını içeren, klasik olmayan bir NF κ B yolağını da indükler. FADD, Fas-ilişkili ölü domain; IKK, I κ B kinaz; NIK, NF κ B indükleyici kinaz. (Schneider'dan, 2004).



Şekil 8: TNF ve LT bölgeleri. Oklar genin sentez yönünü göstermektedir ve ekzonlar numaralandırılmıştır.. (Posch'dan, 2003)

TNF- β geni içinde çok sayıda (altmışa yakın) SNP rapor edilmiştir (<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=lta&snp=56#snp>) (Şekil 9). Bunların birçoğu promotor bölge içinde transkripsiyon başlama noktasının önünde -2066(C>T), -1876(C>G), -1783(G>A), -1563(A>T), -1051(G>A), -626(G>A), -294(C>T), -293(G>A) noktalarında bulunmaktadır (Posch ve ark., 2003). İlk olarak 5'UTR'nin çoğunluğunu kodlayan 1. ekzonda +11(G>A) ve +81(C>A) olmak üzere iki, 1. intronda +252(A>G) ve +369(G>C) konumlarında iki tane SNP tanımlanmıştır (Dawkins ve ark., 1989; Abraham ve ark., 1991; Ferencik ve ark., 1992). Bunun yanı sıra 1. intronda bir (CT)_n dinükleotid tekrarı (n=9-10) bulunmuş ve TNF α mikrosatelliti olarak tanımlanmıştır (Nedospasov ve ark., 1991). Daha sonraki çalışmalarda bulunan 3. ekzon +724(C>A)'deki SNP'nin olgun proteinin 26. aminoasidini treoninden asparajine dönüştürdüğü (Ozaki ve ark., 2002), 2. ekzon +496(T>C)'daki SNP'nin ise, sinyal dizisi -21 konumundaki amino asitin sisteinden arjinine dönüşümüne sebep olduğu tespit edilmiştir (Posch ve ark., 2003).



Şekil 9: TNF- β geni üzerindeki bazı polimorfik bölgelerin yerleşimi. Ekzonlar kutu içine alınmıştır ve gölgeli alanlar 5'UTR'yi göstermektedir (Posch'dan, 2003).

TNF- β geni içinde tanımlanan polimorfizmlerden biri olan +252A>G polimorfizmi (rs909253), TNF- β 'nın plazma düzeyini ve in vitro TNF- β ifadesini etkilemektedir (Messer ve ark., 1991; Ozaki ve ark., 2002). +252A>G polimorfizmi, bir fosfor ester-respons DNA elementi (TRE) içinde yer alır ve AP-1, jun ve C-fos heterodimer transkripsiyon faktör ailesi için yüksek afinite gösterir. Bu tek nükleotid değişimi (+252 A>G), varyant A alleli TNFB1 (5.5 kb) ve yabani tip G alleli TNFB2 (10.5 kb) diye belirtilen iki allel oluşturur (Messer ve ark., 1991). +252A alleli, +252G allele göre daha güçlü bir transkripsiyon faktörüdür (Messer ve ark., 1991). TNF- β GG genotipine sahip olanlarda, TNF- β üretimi, A allele sahip olanlara göre anlamlı derecede düşüktür (Whichelow ve ark., 1996). TNF- β +252G alleli ile TNF- α -308A alleli ve TNF- β +724A allelleri arasında bir ilişki bulunmaktadır (Posch ve ark., 2003; Heesen ve ark., 2003). Aynı zamanda, +252A>G polimorfizminin TNF- α üretimini etkilediği ve +252GG bireylerin TNF- α mRNA düzeyinin artmış olduğu rapor edilmiştir (Temple ve ark., 2003).

TNF- β A252G polimorfizmi, miyokard infarktüs, sedef, kardiyovasküler hastalıklar, serebral damar tıkanıklığı gibi hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (Ozaki ve ark., 2002; Balding ve ark., 2003; Suzuki ve ark., 2004; Um ve ark., 2003). Aynı zamanda TNF- β A252G polimorfizminin, meme kanseri de dahil birçok kanser tipi ile ilişkisi olduğu tesbit edilmiştir (Tablo 2).

2.6.3. İnterferon Gama (IFN- γ), (MIM: 147570)

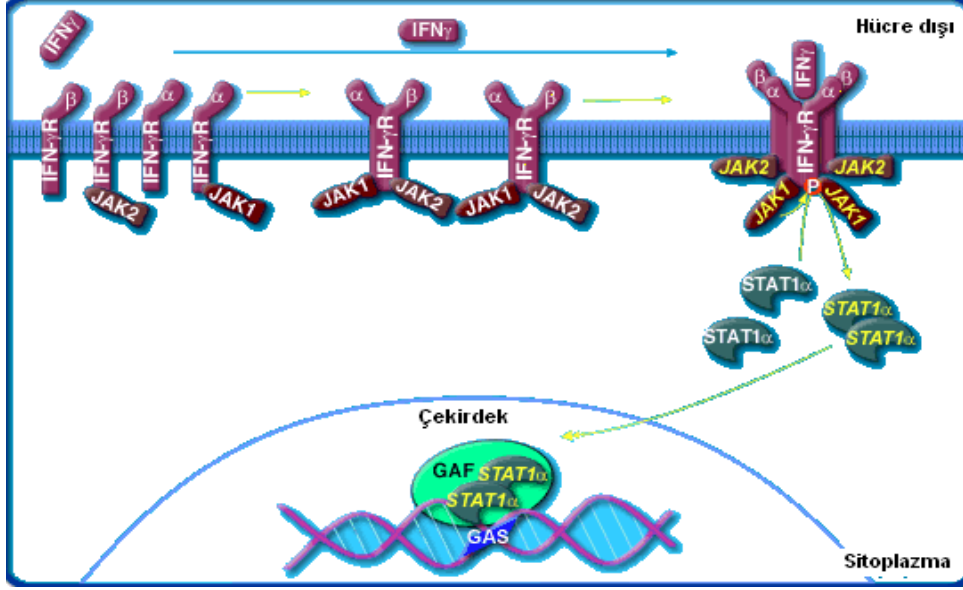
İnterferonlar, immün düzenleyici ve antiproliferatif etki gösteren diğer bir sitokin ailesidir (Stark ve ark., 1998). IFN- γ (makrofaj aktive edici faktör olarak da bilinir), bu ailenin bir üyesi olup antijenler, alloantijenler veya mitojenler tarafından aktive edildiklerinde özellikle T lenfositleri ve doğal öldürücü (NK) hücreler tarafından üretilen bir proteindir (Farrar ve Schreiber, 1993; Boehm ve ark., 1997). IFN- γ , hem koruyucu immün cevapların hem de immünopatolojik işlemlerin teşvikinde çok kritik rol oynar (Farrar ve Schreiber, 1993; Boehm ve ark., 1997; Bach ve ark., 1997). Çalışmalar, IFN- γ 'nın virüslere veya hücrelerarası patojenlere karşı savunmada ve immün sistemin çalışmasının ve gelişiminin düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığını göstermiştir (Bream ve ark., 2000; Sato ve ark., 2004; Shao ve ark., 2005).

İlk olarak doğrudan antiviral aktivitesi olan bir ajan olarak tanımlanmasına rağmen, *in vivo* ve *in vitro* gözlemler, IFN- γ 'nın çok sayıda anti-tümör mekanizmasının olduğunu ortaya koymuştur. Dolayısıyla, IFN- γ 'nın, meme kanser hücrelerini de içeren birçok tümör kaynaklı hücre hattında büyümeyi baskıladığı rapor edilmiştir (Wadler ve ark., 1990; Kirchoff ve Hauser, 1999; Ruiz-Ruiz ve ark., 2000; Gollob ve ark., 2000; Cifaldi ve ark., 2001). Endojen olarak üretilen IFN- γ , tümör oluşumunda önemli bir etkiye sahiptir ki bunu sadece tümörlere karşı koruyucu konak cevabı artırarak değil aynı zamanda tümörlerde immün saldırıdan kaçmayı kolaylaştıran cevapları düzenleyerek de yapar (Ikeda ve ark., 2002). Devamlı düşük seviyede IFN- γ üretimi, tümör gelişimini artırır; fakat devamlı yüksek seviyede IFN- γ üretimi, önemli anti-tümör etki gösterir. Bu sonuçlar, IFN- γ 'nın tümör gelişiminde veya tümör immütedavisinde “iki- taraflı kılıç” gibi görev aldığını göstermektedir (He ve ark., 2005).

IFN- γ 'nın biyolojik etkisi, hücre içi moleküler sinyal ağının aktivasyonu yolu ile ortaya çıkar ki bunun da en iyi tanımlanmış olanı JAK-STAT sinyal yolağıdır (Şekil 10). Klasik IFN- γ sinyal yolağı, IFN- γ 'nın hücre yüzey reseptörleri olan IFN γ R1 (iki α zincirinden oluşur) ve IFN γ R2 (iki β zincirinden oluşur)'ye bağlanması ile başlar ve bunu reseptörün oligomerizasyonu izler. JAK 1 ve 2'nin aktivasyonu, JAK'ların ve reseptör alt ünitelerinin trans-fosforilasyonuna olanak sağlar. Reseptörün tirozin fosforilasyonundan sonra bir transkripsiyon faktörü olan STAT1, reseptöre bağlanır ve bir homodimer oluşturur. Fosforilize olmuş olan bu homodimer, çekirdeğe geçer ve gen transkripsiyonunu başlatmak için promotorlardaki GAS elementlerine bağlanır (Gough ve ark., 2008).

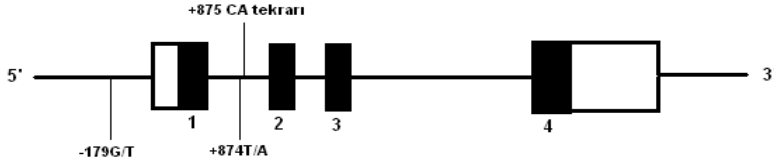
İnsan IFN- γ geni, kromozom 12q24.1'de yer alır, 4975 nükleotidden oluşur ve dört exon ve üç intron içerir (NC_000012.10) (Gray ve Goeddel; 1982; Baron ve ark., 2002; Tegoshi ve ark., 2002) (Şekil 11). 1240 bç'lik mRNA, 166 aminoasitlik kısa bir polipeptid ve 20 aminoasitlik bir sinyal peptidi kodlar (NP_000610, NM_000619).

Delesyon analiz çalışmaları, -100'den -30'a kadar uzanan bölgeyi içeren kor IFN- γ promotörü, evrim süresince çok iyi korunmuş olduğunu göstermiştir (Chrivia ve ark., 1990; Penix ve ark., 1993). Ayrıca birinci intronda enhancer bölgeler yerleşiktir ve intron 1, 2 ve 3'de birçok NF κ B bağlanma bölgesi tanımlanmıştır (Ciccarone ve ark., 1990, Sica ve ark., 1992).



Şekil 10: Klasik IFN- γ sinyal yolağı

(<http://www.biocarta.com/pathfiles/ifngPathway.asp#history>)



Şekil 11: IFN- γ gen yapısı ve bilinen bazı polimorfizmler. Ekzonlar koyu kutular içine alınıp numaralandırılmıştır. Açık renkli kutular 5'UTR ve 3'UTR'yi (transle edilmeyen bölgeler) göstermektedir.

IFN- γ geni içinde çok sayıda (yüze yakın) SNP tanımlanmıştır (<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=IFNG>). IFN- γ genindeki genetik polimorfizmlerin, farklı miktarlarda IFN- γ salınımı ile ilgili olduğu ve bu yüzden biyolojik önemi olabileceği gösterilmiştir (Pravica ve ark., 1999). IFN- γ geninin birinci intronunda +874 konumunda T'den A'ya şeklinde olan bir tek nükleotid değişimi tanımlanmıştır (Pravica ve ark., 2000). IFN- γ +874T>A polimorfizminin (rs2430561), insan IFN- γ geninin transkripsiyonu için fonksiyonel öneme sahip olabilen bir nükleer faktör kappa B (NF- κ B) bağlanma bölgesi ile çakıştığı öne sürülmektedir (Pravica ve

ark., 2000). Bir transkripsiyon faktörü olan NF- κ B, tercihi olarak +874T alleleline bağlanmaktadır. +874T ve A alleleline sahip olma, sırasıyla yüksek ve düşük IFN- γ ifadesi ile ilişkilendirilmiştir (Pravica ve ark., 1999; Pelletier ve ark., 2000; Tambur ve ark., 2001; Rossouw ve ark., 2003). Dahası, bu polimorfizm, IFN- γ geni birinci intronu içindeki mikrosatellit polimorfizmi (CA tekrarı) ile sıkı bir bağlantı dengesizliği içindedir. +874T alleli ile bağlantılı olan (CA)₁₂ tekrarlı allel 2, in vitro stimüle edilmiş lenfositlerde yüksek IFN- γ üretimi ile ilişkilendirilmiştir (Pravica ve ark., 1999).

IFN- γ +874A allelinin parvovirüs, tüberküloz, brusella ve HBV (Hepatit B virüsü) infeksiyonu, kutanöz leishmania, SARS (ciddi akut solunum sendromu), kronik yorgunluk sendromu (CFS) gibi bazı bulaşıcı hastalıklar ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Kerr ve ark., 2003; Bravo ve ark., 2003; Lopez-Maderuelo ve ark., 2003; Tso ve ark., 2005; Yu ve ark., 2006; Liu ve ark., 2006; Kamali-Sarvestani ve ark., 2006; Chong ve ark., 2006; Carlo-Stella ve ark., 2006; Sallakçı ve ark., 2007). Aynı zamanda IFN- γ geni +874 polimorfizmi ile meme kanseri ve servikal kanser arasında ilişki tesbit edilmiştir (Tablo2).

TNF- α , TNF- β ve IFN- γ , tümör hücreleri üzerinde sinerjik etki göstermektedir (Kawatsu ve ark., 1990; de Kossodo ve ark., 1995; Ozzelo ve ark., 1995). Bu olguyla ilişki olarak, sistemik IFN- γ , lokal olarak enjekte edilmiş TNF- α ile beraber verildiğinde, faredeki meme kanserli ksenograftlarda makroskobik nekroz gözlenmiştir (de Kossodo ve ark., 1995). Benzer şekilde, insan rekombinant TNF- α 'sının, IFN- γ 'nın antitümör rolü üzerine olan artırıcı etkisi, nude mice'da büyüyen insan meme kanser kserograftlarında gösterilmiştir (Ozzelo ve ark., 1995). Nude mice'a transplante edilen insan meme kanser tümörlerinde IFN- γ 'nın, TNF- β ile sinerjik anti-tümör etkisi rapor edilmiştir (Kawatsu ve ark., 1990).

Bu veriler, TNF- α , TNF- β ve IFN- γ 'nın meme kanserine yatkınlık üzerine önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Bu yüzden, bu sitokinlerin doğal olarak yüksek miktarda üretildiği bireylerin, meme kanserini de içeren belirli malignansilere, farklı yatkınlıklar veya hassasiyetler göstermesi olasıdır. TNF- α , TNF- β ve IFN- γ 'nın düzeyleri, bu genler içindeki genetik polimorfizmlerden etkilenmektedir (Wilson ve ark., 1992; Messer ve ark., 1991; Pravica ve ark., 2000).

Tablo 2: TNF- α -308(G>A), TNF- β +252(A>G) ve IFN- γ +874(T>A) gen polimorfizmleri ile çeşitli kanser tipleri arasındaki ilişkilendirme çalışmaları

Polimorfizm	Kanser Tipi	Çalışma alanı, büyüklüğü (hasta+kontrol)	İlişki	Kaynak
TNF α _{.308A}	Meme kanseri	Tunus (243 + 174)	Yatkınlık	Mestiri ve ark., 2001
TNF α _{.308} / TNF β _{+252G}	Meme kanseri	Kore (95 + 195)	Etkisi yok / Yatkınlık	Park ve ark., 2002
TNF α _{.308} / TNF β ₊₂₅₂	Meme kanseri	Hollanda (956 + 1271)	Etkisi yok / Etkisi yok	de Jong ve ark., 2003
TNF α _{.308}	Meme kanseri	İtalya (125 + 100)	Etkisi yok	Giordani ve ark., 2003
TNF α _{.308}	Meme kanseri	İngiltere (709 + 498)	Etkisi yok	Azmy ve ark., 2004
TNF α _{.308G}	Meme kanseri	İngiltere (144 + 263)	Yatkınlık	Smith ve ark., 2004
TNF α _{.308} / TNF β ₊₂₅₂ / IFN γ _{+874T}	Meme kanseri	İran (223 + 267)	Etkisi yok / Etkisi yok / Yatkınlık	Kamali-Sarvestani ve ark., 2005a
TNF β _{+252G}	Meme kanseri	Kore (560 + 509)	Yatkınlık	Lee ve ark., 2005b
TNF α _{.308} / IFN γ ₊₈₇₄	Meme kanseri	İtalya (84 + 226)	Etkisi yok / Etkisi yok	Scola ve ark., 2006
TNF α _{.308} / TNF β ₊₂₅₂	Meme kanseri	USA + Polonya (5546 + 5219)	Etkisi yok / Etkisi yok	Gaudet ve ark., 2007
TNF α _{.308} / IFN γ ₊₈₇₄	Meme kanseri	Türkiye (38 + 24)	Etkisi yok / Etkisi yok	Gonullu ve ark., 2007
TNF α _{.308}	Meme kanseri	Rusya (167 + 139)	Etkisi yok	Ostashkin ve ark., 2008
TNF α _{.308A} / TNF β _{+252G}	Meme kanseri	Hindistan (127 + 150)	Yatkınlık / Yatkınlık	Kohaar ve ark., 2009
TNF α _{.308A}	Meme kanseri / Non-Hodgkin's lenfoma	Tunus (124 + 106)	Yatkınlık / Yatkınlık	Chouchane ve ark., 1997
TNF α _{.308A} / TNF β _{+252G}	Non-Hodgkin's lenfoma (NHL)	Fransa (273 + 96)	Yatkınlık / Yatkınlık	Warzocha ve ark., 1998
TNF α _{.308A} / TNF β ₊₂₅₂	Non-Hodgkin's lenfoma (NHL)	Fransa (204 + 120)	Yatkınlık / Etkisi yok	Juszczynski ve ark., 2002

Tablo 2: TNF- α -308(G>A), TNF- β +252(A>G) ve IFN- γ +874(T>A) gen polimorfizmleri ile çeşitli kanser tipleri arasındaki ilişkilendirme çalışmaları (devam)

TNF α _{.308} / TNF β ₊₂₅₂	Non-Hodgkin's lenfoma (NHL)	Avusturya, Almanya, İsviçre (488 +	Etkisi yok / Etkisi yok (18 yaş ve altı hastalarda)	Seidemann ve ark., 2005
TNF α _{.308A} / TNF β _{+252G}	Non-Hodgkin's lenfoma (NHL)	Amerika (1172 + 982)	Yatkınlık / Yatkınlık	Wang ve ark., 2006
TNF α _{.308A} / TNF β ₊₂₅₂	Non-Hodgkin's lenfoma (NHL)	Avrupa, Kanada, Amerika (3586 + 4018)	Yatkınlık / Etkisi yok	Rothman ve ark., 2006
TNF α _{.308} / TNF β ₊₂₅₂	Non-Hodgkin's lenfoma (NHL)	İngiltere (492 + 478)	Etkisi yok / Etkisi yok	Spink ve ark., 2006
TNF α _{.308} / TNF β ₊₂₅₂	Non-Hodgkin's lenfoma (NHL)	Avustralya (545 + 498)	Etkisi yok / Etkisi yok	Purdue ve ark., 2007
TNF α _{.308}	Kronik lenfositik lösemi (CLL)	Polonya (183 + 348)	Etkisi yok	Bogunia-Kubik ve ark., 2005
TNF β _{+252G}	Gastrik kanser	Japonya (152 + 141)	Yatkınlık	Shimura ve ark., 1995
TNF α _{.308A}	Gastrik kanser	Amerika (314 + 210)	Yatkınlık	El-Omar ve ark., 2003
TNF α _{.308A}	Gastrik kanser	Portekiz (287 + 304)	Yatkınlık	Machado ve ark., 2003
TNF α _{.308}	Gastrik kanser	Tayvan (204 + 210)	Etkisi yok	Wu ve ark., 2004b
TNF α _{.308} / TNF β ₊₂₅₂	Gastrik kanser	Çin (264 +437)	Etkisi yok / Etkisi yok	Guo ve ark., 2005
TNF α _{.308}	Gastrik kanser	Kore (122 + 120)	Etkisi yok	Lee ve ark., 2005a
TNF α _{.308}	Gastrik kanser	Çin (250 + 300)	Etkisi yok	Lu ve ark., 2005
TNF α _{.308}	Gastrik kanser	İtalya (184 + 362)	Etkisi yok	Perri ve ark., 2005
TNF α _{.308}	Gastrik kanser	Brazilya (166 +536)	Etkisi yok	Rocha ve ark., 2005
TNF α _{.308}	Gastrik kanser	Kore (237 + 461)	Etkisi yok	Kim ve ark., 2006
TNF α _{.308}	Gastrik kanser	Finlandiya (112 + 208)	Etkisi yok	Kamangar ve ark., 2006
TNF α _{.308} / TNF β ₊₂₅₂	Gastrik kanser	İspanya (404 + 404)	Etkisi yok / Etkisi yok	Garcia-Gonzalez ve ark., 2007
TNF α _{.308A}	Gastrik kanser	Polonya (305 + 427)	Yatkınlık	Hou ve ark., 2007

Tablo 2: TNF- α -308(G>A), TNF- β +252(A>G) ve IFN- γ +874(T>A) gen polimorfizmleri ile çeşitli kanser tipleri arasındaki ilişkilendirme çalışmaları (devam)

TNF α ₃₀₈	Gastrik kanser	Japonya (105 + 172)	Etkisi yok	Sugimoto ve ark., 2007
TNF α ₃₀₈ / TNF β ₂₅₂	Gastrik kanser + Duedonal ülser	Kore (341 + 133 + 261)	Etkisi yok / Etkisi yok	Lee ve ark., 2004
TNF α ₃₀₈ / TNF β _{252G}	Kolorektal kanser	Kore (136 + 325)	Etkisi yok / Yatkinlık	Park ve ark., 1998
TNF α ₃₀₈ / TNF β ₂₅₂	Kolorektal kanser	İtalya (244 + 231)	Etkisi yok / Etkisi yok	Gunter ve ark., 2006
TNF α ₃₀₈	Servikal kanser	İsveç (103 + 101)	Etkisi yok	Stanczuk ve ark., 2003
IFN γ ₈₇₄	Servikal kanser	Güney Afrika (458 + 587)	Etkisi yok	Govan ve ark., 2003
TNF α _{308A}	İnvasiv servikal kanser	Portekiz (195 + 244)	Yatkinlık	Duarte ve ark., 2005
TNF β ₂₅₂	Servikal kanser	Japonya (131 + 320)	Etkisi yok	Niwa ve ark., 2005
TNF α ₃₀₈	Servikal kanser	Güney Afrika (244 + 228)	Etkisi yok	Govan ve ark., 2006
IFN γ _{874A}	Servikal kanser	Hindistan (200 + 200)	Yatkinlık	Kordi Tamandani ve ark., 2008
TNF β _{252G}	Endometrial kanser	Japonya (110 + 220)	Yatkinlık	Niwa ve ark., 2007
TNF α _{308A} / TNF β _{252G}	Multiple miyeloma	İngiltere (198 + 250)	Yatkinlık / Yatkinlık	Davies ve ark., 2000
TNF α _{308G} / TNF β ₂₅₂	Multiple miyeloma	İngiltere (181 + 233)	Yatkinlık / Etkisi yok	Morgan ve ark., 2005
TNF α _{308G} / TNF β ₂₅₂	Multiple miyeloma	İngiltere (127 + 545)	Yatkinlık / Etkisi yok	Brown ve ark., 2007
TNF α ₃₀₈ / TNF β ₂₅₂	Multiple miyeloma	Avustralya (545 + 498)	Etkisi yok / Etkisi yok	Purdue ve ark., 2007
TNF α _{308G} / TNF β ₂₅₂	Multiple miyeloma (MM)	Macaristan (94 + 141)	Yatkinlık / Etkisi yok	Kádár ve ark., 2008
TNF β _{252A}	Akciğer kanseri	Japonya (102 + 159)	Yatkinlık	Shimura ve ark., 1994
TNF α ₃₀₈ / TNF β ₂₅₂	Akciğer kanseri	Almanya (117 + 117)	Etkisi yok / Etkisi yok	Seifart ve ark., 2005
TNF α _{308A}	Akciğer kanseri	Tayvan (202 + 205)	Yatkinlık	Shih ve ark., 2006

Tablo 2: TNF- α -308(G>A), TNF- β +252(A>G) ve IFN- γ +874(T>A) gen polimorfizmleri ile çeşitli kanser tipleri arasındaki ilişkilendirme çalışmaları (devam)

TNF α _{.308}	Nazofaringeal karsinoma	Tayvan (89 + 360)	Etkisi yok	Ho ve ark., 2006
IFN γ ₊₈₇₄	Nazofaringeal karsinoma (NPC)	Tunus (160 + 197)	Etkisi yok	Ferhat ve ark., 2008
TNF α _{.308}	Mesane kanseri	Tayvan (103 + 150)	Etkisi yok	Tsai ve ark., 2001
TNF α _{.308}	Mesane kanseri	İngiltere (196 + 208)	Etkisi yok	Marsh ve ark., 2003
TNF α _{.308}	Mesane kanseri	Kore (113 + 109)	Etkisi yok	Jeong ve ark., 2004
TNF α _{.308}	Mesane kanseri	Kore (153 + 153)	Etkisi yok	Kim ve ark., 2005
TNF α _{.308} / TNF β _{+252A}	Mesane kanseri	Japonya (141 + 173)	Etkisi yok / Yatıklılık	Nonomura ve ark., 2006
TNF α _{.308}	Prostat kanseri	İngiltere (247 + 263)	Etkisi yok	McCarron ve ark., 2002
TNF α _{.308}	Prostat kanseri	Tayvan (96 + 126)	Etkisi yok	Wu ve ark., 2004a
TNF α _{.308}	Prostat kanseri	Amerika (1585 + 1732)	Etkisi yok	Danforth ve ark., 2008
TNF α _{.308A}	Prostat kanseri	İspanya (296 + 311)	Yatıklılık	Saenz-Lopez ve ark., 2008
TNF α _{.308}	Kemik kanseri	İspanya (110 + 111)	Etkisi yok (çocuklarda)	Patio-Garcia ve ark., 2000
TNF α _{.308G}	Oral squamous hücre karsinoması (OSCC)	Tayvan (192 + 146)	Yatıklılık	Liu ve ark., 2005
TNF α _{.308A} / TNF β ₊₂₅₂	Oral squamous hücre karsinoması (OSCC)	Yunan ve Alman kökenli beyaz ırk (162 + 168)	Yatıklılık / Etkisi yok	Vairaktaris ve ark., 2008
TNF α _{.308A} / TNF β _{+252G}	Oral kanser	Yunanistan ve Almanya (160 + 153)	Yatıklılık / Yatıklılık	Yapıjakis ve ark., 2009
TNF α _{.308} / TNF β ₊₂₅₂	Deri malignant melanoması	İngiltere (146 + 220)	Etkisi yok / Etkisi yok	Howell ve ark., 2002

2.7. MEME KANSERİNDE TEDAVİ YAKLAŞIMLARI

Klinik açıdan meme kanseri genlerinin tanımlanmasının önemi değerlendirildiğinde, meme kanserine neden olduğu bilinen genlerin (BRCA1 ve BRCA2) mutasyonlarının tanısında, genetik testin önemli olduğu varsayımı henüz kesinlik kazanmamıştır (Polyak, 2002). Günümüzde tercihen en etkili önleyici tedavi yöntemi bilaterel mastektomidir. Ancak meme kanseri için ailesel riski olan ve hatta mutasyon taşıyıcısı olduğu kanıtlanan çoğu kadın, bu tedavi biçimini tercih etmemektedir. Bu yüzden, meme kanserinin erken tesbiti için yeni teknolojiler ve yeni önleyici tedaviler gerekmektedir (Polyak, 2002)

Genetik hasarlar, potansiyel tedavi edici hedefler olduklarından dolayı, meme kanserinin genetik temelini anlaşılması, daha etkili kanser önleme ve tedavi yollarının ortaya çıkmasını sağlayacaktır. Genomik teknolojiler kullanılarak tümör örneklerinin klinik verilerle ilişkisi ile birlikte analizinin, tümörlerin klinik seyirlerinin (durumlarının) kararlaştırılmasında yeni moleküler hedeflerin tanımlanması için yararlı olabileceğini göstermektedir. Östrojen-reseptör-pozitif meme tümörlerinin önlenmesi ve tedavisinde, anti-östrojen tedavinin başarısı ve Her2/ErbB2-pozitif tümörlerin tedavisinde rekombinant humanised anti-Her2/ErbB2 monoklonal antibodi trastuzumab'ın kullanımı, daha başka moleküler temelli tedavilerin tanımlanabileceğini ve meme kanserli hastaların klinik takibinde başarılı olarak kullanılabilceğini düşündürmektedir (Gibbs, 2000).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. HASTA PROFİLİ VE BİYOLOJİK GEREÇ ELDESİ

Bu çalışmaya dahil edilen kadın hastaların 117'sini OMÜ Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'ndan, 87'sini ise Ankara Onkoloji Araştırma Enstitüsü'nden gelen toplam 204 meme kanserli hasta oluşturmaktadır. Hasta seçiminde yaş sınırlaması yapılmamış ve 2002 ve 2007 yılları arasında histopatolojik olarak meme Ca tanısı konmuş her yaş grubundan hastalar incelemeye alınmıştır. Oluşturulan hasta takip formu ile hastalar hakkında gerekli bilgiler toplanmış ve hastalara bilgi olur formu imzalatılmıştır. Kontrol grubu, kendisinde ve ailesinde herhangi bir kanser ve diğer ciddi bir hastalık öyküsü (astım, sedef, romatoid artrit gibi) olmayan sağlıklı ve 35 yaş üstü 204 kadından oluşmaktadır. Hastaların yaş ortalaması 52.40 (en düşük 28, en yüksek 82), kontrollerin yaş ortalaması ise 47.72 (en düşük 35, en yüksek 86) dir. Seçilen hasta ve kontrol popülasyonu, etnik köken, yaş, cinsiyet gibi özellikler bakımından birbirlerine yakındır. Çalışmamızın etik yönden uygulanabilir olduğuna 04.04.2005 tarihli OMÜ etik kurulunda oy birliği ile karar verilmiştir.

3.2. KULLANILAN KİMYASAL GEREÇLER

Bu çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve temin edildikleri firmalar aşağıda verilmiştir:

1. Sükroz (Merck)
2. Tris (Merck)
3. Magnezyum Klorür ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$) (Merck)
4. Triton X-100 (Sigma)
5. HCl (Merck)
6. EDTA (Etilendiamin tetraasetik asit) (Merck)
7. Sodyum klorid (NaCl) (Merck)
8. Proteinaz K (Sigma)
9. Sodyum dedosil sülfat (SDS) (Fermentas)
10. Saf etanol (Riedel-de Haen)
11. Borik asit (Sigma)
12. Sodyum hidroksit (NaOH) (Merck)

13. Etidyum bromid (EtBr) (Sigma)
14. 6xyükleme boyası (6xloading dye) (sigma)
15. Deoksinükleosit trifosfat seti (Fermentas)
16. Primerler (Metabion, Bio basic, TIB Molbiol)
17. Taq DNA Polimeraz enzimi (Fermentas)
18. Restriksiyon enzimi (BioLabs, Takara)
19. Moleküler belirteç (marker) (Fermentas)
20. Agaroz (Prona)
21. Nu micropor agaroz (Prona)

3.3. KULLANILAN CİHAZLAR VE TEKNİK MALZEMELER

Aşağıda listesi verilen ve bu çalışmada kullanılan cihazlar ve teknik malzemeler, araştırmannın yapıldığı Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Moleküler Genetik Laboratuvarında bulunmaktadır.

1. Otoklav (Nüve)
2. Bidistile su cihazı (Nüve)
3. Soğutmalı santrifüj (Nüve)
4. Hassas terazi (Mettler AJ 100)
5. Isıtıcı (Hotplate)
6. Vorteks (Nüve NM 110)
7. pH metre (Hanna)
8. Etüv (Dedeoğlu)
9. Su banyosu (Nüve)
10. Mikrosantrifüj (Hettich)
11. Otomatik pipetler (Ependorf, Socorex, Rainin)
12. Isı dönüştürücü (Thermal cyclers) (Biolab)
13. Yatay elektroforez tankı ve güç kaynağı (Scie-Plas)
14. UV spektrofotometrede (Vilber Lourmat)
15. UV transillumunator (Viber Laurmat)
16. UV görüntü analiz sistemi (Biolab)
17. Buzdolabı (Arçelik)
18. Derin dondurucu (Ariston)

3.4. UYGULANAN YÖNTEMLER

Onay formu imzalatılan hasta ve kontrollerden 5'er ml EDTA'lı kan örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinden standart salting-out (yoğun tuz konsantrasyonu ile çöktürme) yöntemi ile DNA saflaştırıldı (Miller ve ark., 1988). Bunu takiben TNF- α ve TNF- β genlerinde tek nükleotid değişimleri Kamali-Sarvestani (2005a) ve arkadaşlarının yöntemine, IFN- γ genindeki tek nükleotid değişimi ise Pravica (2000) ve arkadaşlarının yöntemine benzer şekilde yapıldı. Bu genler için PCR, ASO PCR ve RFLP yöntemleri uygulandı.

3.4.1. Kullanılan Solusyonlar ve Bunların Hazırlanması

Lizis Tamponu: 110 gr sükröz, 20 ml 500mM Tris pH:7.5, 0.81 gr MgCl₂.6H₂O ve 10 ml Triton X-100 alınıp karıştırılır ve bidistile su ile 1000 ml'ye tamamlanır. Isıtıcıda iyice karıştırılır. Solüsyon hazırlandıktan sonra otoklavlanır ve +4°C'de saklanır.

TEN Tamponu: 1 ml 500mM Tris pH:8, 1ml 100mM EDTA ve 1.17 gr NaCl alınıp karıştırılır ve bidistile su ile 50 ml'ye tamamlanır. Solüsyon hazırlandıktan sonra otoklavlanır ve +4°C'de saklanır.

Proteinaz K Solüsyonu: 10 ml 500mM Tris pH:8.0 solüsyonu içine 0.1 ml 100mM CaCl₂ katılır ve 100 mg proteinaz K solüsyonuna eklenir. Bu şekilde 10 mg/ml proteinaz K solüsyonu hazırlanmış olur ve -20°C'de saklanır.

% 10 SDS: 10 gr SDS alınır 100 ml bidistile su içinde çözülür. Oda ısısında saklanır.

Doymuş NaCl Solüsyonu (6M): (Doymuş tuz çözeltisi) 7 gr NaCl bidistile su ile 20 ml'ye tamamlanır. İyice karıştırılır. Oda ısısında saklanır.

TE Solüsyonu: 1 ml 500mM Tris pH:7.5, 0.5 ml 100mM EDTA alınıp bidistile su ile 50 ml'ye tamamlanır. +4°C'de saklanır.

5×TBE: 54 gr Tris, 27.5 gr Borik asit ve 20 ml EDTA 0.5M pH:8.0 karıştırılıp bidistile su ile 1000 ml'ye tamamlanır. Oda ısısında saklanır.

1×TBE: 100 ml 5×TBE solusyonu üzerine 400 ml bidistile su eklenir. Oda ısısında saklanır.

Ethidium bromid solüsyonu (10 mg/ml): 1 gr ethidium bromid, 10 ml distile su içinde çözünür. Işık almayan bir şişe içinde +4°C'de saklanır. Stok solüsyondan, çalışma solüsyonu 0.5 mg/ml olacak şekilde hazırlanır.

0.5M EDTA pH 8.0: 18.6 gr disodyum EDTA, 80 ml bidistile su içinde çözünür. Solüsyona 2 gr NaOH tableti atılarak eritilir. pH 8.0'a ulaşıncaya bidistile su ile 100 ml'ye tamamlanır. Otoklavda steril edilir ve +4°C'de saklanır.

500mM Tris pH 7.5: 6.1 gr Tris üzerine 95 ml bidistile su eklenip iyice çalkalandıktan sonra yaklaşık 3.25 ml konsantre HCl ilave edilip pH 7.5'a ulaşıncaya bidistile su ile 100 ml'ye tamamlanır. Otoklavda steril edilir ve +4°C'de saklanır.

500mM Tris pH 8.0: 6.1 gr Tris üzerine 95 ml bidistile su eklenip iyice çalkalandıktan sonra yaklaşık 0.42 ml konsantre HCl ilave edilip pH 8.0'a ulaşıncaya bidistile su ile 100 ml'ye tamamlanır. Otoklavda steril edilir ve +4°C'de saklanır.

100mM EDTA: 3.72 gr EDTA alınır ve bidistile su ile 100 ml'ye tamamlanır. Otoklavda steril edilir ve +4°C'de saklanır.

100mM CaCl₂: 1.47 gr CaCl₂ alınır ve bidistile su ile 100 ml'ye tamamlanır.

%70 Etil alkol: 70 ml %99.5 etil alkol alınır ve üzerine 30 ml bidistile su eklenir ve -20°C'de saklanır.

3.4.2. DNA İzolasyonu

Çalışma grubumuzun kan örnekleri, EDTA içeren vakumlu tüplere 5'er ml olarak alındı. Kandan DNA izolasyonu "Salting out" (yoğun tuz konsantrasyonunda çöktürme) yöntemi kullanılarak yapıldı (Miller ve ark., 1988).

I. Gün:

1. EDTA'lı tüpteki 5 ml tüm kan 50 ml'lik polipropilen tüpe alındı.
2. Kan örneğinin üzerine, üç katı hacimde (15 ml) lizis tamponu konuldu. Kapağı kapatılıp tüp birkaç kez ters yüz edildi.
3. 2200 rpm'de 4°C'de 15 dakika santrifüj yapıldı. Üstteki süpernatant atıldı.
4. Lizis tamponu ile yıkama işlemi iki kez daha yapılarak aynı devirde ve sıcaklıkta santrifüj edildi.
5. Üstteki süpernatant atıldı. Dipte kalan çökelti üzerine 3 ml TEN tamponu konuldu ve kısa süre vortekslendi. Daha sonra 200 µl %10'luk SDS ve 50 µl Proteinaz K ilave edildi.
6. Bir gece (yaklaşık 16 saat) 37°C'de etüvde hafif çalkalamayla inkübe edildi.

II. Gün:

1. Ertesi sabah örneklerin üzerine 1 ml 6M'lık NaCl solüsyonundan konuldu ve kısa bir süre vortekslendi.
2. 3300 rpm'de 20 dakika oda ısısında santrifüj yapıldı.
3. Üstteki süpernatant 15 ml'lik santrifüj tüpüne alındı ve tekrar 3300 rpm'de oda ısısında 30 dakika santrifüj edildi.
4. Süpernatant başka bir 15 ml'lik santrifüj tüpüne alındı (dipteki çökeltinin süpernatanta karışmamasına dikkat edildi). Çökelti atıldı.
5. Süpernatantın üzerine iki katı hacimde absolü etil alkol ilave edildi. Tüp ağzı kapatılarak hafif şekilde alt üst edilerek DNA çöktürüldü.
6. Pipet ucu ile DNA 15 ml'lik santrifüj tüpünden alındı ve içinde 1 ml % 70'lik etil alkol bulunan Eppendorf tüpüne konuldu.
7. Eppendorf Tüp 14000 rpm'de 10 dakika oda ısısında santrifüj yapıldıktan sonra üstteki alkol su trombu ile çekilerek atıldı. Dipte çöktürülen DNA, tüpün ağzı açık bırakılarak, 37°C'de etüvde 1 saat kadar bekletildi.

8. DNA örneği üzerine 150 µl TE tamponu katıldı ve tüpün ağzı kapatılarak 37°C'de etüvde hafif çalkalanarak birkaç saat çözünmeye bırakıldı.
9. DNA örnekleri çözüldükten sonra stok DNA örnekleri -20°C'de saklandı.

3.4.3. DNA Miktarının Tayini

990 µl steril su koyduğumuz bir ependorf tüp içine stok DNA'dan 10 µl eklendi. İyice vortekslendi ve quartz tüpe aktarılıp UV spektrofotometrede 260 nm dalga boyunda okundu. 260 nm dalga boyunda okunan değer (OD_{260}) TE solüsyonu içindeki DNA miktarını göstermektedir.

DNA konsantrasyonu = $OD_{260} \times \text{Sulandırma Katsayısı (100)} \times 50 \mu\text{g/ml}$ (çift zincirli DNA'lar için standart) formülü ile hesaplandı.

3.4.4. TNF- α Geninin ASO PCR ve PCR-RFLP Yöntemleri ile Genotiplenmesi

TNF- α geni promotor bölgesi -308'deki G>A polimorfizmi, ASO PCR ve PCR-RFLP yöntemleri ile çalışıldı. ASO PCR'da internal kontrol olarak β -globin'e özgü primerler kullanıldı (Kamali-Sarvestani ve ark., 2005a). TNF- α geni ASO PCR ve PCR-RFLP yöntemleri için kullanılan primerlerin dizileri Tablo 3'de gösterilmektedir. Bu primerlerin, 2763 nükleotidden oluşan ve dört ekzon içeren TNF- α geni üzerindeki bağlanma bölgeleri Şekil 12'de belirtilmiştir.

Tablo 3: TNF- α geni genotiplemesinde kullanılan primerler

PRİMERLER	
İnternal Kontrol (β -globin)	(F)* 5'-ACA CAA CTG TGT TCA CTA GC-3' (R)* 5'-CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC-3'
ASO PCR	(ortak) 5'-TCT CGG TTT CTT CTC CAT CG-3' (G allele) 5'-ATA GGT TTT GAG GGG CAT GG-3' (A allele) 5'-ATA GGT TTT GAG GGG CAT GA-3'
PCR-RFLP	(F)* 5'-AGG CAA TAG GTT TTG AGG GCC AT-3' (R)* 5'-TCC TCC CTG CTC CGA TTC CG-3'

*F: forward primer, R: reverse primer

3781 tagttctatc tttttcctgc atcctgtctg gaagttagaa ggaaacagac cacagacctg
3841 gtccccaaaa gaaatggagg caataggttt tgaggggcat ggggacgggg ttcagcctcc (ASO PCR
5' 6/A Allel primerleri 3' (polimorfik bölge) allel Primerleri)

agg caataggttt tgaggggcat (PCR forward Primeri)
5' forward primer 3'

3901 agggtcctac acacaaatca gtcagtggcc cagaagaccc ccctcggaat oggagcaggg (PCR reverse
3' reverse Primeri)

3961 aggatgggga gtgtgagggg tatccttgat gcttgtgtgt ccccaacttt ccaaatcccc
Primer 5'

4021 gccccgcga tggagaagaa accgagacag aaggtgcagg gccactacc gcttctcca (ASO PCR
3' common primer 5' common Primeri)

4081 gatgagctca tgggtttctc caccaaggaa gttttccgct ggttgaatga ttctttcccc
4141 gccctcctct cgccccaggg acatataaag gcagttgttg gcacaccag ccagcagacg
4201 ctccctcagc aaggacagca gaggaccagc taagagggag agaagcaact acagaccccc
4261 cctgaaaaa accctcagac gccacatc

cc ctgacaagct gccagcaggg ttctcttctt
4321 ctacacact gacccaagcg tccacctct ctcccctgga aaggacacca tgagcaactga
4381 aagcatgata cgggacgtgg agctggcga ggaggcgtc cccaagaaga cagggggggc Exon 1
4441 ccagggctcc aggcgggtgt tgttctctc ootctctcc ttctctgatg tggcagggcg
4501 cacoacgctc ttctgcctgc tgcactttgg agtgatggc cccagagggg aagag

gtgag
4561 tgctgggcca gccttcctcc actctcccac ccaaggggaa atggagacgc aagagagggg
4621 gagagatggg atgggtgaaa gatgtgcgct gatagggagg gatggagaga aaaaaaatg
4681 gagaaagacg gggatgcaga aagagatgtg gcaagagatg gggaaagagag agagagaaa
4741 atggagagac aggatgtctg gcacatggaa ggtgctcact aagtgtgtat ggagtgaatg
4801 aatgaatgaa tgaatgaaca agcagatata taaataagat atggagacag atgtgggggtg
4861 tgagaagaga gatgggggaa gaaacaagt atataaataa agatgtgtgag acagaaaagag
4921 cgggaaatat gacagctaag gagagagatg ggggagataa ggagagaaga agataggggtg
4981 tctggcacac agaagacact cagggaaaaga gctgttgaat gcctggaagg tgaatacaca
5041 gatgaatgga gagagaaaac cagacacctc agggctaaga gcgcaggcca gacagggcagc
5101 cagctgttcc tcctttaagg gtgactcctc cgatgttaac cattctcctt ctccccaaaca
5161 g

ttccccagg gacctctctc taatoagccc totggcccag goagtoa Exon 2
gta agtgtctcca

5221 aacctctttc ctaattctgg ttttgggttt ggggtaggg ttagtaccgg tatggaagca
5281 gtgggggaaa tttaaagttt tggtcttggg ggaggatgga tggaggtgaa agtagggggg
5341 tattttctag gaagtttaag ggtctcagct ttttcttttc tctctcctct tcag

gatcat Exon 3

5401 ottctogaac coagagtgac aagcctgtag cccatgttgt ag
gtaagac tctgaggatg

5461 tgtcttgaaa cttggagggc taggatttgg ggattgaagc cggcctgatg gtaggcagaa
5521 cttggagaca atgtgagaag gactcgtgta gctcaaggga aggggtggagg aacagcacag
5581 gccttagtgg gatactcaga acgtcatggc caggtgggat gtgggatgac agacagagag
5641 gacaggaacc ggatgtgggg tgggcagagc tgcagggcca ggatgtggag agtgaaccga
5701 catggccaca ctgactctcc tctcctctc tctcctctc cag

caaacc tcaagctgag
5761 gggcagctcc agtgggtgaa ccgcggggcc aatgcctcc tggccaatgg cgtggagctg
5821 agagataacc agctgggtgt gccatcagag ggctgtacc toatctactc ccaggtctcc
5881 tccaagggcc aaggctgccc ctcccaccat gtctctctca cccacaccat cagccgcatc
5941 gcctctctct accagaccaa ggtoaacctc ctctctgcca toaagagccc ctgcccaggg
6001 gagaccccag agggggctga gggcaagccc tggatagagc ccatctatct gggaggggtc
6061 ttcagctgg agaaggtgga ccgactcago gctgagatca atoggcccga ctatctogac
6121 tttgcagagt ctgggcaggt ctactttggg atoattgccc tgtgaggagg acgaaacatcc Exon 4
6181 aaccttccca aacgcctccc ctgcccacat cctttatta cccctcctt cagacacctc
6241 caacctcttc tggctcaaaa agagaattgg gggcttaggg tcggaaacca agcttagaac
6301 tttaaagcaac aagacacaca cttcgaaaac tgggatcag gaatgtgtgg cctgcacagt
6361 gaagtgtgg caaacactaa gaattoaac tggggcctcc agaactcact gggcctaca
6421 gctttgatcc ctgacatctg gaatotggag accagggagc ctttggttct ggcagaaatg
6481 ctgcaggact tgagaagacc tcacotagaa attgacacaa gtggacotta ggcctctcc
6541 tctcoagatg tttcoagact tccttgagac accgagccca gcctcccca tggagccagc
6601 tccctctatt tatgtttgca cttgtgatta tttattattt atttattatt tattttatta
6661 cagatgaatg tattttattg ggagaccggg gtatcctggg ggacccaatg taggagctgc
6721 cttggctcag acatgttttc cgtgaaaacg gagctgaaca ataggctgtt cccatgtage
6781 cccctggcct ctgtgccttc ttttgattat gttttttaa atatttatct gattaagttg
6841 tctaacaact gctgatttgg tgaccaactg tcaactattg ctgagcctct gctcccagg
6901 ggagtttgt ctgtaatcgc octaotatto agtggcgaga aataaagttt gottagaaaa
6961 gaa
acatggt ctcc

Şekil 12: TNF- α geni genomik DNA dizisi ve bu gene ait bölgeyi çoğaltmada kullandığımız primerlerin gen üzerindeki bağlanma bölgeleri ile -308G>A polimorfik bölgesi (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?db=nucleotide&dopt=genbank&val=27544418>)

İlk olarak 152 hasta ve 141 kontrole ASO PCR yöntemi uygulandı. Bu yöntemde her bir örnek için iki ayrı reaksiyon karışımı hazırlandı. Bu iki reaksiyon karışımındaki tek fark birinde G allel primeri bulunurken diğerinde bunun yerine A allel primerinin bulunması idi. Yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda 25 µl'lik reaksiyon karışımı içindeki girdilerin miktarları Tablo 4'de gösterildiği gibi belirlendi.

Tablo 4: TNF- α geni ASO PCR'ı için her bir örnek başına oluşturulan reaksiyon karışımı

PCR bileşeni (stok)	25 µl karışımındaki miktar 1	25 µl karışımındaki miktar 2	Final konsantrasyon
10×Taq DNA polimeraz tamponu	2.5 µl	2.5 µl	1× Tampon
MgCl ₂ (25 mM)	2 µl	2 µl	2 mM
dNTP mix (25 mM)	0.2 µl	0.2 µl	200 µM
Primer commom (100 pmol/ µl)	0.1 µl	0.1 µl	10 pmol
Primer G allel (100 pmol/ µl)	0.1 µl	-	10 pmol
Primer A allel (100 pmol/ µl)	-	0.1 µl	10 pmol
Primer internal kontrol F (100 pmol/ µl)	0.1 µl	0.1 µl	10 pmol
Primer internal kontrol R (100 pmol/ µl)	0.1 µl	0.1 µl	10 pmol
Genomik DNA (200 ng/ 2µl)	2 µl	2 µl	200 ng
Taq DNA polimeraz (1.25u/ 2µl)	2 µl	2 µl	1.25 u
Steril bidistile su	15.9 µl	15.9 µl	-
Toplam	25 µl	25 µl	

Reaksiyon karışımı ve elde edilen DNA'lar PCR tüplerine konduktan sonra ısı dönüştürücü (thermal cycler) cihazına yerleştirildi. En uygun ASO PCR amplifikasyon koşulları, optimizasyon çalışmaları sonucunda belirlendi. Amplifikasyon koşulları; 95°C'de 5 dk ilk denaturasyon, 31 döngülük: 94°C'de 30 sn denaturasyon, 61°C'de 15 sn hibridizasyon, 72°C'de 30 sn uzama ve son olarak 72°C'de 10 dk son uzama şeklinde gerçekleştirildi. Enzim ön denaturasyon aşamasından (hot start) sonra eklendi. TNF-

α 'ya ait olan ASO PCR ürünleri etidium bromid ile boyanmış %3'lük Nu Micropor jelde yürütülerek 184 bç büyüklüğündeki ürün ve 100 bç büyüklüğünde internal kontrol bandı gözlemlendi. İnternal kontrolün bütün örneklerde çoğalması bekleniyordu, çoğalmadığı örnekler tekrar çalışıldı. Sonuçlar şu şekilde yorumlandı:

	Reaksiyon karışımı 1 (G allele) fragment boyları	Reaksiyon karışımı 2 (A allele) band uzunlukları
GG (yabani) homozigot	184 bç, 100 bç	100 bç
GA heterozigot	184 bç, 100 bç	184 bç, 100 bç
AA (varyant) homozigot	100 bç	184 bç, 100 bç

Sonuçlarımızın doğruluğundan emin olmak için aynı bölge PCR-RFLP yöntemi ile de çalışıldı. Tablo 3'de belirtilen primerler kullanılarak PCR yapıldı. Bu primerlerin gen üzerindeki bağlanma bölgeleri Şekil 8'de gösterilmektedir. Yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda 25 μ l'lik reaksiyon karışımı içindeki girdilerin miktarları Tablo 5'de gösterildiği gibi belirlendi.

Tablo 5: TNF- α geni PCR'ı için her bir örnek başına oluşturulan reaksiyon karışımı

PCR bileşeni (stok)	25 μl karışımdaki miktar	Final konsantrasyon
10 \times Taq DNA polimeraz tamponu	2.5 μ l	1 \times Tampon
MgCl ₂ (25 mM)	2 μ l	2 mM
dNTP mix (25 mM)	0.2 μ l	200 μ M
Primer forward (100 pmol/ μ l)	0.2 μ l	20 pmol
Primer reverse (100 pmol/ μ l)	0.2 μ l	20 pmol
Genomik DNA (200 ng/ 2 μ l)	2 μ l	200 ng
Taq DNA polimeraz (1u/ 2 μ l)	2 μ l	1 u
Steril bidistile su	15.9 μ l	-
Toplam	25 μ l	

Reaksiyon karışımları ve elde edilen DNA'lar PCR tüplerine konduktan sonra ısı dönüştürücü cihazına yerleştirildi. En uygun PCR amplifikasyon koşulları, optimizasyon çalışmaları sonucunda belirlendi. Amplifikasyon koşulları; 95°C'de 5 dk

ilk denaturasyon, 29 döngülük: 95°C’de 30 sn denaturasyon, 60°C’de 30 sn hibridizasyon, 72°C’de 42 sn uzama ve son olarak 72°C’de 10 dk son uzama şeklinde gerçekleştirildi. Enzim hot start olarak uygulandı. TNF- α ’ya ait olan PCR ürünleri etidium bromid ile boyanmış %2.5’lük agaroz jelde yürütülerek 107 bç büyüklüğündeki ürün bandı gözlemlendi. Amplifikasyondan sonra TNF- α ’ya ait PCR ürünlerinin her biri Tablo 6’da belirtilen RFLP reaksiyon karışımı oluşturulup tanıma bölgesi 5’... C↓CATGG...3’ ve 3’... GGTAC↑C...5’ şeklinde olan *NcoI* kesim enzimi ile 37°C’de 16 saat kesime bırakıldı.

Tablo 6: TNF- α geni RFLP için her bir örnek başına oluşturulan reaksiyon karışımı

RFLP bileşeni (stok)	15 μ l karışımdaki miktar	Final konsantrasyon
10xNE Buffer 4	1.5 μ l	1x NE Buffer 4
PCR ürünü	10 μ l	-
<i>NcoI</i> kesim enzimi (10 u/ μ l)	0.5 μ l	5 u
Steril bidistile su	3 μ l	-
Toplam	15 μ l	

RFLP kesim ürünleri, etidium bromid ile boyanmış %2.5’luk agaroz jelde yürüterek görüntülendi. Kesim sonucunda oluşan parçalar şu şekilde yorumlandı:

	Gözlenen fragment boyları
GG (yabani) homozigot	87 bç, 20 bç
GA heterozigot	107 bç, 87 bç, 20 bç
AA (varyant) homozigot	107 bç

20 bç’lik ürün çok küçük olduğu için jelde kayboldu. PCR RFLP yöntemi ile önceden ASO PCR yöntemi ile çalışılan 45 Meme Ca’lı hasta çalışıldı ve bunlardan elde ettiğimiz sonuçlar ASO PCR sonuçları ile uyumlu çıktı. Tez izleme komitesinin önerisi doğrultusunda, geri kalan örnekler güvenilirliği daha yüksek olan PCR-RFLP yöntemi ile çalışıldı.

3.4.5. TNF- β Geninin PCR-RFLP Yöntemi ile Genotiplenmesi

TNF- β geni 1. intronu +252 bölgesindeki A>G polimorfizmi, PCR-RFLP yöntemi ile çalışıldı. TNF- β geni PCR-RFLP yöntemi için 782 bç'lik bölge 5'-CCG TGC TTC GTG GTT TGG ACT-3' (forward) ve 5'-AGA GGG GTG GAT GCT TGG GTT C-3' (reverse) primerleri kullanılarak çoğaltıldı. Bu primerlerin, 2006 nükleotidden oluşan ve 4 ekzon içeren TNF- β geni üzerindeki bağlanma bölgeleri Şekil 13'de belirtilmiştir.

```

1 gccccatctc attgggctgc cagtgcttgg tgctttggac tacggcccag cagtgtctctg (PCR Primeri)
                    5'         forward primer         3'

61 cctctgcaat gggcctcggg cctcctgca cctgtctgct ggatcccgg cctgctctgg Exon 1
121 cctgggcatt
                    ggtggggttg gttttggttt cctctctctg ctctgactct ccatctgtca
181 gtctcattgt ctctgtcaca cattctctgt ttctgcaatg attcctctct gtccctctcc (RE tanıma bölgesi)
                    (Polimorfik bölge)

241 tgtctctctc tgtctccctc tgtctcactt ggggtttctc tgactgcatc ttgtcccctt
301 ctctgtcgat ctctctctct ggggtcgggg ggtgctctct cccagggggg gaggtctgtc
361 ttccgcccgg tgccccggcc cgctcactgt ctctctctct ctctctcttt ctctgcag
                    gt
421 tctcccattg acaccactg aactgtctct cctcccagg gtgtgtggca ccaccctaca Exon 2
481 cctcctcctt ctggggctgc tgtgtgtctt gctgctctgg gccag
                    gtga ggcagcagga
541 gaatgggggc tgtgtgggtg gctcagccaa accttgagcc cttagagcccc cctcaactct
601 gttctcccct ag
                    gggtctcc ttgtgtgtgg ctcaaacctt cagctgcccc gactgcccgt Exon 3
661 cagcaccoca agatgcatct tgcccacage accctcaaac ctgtgtctca cctcattg
                    gt
721 aaacatccac ctgacctccc agacatgtcc ccaccagctc tctctctacc cctgctctcag
781 gaacccaagc atccaccct ctcccccaac ttccccacg ctaaaaaaa cagaggggagc (PCR Primeri)
                    3'         reverse primer         5'

841 ccaactctat gctctcccct gccatcccc aggaactcag ttgttcagtg cccacttctt
901 cagggattga gacctctgat ccagaccctt gatctcccac ccccatcccc tatggctctt
961 cctag
                    gagac cccagcaagc agaactcact gctctggaga gcaaacacgg acctgctctt
1021 cctccaggat ggtttctctt tgagcaacaa ttctctctct gtccccacca gtggcatcta
1081 ctctgtctac tcccaggtgg tctctctctg gaaagctac totcccagg ccaactctct
1141 ccaactctac ctggcccatt aggtccagct cttctctctc cagtaccctt tccatgtgct
1201 tctctctcag tcccagaaga tgggttatcc agggctgcag gaacctggc tgcactgat
1261 gtaccaaggg gctgcttctc agctcaacca gggagaccag ctatccacc acacagatgg
1321 catccccccac ctagtctctc gccctagtag tgtctctctt ggagctctct ctctgtagaa
1381 ctgggaaaaa tccagaaaga aaaaataatt gattcaaga cctctctccc attctgctc
1441 cattctgacc atttcagggg tctcaaccac ctctctcttg gccattccaa cagctcaagt Exon 4

1501 cttccctgat caagtcaag gagctttcaa agaaggaatt cttaggatcc caggggacca
1561 cacctccctg aacctccct gatgtctgtc tggctgagga tttcaagcct gctaggaat
1621 tcccagocca aagctgttg totgtcccac cagctaggtg gggcttagat ccacacacag
1681 aggaagagca ggcacatgga ggagcttgg ggatgactag aggcagggag gggactattt
1741 atgaaggcaa aaaaattaaa ttatttattt atggaggatg gagagagggg aataatagaa
1801 gaacatocaa ggagaaacag agacaggccc aagagatgaa gactgagagg gcatgcgcac
1861 aaggctgacc aagagagaaa gaagtaggca tgaggatca cagggcccca gaaggcaggg
1921 aaagctctct aaagccagct gccgaccaga gcccccacag gaggcatctg cacctctgat
1981 gaagcccaat aaacctcttt ctctctg

```

Şekil 13: TNF- β , geni genomik DNA dizisi ve bu gene ait bölgeyi çoğaltmada kullandığımız primerlerin gen üzerindeki bağlanma bölgeleri ile +252A>G polimorfik bölgesi

(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?val=NC_000006.10&from=31648072&to=31650077&dopt=gb)

TNF- β geni PCR yöntemi için yapılan optimisyon çalışmaları sonucunda 25 μ l'lik reaksiyon karışımı içindeki girdilerin miktarları Tablo 7'de gösterildiği gibi belirlendi.

Tablo 7: TNF- β geni PCR'ı için her bir örnek başına oluşturulan reaksiyon karışımı

PCR bileşeni (stok)	25 μ l karışımdaki miktar	Final konsantrasyon
10 \times Taq DNA polimeraz tamponu	2.5 μ l	1 \times Tampon
MgCl ₂ (25 mM)	2 μ l	2 mM
dNTP mix (25 mM)	0.2 μ l	200 μ M
Primer forward (100 pmol/ μ l)	0.2 μ l	20 pmol
Primer reverse (100 pmol/ μ l)	0.2 μ l	20 pmol
Genomik DNA (200 ng/ 2 μ l)	2 μ l	200 ng
Taq DNA polimeraz (1.25u/ 2 μ l)	2 μ l	1.25 u
Steril bidistile su	15.9 μ l	-
Toplam	25 μ l	

Reaksiyon karışımları ve elde edilen DNA'lar PCR tüplerine konduktan sonra ısı dönüştürücü cihazına yerleştirildi. En uygun PCR amplifikasyon koşulları, optimizasyon çalışmaları sonucunda belirlendi. Amplifikasyon koşulları; 95°C'de 3 dk ilk denaturasyon, 37 döngülük: 95°C'de 30 sn denaturasyon, 68°C'de 30 sn hibridizasyon, 74°C'de 60 sn uzama ve son olarak 74°C'de 6 dk son uzama şeklinde gerçekleştirildi. Enzim hot start olarak uygulandı. TNF- β 'ya ait olan PCR ürünleri etidium bromid ile boyanmış %2.5'lük agaroz jelde yürütülerek 782 bp büyüklüğündeki ürün bandı gözlemlendi. Amplifikasyondan sonra TNF- β 'ya ait PCR ürünlerinin her biri Tablo 8'de belirtilen reaksiyon karışımı oluşturulup tanıma bölgesi 5'... C \downarrow CATGG...3' ve 3'... GGTAC \uparrow C...5' şeklinde olan *NcoI* kesim enzimi ile 37°C'de 16 saat kesime bırakıldı.

Tablo 8: TNF- β geni RFLP için her bir örnek başına oluşturulan reaksiyon karışımı

RFLP bileşeni (stok)	15 μ l karışımdaki miktar	Final konsantrasyon
10 \times NE Buffer 4	1.5 μ l	1 \times NE Buffer 4
PCR ürünü	10 μ l	-
<i>NcoI</i> kesim enzimi (10 u/ μ l)	0.5 μ l	5 u
Steril bidistile su	3 μ l	-
Toplam	15 μ l	

RFLP kesim ürünleri, etidium bromid ile boyanmış %2.5'luk agaroz jelde yürüterek görüntülendi. Kesim sonucunda oluşan parçalar şu şekilde yorumlandı:

Gözlenen fragment boyları

AA (yabanıl) homozigot: 782 bç
 AG heterozigot: 782 bç, 586 bç, 196 bç
 GG (varyant) homozigot: 586 bç, 196 bç

3.4.6. IFN- γ Geninin ASO PCR Yöntemi ile Genotiplenmesi

IFN- γ geni 1. intronu +874 bölgesindeki T>A polimorfizmi, ASO-PCR yöntemi ile belirlendi. ASO PCR'da internal kontrol olarak β -globine özgü primerler kullanıldı. IFN- γ geni ASO PCR yöntemi için kullanılan primerlerin dizileri Tablo 9'da gösterilmektedir. Bu primerlerin, dört ekzon içeren IFN- γ geni üzerindeki bağlanma bölgeleri Şekil 14'de belirtilmiştir.

Tablo 9: IFN- γ geni genotiplenmesinde kullanılan primerler

PRİMERLER	
İnternal Kontrol	(F)* 5'-ACA CAA CTG TGT TCA CTA GC-3'
(β -globin)	(R)* 5'-CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC-3'
ASO PCR	(ortak) 5'-TCA ACA AAG CTG ATA CTC CA-3'
	(T allel) 5'-TTC TTA CAA CAC AAA ATC AAA TCT-3'
	(A allel) 5'-TTC TTA CAA CAC AAA ATC AAA TCA-3'

*F: forward primer, R: reverse primer

1 agcaaatgat caatgtgctt tgtgaatgaa gagtcaacat tttaccaggg cgaagtgggg
 61 aggtacaaaa aaatctccag tccttgaatg gtgtgaagta aaagtgcctc aaagaatccc
 121 accagaatgg cacaggtggg cataatgggt ctgtctcctc gtcaaaaggac ccaaggagtc
 181 taaaggaaac tctaactaca acacccaaat gccacaaaaac cttagtattt aatacaaaact
 241 atcatcctcg cctatctgtc accatctcat cttaaaaaac ttgtgaaaat acgtaatcct
 301 caggagactt caattaggtt taaataccag cagccagagg aggtgcagc

 361 atcatctgaa gatcagctat tagaagagaa agatcagtta agtctcttgg a cttgttctg
 421 cttgatacaa gaactactga tttoaacttc ttgggttaa ttctctcgga acogtgaag Exon 1
 481 tatacaagtt atatcttggc ttttcagctc tgcctctgtt tgggttctct tggctgttac
 541 tgcagagacc catatgtaaa agaagcagaa aaacttaaga aatatttt

 gt aagtatgact
 601 ttttaaatagt acttgtttgt ggttgaaaaat gactgaatat cgacttgctg tagcatctct
 661 gataggctgt catctcttgt aggcagtcct tttgagattt ggtgttattt tgtaattat
 721 tgactagatg agttccttga ctaaataatc tagatattgt tttaaccttc tgctcagttt
 781 gtatagagac ttaaaagggg tttatgaatt ttccaaaaga tgggcataat atgggtatga
 841 agcataatga tgttaataat tttgtgggtg gaactcattc agttgtgata gtcaaggagt
 901 atgcagattg aaaaaaatga ttggttatta gtttttgact tctcagactc taaggccaag
 961 attagcatta aaaaggtaat aggaatgtt tacaaaattaa agtcaaaaaag gtccttaaaag
 1021 ctttggctta aaaaaataac tgataggtga ttttctccaa aaagtgattt caacattctg
 1081 cttctctatc tatattactt gtgaagtatt ccggaacttc gttgctcact gggattttgg
 1141 aagaattatg attctggcta aggaatgttt aaaaatttta agtgaatttt ttgagtttct
 1201 tttaaaattt tattgatggt taatgaaaag tttttacatt ttaaattatt cattatttgt
 1261 ttaaaactta gctgttataa ttatagctgt cataataata ttcagacatt cacaattgat
 1321 tttattctta caacaacaaa tcaaatctca cacacacaca cacacacaca cactgcgaca (ASO PCR Primeri)
 5' T/A allel primerleri 3' (polimorfik bölge)

 1381 tgtttggaac tatcttttaa agctcgtata ataataccct acaggaaggc acagtagatg
 1441 taatagaaac ctgtaccatt ggggggcagt attttatagt ggggtggctt tgctgttttt
 1501 tgtttttgta ttttttagcc tagcttgaaa ataccttctt tagcttacta tagtttttgg
 1561 gacctttgga gtatcagctt tgttgagctc atttgtgaca ttgcaattta atggttatat (ASO PCR Primeri)
 3' common primer 5'

 1621 tgggaaataa aaaagctaaa agaacataat agtctttgtc tatatctcac ataagccttt
 1681 tgggaataact tattgttaga actaagcaga agagttgaaa aggaatcag tgaatattgt
 1741 cacatctgag ttcaatgaaa cttgaaatat atttttaagg caatttatgg gctaattgta
 1801 aaccaatttt ttcttttttt ttttttag

 aat goaggtcatt cagatgtage ggataatgga Exon 2
 1861 actcttttct taggcatttt gaagaattgg aaaga
 ggtaa gctgaatatt cccatttggc
 1921 taattttcct gttgcttgcct ttctgatgga taaattcaca tcactcctcg tttgtgctct
 1981 ttccttccaa

 ggagagtgc agaaaaataa tgcagagcca aattgtctcc ttttacttca
 2041 aactttttaa aaactttaa gatgaccaga goatccaaaa gagtgtggg acoatcaagg Exon 3
 2101 aagacatgaa tgtcaagttt ttcaatagaa acaaaaaagaa aogagatgac ttogaaaagg
 2161 tgactaatta ttcg

 gtgagg ctattttaa tctttctttg gtttcattgc cgagggtctt
 2221 gcaaaagcatt tattctccag aaagttagaca ttagctattt aacagttgct aaagctatga
 2281 actcaactca tggctgaaac tctaccttac tatttccatt cgtgttttgg tgactttgca
 2341 aagccagtaa gagaatcgct gaagtatgta atgtagagaa atgctggcat tgtaactatt
 2401 gcgtaaaagc aggtgagttg acaaattcca gtgaagagga agtaggtgag gaagaagcag
 2461 ggagtaactga gaagcagttc tctcattgtc ccttgctcat atgatggaaa ttctctact
 2521 ttgaatgaga ggctgtctgt cttaatggaa agagcagtg gaggagctga gaagatgtgt
 2581 gttctcctcc caactcagcc accaaggaac tgtgatgaat cacatggctg gctgggctca
 2641 gtttctctat cttaaaagga aactgttagg ttcactgtat aagtttgatg acctctttg
 2701 ctccaaaact ctacaatgca aagaatagaa aatgagaatg agatagaaga aagctacagt
 2761 ctttgaatag gtaccagggg caccocactg caagtctcta gccaaactat cagattgtac
 2821 tgcccaatta gaagcaagaa tggttgcctg ttgtttgatt ttaggaaaa atagatagaa
 2881 tttatacctt atgaaaagat tgttctatca actctctatc aactttcaga atatctcagc
 2941 tggagaactc cttagactcc taagtcttac ctcatgaact tgtatcttta agttatggct
 3001 tctataaaca gaaagataac gttgaggcat aaagacaaat catgtttttc agaatgtttt
 3061 ctagaagaca aaggcctcta gattcctttg ggggtgactt tgatataaat gggctcaaat
 3121 gagagggacc agggctctca agctagcatt tgtgttctta ggatagtgct tcagctttca
 3181 ctattgctgg gcctgcctct cactcctctc atgtaagccc ccagaaacag aaaggagaga
 3241 catggcaaca ggtctccttt ggttataaac tagacactca gcacttgtt ctaatccagt
 3301 ggtgcccctg gcttactgtt cagtcctgga taagctcttt agtttcttgg tgatgattg
 3361 aacattggaa agtaaaaact gtcacttgca aacacacagc ttgtcgaaaa tttttctac
 3421 tctgcaggaa ctgggacctt aaaaaatgaa aaaaaatctg ttggttcttc ctctgggaag
 3481 ctacaaaact cctgtttctt gatgggcaat cttgagtgag ctctattaat tattattctc
 3541 tttggctcag ttgctaagct atttatgca tgttatgccc tttgcaaat agtctttagc
 3601 tghtaatcccc cagccactct cagaaaatgt gtgaggtagc catagtgttc ccaagattag
 3661 aaaaatgtaa tggcagagcc aagaggaagg taaatggtcc acatcttatg aagcatcact
 3721 taaatggccc tattggttag agtgaggaga tgcagtagt tcaatttgcct tgcttagaag
 3781 gcagggctact ggaaaagtgt ttgcaattct taattttaa ctttatatat cagtaagcca

```

3841 tatataaata tgattggggg tgtttatfff aaaatctatt atggaaattg agagactgac
3901 ctaatctggg agaaattaaa aattacagtt ttcactcgtt ttggatttgg tgtttctag
3961 ggtacctaac ctagatcagt ggttctcaaa cttagggtga tgtcagaatc acctggggag
4021 cttagtgaat gcacagggca cagtccctcc acttcatgca cctggatctc tgaggtcttt
4081 gacaggtttc cggattaatc tgctatgcac aacagtgaga atcattgacc tatagttact
4141 catttgatgc atacaggaaa gactgaagta taaagtgata taattggtag attgatgata
4201 gagaggctat agaaacagtc tcctctcctt ttagatgaga aaatagaagt tcagagaggt
4261 taagtactcg gctcaaggtc agaattattg catgcatgag attcaaacc accottttat
4321 gctgactcca caaccaggag tcttttccat atataatttc aagaattcta tagaagtaga
4381 tttaaagata tgtgatggac tccaccacat tatagcacia ctagaanaat aattgtaatt
4441 tttagcttca actgctgaag aagttaatat tgtatattaa ggtaatacgg tccattttt
4501 aaaggaatac ttttatfff actgaccatc atgacattag cagaatatcc tgatggctta
4561 tatgcctgaa attaatfff ctcttttctt tcccgatag
g taactgactt gaatgtocaa
4621 cgaaagcaa tacatgaact catocaagt atggctgaac tgtogccagc agotaaaaca
4681 ggaagcgaa aaaggagtca gatgotgttt cgaggctgaa gagcatccca gtaatggtt
4741 tctgtcctgc aatattttaa ttttaaatct aaatctatft attaatatft aacattatft
4801 atatgggaaa tatatttfta gactcatcaa tcaaatagt atttataata goaacttft
4861 tghtaatgaa tatgaatatct attaatatft gtattatfta taattctat atcctgtgac
4921 tgtctcaact aatccttftt tttotgaact attaggcaag gctatgtgat tacaaggctt Exon 4
4981 tatctcaggg gccaactagg cagccaacct aagcaagatc ccatgggtt tftgttatt
5041 tcactgtatg atacaatgaa cacttataag tgaagtgata ctatccagt actgocggtt
5101 tgaanaatg cctgcaatct gagccagtgc tftaatggca tftcagacag aacttgaatg
5161 tftcaggtga cctgatgaa aacatagcat ctcaggagat tftcatgctg ftgcttccaa
5221 atattgttga caactgtgac tftaccocaa tggaaagtaa cftcattgtt aanaattatca
5281 atatctaaata tatatgaata aagtftaagt tcaaacactac
tftatgctgt tftgacttft
5341 tftaagtftg acctggagt ftagaactac ctatftatga attagtaggg aggggagtct
5401 tcttagctgt gaaaattfta gagtftcatt tftgttccatt aatgtggtft tftcttccca
5461 cttagcttft gttggcttft gcttftccag tftagcagctc tftgaattat ctttctaafta
5521 tacagattfta attatgtcac tfttcaatft agaggftctg ctatggaatg tagtfttaaac
5581 tftcttagctg ggcacacaga gatttattft tagccctft tccaccttcc tfttctctc
5641 tftcttftcag aatctctc tctctcatcc aatgctggca aacaccagt ggggtgagt
5701 agtgggtgta agctctagg ftagaaggctt gattggaatc caagtatft cattacaagt
5761 agtftgacct tftaatcatt atgtatattg tftaagtftc agcttattg tctgaaaaag
5821 aanaataat ftgtftctct cataatattg tftgtaacgaat tftattctft actcaagaaa
5881 tfttftactg agtacctact acatgctg tftgttftgta gacttftgaga taccftactc
5941 aagcaaaaaca gccaaggtc c

```

Şekil 14: IFN- γ geni genomik DNA dizisi ve bu gene ait bölgeyi çoğaltmada kullandığımız primerlerin gen üzerindeki bağlanma bölgeleri ile +874T>A polimorfik bölgesi (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?db=Nucleotide&dopt=GenBank&val=184638>)

ASO PCR yönteminde her bir örnek için iki ayrı reaksiyon karışımı hazırlandı. Bu iki reaksiyon karışımındaki tek fark birinde T allel primeri bulunurken diğesinde bunun yerine A allel primerinin bulunması idi. Yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda 25 μ l'lik reaksiyon karışımı içindeki girdilerin miktarları Tablo 10'da gösterildiği gibi belirlendi.

Reaksiyon karışımı ve elde edilen DNA'lar PCR tüplerine konduktan sonra ısı dönüştürücü cihazına yerleştirildi. En uygun ASO PCR amplifikasyon koşulları, optimizasyon çalışmaları sonucunda belirlendi. Amplifikasyon koşulları; 95°C'de 5 dk ilk denaturasyon, 30 döngülük: 95°C'de 45 sn denaturasyon, 56°C'de 45 sn hibridizasyon, 72°C'de 1 dk uzama ve son olarak 72°C'de 8 dk son uzama şeklinde gerçekleştirildi. Enzim hot start olarak uygulandı.

Tablo 10: IFN- γ geni ASO PCR'ı için her bir örnek başına oluşturulan reaksiyon karışımı

PCR bileşeni (stok)	25 μ l karışımındaki miktar 1	25 μ l karışımındaki miktar 2	Final konsantrasyon
10 \times Taq DNA polimeraz tamponu	2.5 μ l	2.5 μ l	1 \times Tampon
MgCl ₂ (25 mM)	2 μ l	2 μ l	2 mM
dNTP mix (25 mM)	0.2 μ l	0.2 μ l	200 μ M
Primer commom (100 pmol/ μ l)	0.1 μ l	0.1 μ l	10 pmol
Primer T allel (100 pmol/ μ l)	0.1 μ l	-	10 pmol
Primer A allel (100 pmol/ μ l)	-	0.1 μ l	10 pmol
Primer internal kontrol F (100 pmol/ μ l)	0.1 μ l	0.1 μ l	10 pmol
Primer internal kontrol R (100 pmol/ μ l)	0.1 μ l	0.1 μ l	10 pmol
Genomik DNA (200 ng/ 2 μ l)	2 μ l	2 μ l	200 ng
Taq DNA polimeraz (1u/ 2 μ l)	2 μ l	2 μ l	1 u
Steril bidistile su	15.9 μ l	15.9 μ l	-
Toplam	25 μ l	25 μ l	

IFN- γ 'ya ait olan ASO PCR ürünleri etidium bromid ile boyanmış %3'lük Nu Micropor jelde yürütülerek 262 bç büyüklüğündeki ürün ve 100 bç büyüklüğünde internal kontrol bandı gözlemlendi. İnternal kontrolün bütün örneklerde çoğalması bekleniyordu, çoğalmadığı örnekler tekrar çalışıldı. Sonuçlar şu şekilde yorumlandı:

	Reaksiyon karışımı 1 (T allel) fragment boyları	Reaksiyon karışımı 2 (A allel) fragment boyları
TT (yabanıl) homozigot	262 bç, 100 bç	100 bç
TA heterozigot	262 bç, 100 bç	262 bç, 100 bç
AA (varyant) homozigot	100 bç	262 bç, 100 bç

3.4.7. Agaroz Jelin Hazırlanışı

Çalışmamız için % 2.5'lük agaroz jel ve % 3'lük nu micropor agaroz jel hazırlandı. Bunlar için sırasıyla 2.5 gr agaroz ve 3 gr nu micropor agaroz tartıldı. Aynı erlen mayere alınan bu agarozların üzerine 100 ml 1XTBE eklenip mikrodalgada iyice çözünene kadar kaynatıldı. Sonradan soğumaya bırakılan jelin sıcaklığı 80 °C'ye ulaşınca üzerine (çeker ocak açık haldeyken) 100µl EtBr (0.5mg/ml'lik çalışma solüsyondan) eklendi ve jel iyice çalkalanıp tarağı yerleştirilmiş olan jel kabına döküldü. En az 1 saat beklenip jel donduktan sonra taraklar çıkarılıp jelde oluşan kuyulara PCR ürünleri yüklendi.

3.4.8. Agaroz Jel Elektroforezi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

15 µl PCR ürünü, ASO PCR ürünü veya RFLP ürünü, 3 µl 6X jel yükleme boyası (6X loading dye) ile karıştırılarak jeldeki kuyulara yüklendi. Kuyulardan birine ise 2µl pUC19 DNA/MspI (HpaII) veya ΦX174 DNA/BsuRI (HaeIII) adlı moleküler belirteçlerden (maker) biri, 3µl 6X jel yükleme boyası ve 13µl 1XTBE solüsyonu ile karıştırılarak yüklendi. Elektroforez 125 volt'da 30 dk süreyle yapıldı. Elektroforez sonunda, jel >320 nm boyunda transillüminatörde incelenerek belirteç ve DNA'ların gittikleri mesafelerden yararlanarak, DNA fragmentlerinin uzunluğu hesaplandı. Jel fotoğrafları, UV görüntü analiz sisteminde çekildi.

3.5. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

SPSS istatistik programı kullanılarak klinik bulgular ile genotipler arasında korelasyon analizi yapıldı. Ayrıca hasta ve kontrol grupları arasındaki allel ve genotip frekanslarını karşılaştırmak için Ki kare, olasılık oranları (OR) ve P değeri hesaplandı. SPSS ve Epiinfo istatistik programları kullanılarak haplotip ve kompozit genotip analizi yapıldı. Elde edilen sonuçlar incelenerek meme kanserinin polimorfik bölgeler ile ilişkileri olup olmadığı değerlendirildi.

4. BULGULAR

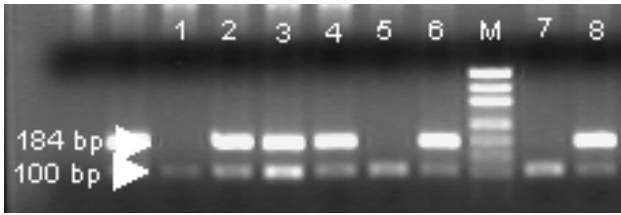
4.1. ÇALIŞMA GRUBU İLE İLGİLİ DEMOGRAFİK KARAKTERLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Bu çalışmada, TNF- α -308G>A, TNF- β +252A>G ve IFN- γ +874T>A polimorfizmlerinin meme kanseri ile olan ilişkisinin araştırılması amacıyla 204 meme kanserli kadın hasta ile kendisinde ve ailesinde herhangi bir kanser ve diğer ciddi bir hastalık öyküsü (astım, sedef, romatoid artrit gibi) olmayan sağlıklı ve 35 yaş üstü 204 kadın kontrol incelendi. Hastaların yaş ortalaması 52.40 (en düşük 28, en yüksek 82), kontrollerin yaş ortalaması ise 47.72 (en düşük 35, en yüksek 86) idi. Hastalar ve kontroller arasında sigara kullanımı açısından herhangi bir farklılık yoktu ve her iki grupta da sigara kullanmayanların sayısı daha fazlaydı (sırasıyla %84.2 ve % 83.6).

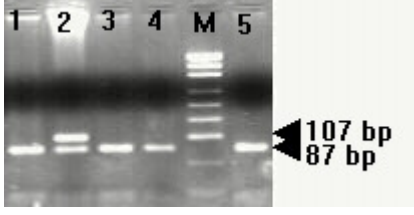
Hasta grubu: Meme kanserli hastaların aile öyküsü, sigara kullanımı, klinik tanı, kanserin tipi ve evresi, menarş ve menapoz yaşı, doğum sayısı ve ortalama emzirme süresi ile östrojen ve progesteron reseptörlerinin durumu gibi demografik karakterleri Tablo 11’de gösterilmiştir. Hastalarda meme kanserinin başlama yaşlarına bakıldığında, hastalığa 50 yaşın altında ve üstünde yakalananların sayısının hemen hemen eşit olduğu görüldü. Hastaların %54.6’sında kanserle ilgili hiçbir aile öyküsü yoktu; %14.3’ünün ailesinde meme kanserinin, %31.1’in ise diğer kanser tiplerinin gözlemlendiği aile bireyleri vardı. Bilateral meme kanseri tanısı konmuş hastaların sayısı az olup (%6.3), sol veya sağ meme kanseri tanısı konmuş hastaların sayısı birbirine eşitti. Hastaların %88.5’ine duktal karsinom, %6’sına ise lobular karsinom tanısı konmuştu. Hastaların patolojik evrelerine bakıldığında, en fazla evre II’in (%40.3) olduğu, bunu da %30.2 ile evre IIIA’nın izlediği görüldü. Hastaların çoğunluğunun (%78.9) menarş başlama yaşı 15’in altındaydı ve %39.3’ü henüz menapoza girmemişti. Menapoz yaşı hastaların yarısından çoğunda 40 yaşın üzerindeydi (%55.1). Ortalama emzirme süreleri çoğunlukla 6 aydan fazlaydı (%64.2). ER pozitif olanların sayısı (%70.6) ve PR pozitif olanların sayısı (%58.9) negatif olanlardan fazlaydı (Tablo 11).

4.2. TNF- α GENİ POLİMORFİZMİ

TNF- α geni -308G>A polimorfizmi çalışılan 204 hastanın 167'sinin (%81.9) GG homozigot, 36'sının (%17.6) GA heterozigot, 1'inin (%0.5) AA homozigot; 204 kontrolün ise 159'unun (%77.9) GG homozigot, 45'inin (%22.1) GA heterozigot olduğu tesbit edildi. Kontrollerde AA homozigot genotipine rastlanmadı (Tablo 12). ASO PCR ve PCR-RFLP yöntemleri ile çalışılan örneklerin bazılarının genotiplerini gösteren jel fotoğrafları verilmiştir (Şekil 15, 16). Kontrol grubunun SNP dağılımı, Hardy-Weinberg Dengesi (HWE) ile uyum içindeydi. Hasta ve kontrollerin genotip ve allel sıklıkları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (sırasıyla $p=0.333$ ve $p=0.4175$). Genotiplerden, GG+GA'ya karşılık AA veya GG'ye karşılık GA+AA karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak bir ilişki tesbit edilmedi (sırasıyla $p=1.00$ ve $p=0.3230$). Aynı zamanda meme kanserli hastaların aile öyküsü, sigara kullanımı, klinik tanı, kanserin evresi, menarş ve menapoz yaşı, doğum sayısı ve ortalama emzirme süresi ile östrojen ve progesteron reseptörlerinin durumu ile TNF- α -308G>A polimorfizmi arasında bir ilişki saptanmadı (Tablo 11). Fakat meme kanserinin tipi ile TNF- α geni -308G>A polimorfizmi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu gözlenmiş olup ($p=0.003$), sadece bir kişide gözlenen AA homozigot genotipine lobüler karsinomlu meme kanseri hastasında rastlanmıştır (Tablo 11).



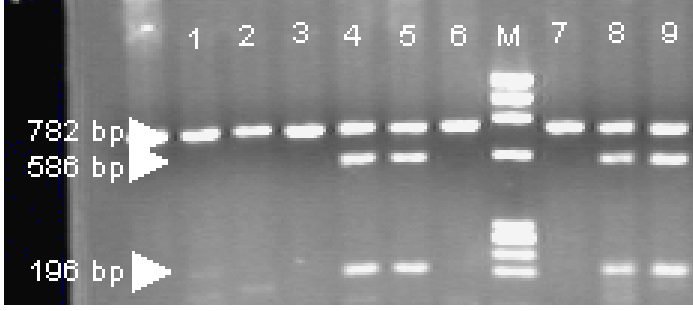
Şekil 15: TNF-alfa geni ASO PCR sonuçları. 184 bp'lik band TNF- α polimorfizminin bulunduğu bölgeyi, 100 bp'lik band ise internal kontrolü göstermektedir. Her bir örnek için yan yana iki kuyu kullanılmıştır. İlk kuyular A allel primerine, ikinci kuyular ise G allel primerine ait ASO PCR sonuçlarını göstermektedir. Kuyulardan 1-2, 5-6 ve 7-8 GG homozigot genotipleri, 3-4 GA heterozigot genotipi yansıtmaktadır. M: pUC19 DNA/MspI (HpaII) Marker; 501 bç, 489 bç, 404 bç, 331 bç, 242 bç, 190 bç, 147 bç, 111 bç, 110 bç, 67 bç ve 34 bç olmak üzere 11 fragment içermektedir (Markera ait ilk iki band tek band olarak görülmektedir).



Şekil 16: TNF-alfa geni RFLP sonuçları. 2. kuyu GA heterozigot genotipi, 1, 3, 4 ve 5. kuyular GG homozigot genotipleri göstermektedir. M: pUC19 DNA/MspI (HpaII) Marker.

4.3. TNF-β GENİ POLİMORFİZMİ

TNF-β geni +252A>G polimorfizmi için, çalışılan 204 hastanın 103'ünün (%50.5) AA homozigot, 83 'ünün (%40.7) AG heterozigot, 18'inin (%8.8) GG homozigot; 204 kontrolün ise 88'inin (%43.1) AA homozigot, 108'inin (%52.9) AG heterozigot, 8'inin (3.9) GG heterozigot olduğu tesbit edildi (Tablo 12, Şekil 17). Kontrol grubunun SNP dağılımı, Hardy-Weinberg Dengesi ile uyum içindeydi. Hasta ve kontrollerin genotip dağılımları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu görüldü ($p=0.016$). AA'ya karşılık AG+GG karşılaştırıldığında hasta ve kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık ($p=0.1368$) gözlenmezken, AA+AG genotiplerine karşılık homozigot resesif genotip GG karşılaştırıldığında ise anlamlı bir farklılık olduğu gözlemlendi ($p=0.0468$, $OR=2.371$ %95CI 1.007-5.584). GG homozigot genotipine, hastalarda kontrollere nazaran yaklaşık 2.5 kat daha fazla rastlanıldığı ve bu genotipin, meme kanseri riskini artırdığı saptandı. Allel dağılımları karşılaştırıldığında ise hasta ve kontroller arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark gözlenmedi ($p=0.7019$). Aynı zamanda meme kanserli hastaların aile öyküsü, sigara kullanımı, klinik tanı, kanserin tipi ve evresi, menarş ve menapoz yaşı, doğum sayısı ve ortalama emzirme süresi ile östrojen ve progesteron reseptörlerinin durumu ile TNF-β +252A>G polimorfizmi karşılaştırıldığında bunlar arasında istatistiksel olarak herhangi bir ilişki bulunmadı (Tablo 11).

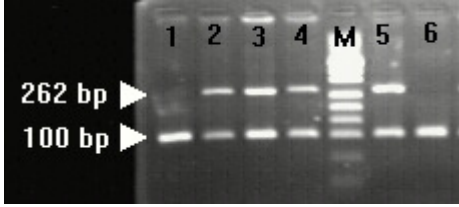


Şekil 17: TNF-beta RFLP sonuçları. 1, 2, 3, 6 ve 7. kuyular AA homozigot genotipleri, 4, 5, 8 ve 9. kuyular AG heterozigot genotipleri göstermektedir. M: Φ X174 DNA/BsuRI (HaeIII) Marker; 1353 bç, 1078 bç, 872 bç, 603 bç, 310 bç, 281 bç, 271 bç, 234 bç, 194 bç, 118 bç ve 72 bç olmak üzere 11 fragment içermektedir (281 bç ve 271 bç uzunlukta olan bandlar tek band olarak görülmektedir).

4.4. IFN- γ GENİ POLİMORFİZMİ

IFN- γ geni +874T>A polimorfizmi için çalışılan 204 hastanın 41'inin (%20.1) TT homozigot, 112'sinin (%54.9) TA heterozigot, 51'inin (%25.0) AA homozigot; 192 kontrolün ise 69'unun (%35.9) TT homozigot, 74'ünün (%38.5) TA heterozigot, 49'unun (%25.5) AA homozigot olduğu gözlemlendi (Tablo 12, Şekil 18). Kontrol grubundan 12 örneğin DNA'ları yetersiz olduğundan dolayı, sadece IFN- γ geni +874T>A polimorfizmi için diğerlerinden farklı olarak 192 kontrol kullanılmıştır. Genotip sıklığının kontrollerde Hardy-Weinberg Dengesi ile uyum gösterdiği görüldü. Hasta ve kontrollerin genotip dağılımları karşılaştırıldığında (TT, TA, AA) istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görüldü ($p=0.001$). TT homozigot genotipe kontrollerde, heterozigot genotipe (TA) de hastalarda daha fazla rastlanmış olup, TA genotipinin meme kanserine yatkınlık oluşturduğu saptandı. Allel dağılımları karşılaştırıldığında da yine hasta ve kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görüldü ($p=0.0312$; OR=1.36, %95 CI 1.028-1.798). A alleleline, hastalarda, kontrollere nazaran yaklaşık 1.4 kat daha fazla rastlanmış olup, bu allelin meme kanseri riskini artırdığı saptandı. Çok daha anlamlı bir ilişki ise, TT genotipine karşılık TA+AA genotipleri karşılaştırıldığında ortaya çıktı ($p=0.0004$, OR=2.23 %95 CI 1.419-3.504). Genotip dağılımı açısından değerlendirildiğinde A alleli taşıyan genotiplere (TA+AA), meme

kanserli hastalarda daha fazla rastlanıldığı ve bu genotiplerin meme kanseri riskini önemli derecede artırdığı saptandı. TT+TA genotiplerine karşılık AA genotipi karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak herhangi bir farklılık görülmedi ($p=0.9051$). Aynı zamanda meme kanserli hastaların aile öyküsü, sigara kullanımı, klinik tanı, kanserin tipi ve evresi, menarş ve menapoz yaşı, doğum sayısı ve ortalama emzirme süresi ile östrojen ve progesteron reseptörlerinin durumu ile IFN- γ +874T>A polimorfizmi karşılaştırıldığında bunlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmedi (Tablo 11).



Şekil 18: IFN-gamma geni ASO PCR sonuçları. 262 bp'lik band IFN- γ polimorfizminin olduğu bölgeyi, 100 bp'lik band ise internal kontrolü göstermektedir. Her bir örnek için yan yana iki kuyu kullanılmıştır. İlk kuyular T allel primerine, ikinci kuyular ise A allel primerine ait ASO PCR sonuçlarını göstermektedir. Kuyulardan 1-2 AA homozigot genotipi, 3-4 TA heterozigot, 5-6 ise TT homozigot genotipi yansıtmaktadır. M: pUC19 DNA/MspI (HpaII) Marker.

4.5. TNF- α , TNF- β , ve IFN- γ GEN POLİMORFİZMLERİ HAPLOTİP ve KOMPOZİT GENOTİP ANALİZLERİ

Haplotip analizinde SNP-SNP etkileşimlerinden, TNF- α/β genleri GAAG haplotipinin görüldüğü 65 örneğin 25'ini (%12.3) hastalar, 40'ını (%19.6) kontroller oluşturmaktaydı (Tablo 13). Hasta ve kontroller karşılaştırıldığında GAAG haplotipinin, kontrollerde hastalara göre yaklaşık 1.5 kat daha fazla görüldüğü ve meme kanseri riski açısından koruyucu bir etkisi olduğu istatistiksel olarak saptandı ($p=0.0424$, OR=0.573 %95CI 0.333-0.985).

Kompozit genotip analizinde, ikili genotiplerden TNF- α /IFN- γ genleri GGTT kompozit genotipin görüldüğü 81 örneğin 33'ünü (%16.2) hastalar, 48'ini (%25) kontroller oluşturmaktaydı (Tablo 13). Hasta ve kontroller karşılaştırıldığında GGTT kompozit genotipinin, kontrollerde hastalara göre 1.5 kat daha fazla görüldüğü ve meme kanseri riski açısından koruyucu olduğu tesbit edildi ($p=0.0296$, OR=0.579 %95CI 0.353-0.950). Daha koruyucu bir etki ise GATT kompozit genotip analizinde görüldü. 29 örnekte görülen GATT kompozit genotipinin 8'i (%3.9) hastalarda, 21'i (%10.9) kontrollerde tesbit edildi (Tablo 13). Hasta ve kontroller karşılaştırıldığında GATT kompozit genotipinin kontrollerde hastalara göre yaklaşık 3 kat daha fazla görüldüğü ve meme kanseri riski açısından koruyucu olduğu saptandı ($p=0.0129$, OR=0.332 %95CI 0.144-0.770). İstatistiksel olarak en kuvvetli koruyuculuk ilişkisine ise TNF- β /IFN- γ genleri AGTT kompozit genotipine sahip hasta ve kontroller karşılaştırıldığında rastlandı ($p=0.0003$, OR=0.295 %95 CI 1.151-0.576). AGTT kompozit genotipine sahip 49 örneğin 13'ünü (%6.4) hastalar, 36'sını (%18.8) 3 katlık bir fark ile kontroller oluşturmaktaydı (Tablo 13). Tam tersi bir ilişkiye ise TNF- α /IFN- γ genleri GGTA kompozit genotip analizinde rastlandı. 152 örnekte görülen GGTA kompozit genotipinin 90'ını (%44.1) hastalar, 62'sini (%32.3) ise kontroller oluşturmaktaydı. Hasta ve kontroller karşılaştırıldığında GGTA kompozit genotipinin, hastalarda kontrollere göre yaklaşık 1.5 kat daha fazla görüldüğü ve meme kanseri riskini artırdığı saptandı ($p=0.0156$, OR=1.655 %95CI 1.099-2.494).

Ayrıca çalıştığımız üç polimorfik gen bölgesinin SNP etkileşimleri incelendi ve yapılan üçlü kompozit genotip analizi sonucunda TNF- α / β /IFN γ genleri GGAGTT kompozit genotipinin, kontrollerde hastalara göre yaklaşık 2.3 kat daha fazla olduğu ve meme kanserine karşı koruyucu etkisi olduğu görüldü ($p=0.0437$; OR=0.420, %95 CI 0.177-0.998). GGAGTT kompozit genotipine sahip 25 örneğin 8'ini (%3.9) hastalar, 17'sini (%8.9) kontroller oluşturmaktaydı (Tablo 14). Daha kuvvetli bir koruyuculuk ilişkisine ise GAAGTT kompozit genotip analizinde rastlandı ($p=0.0038$; OR=0.229, %95 CI 0.084-0.626). GAAGTT kompozit genotipine sahip 24 örneğin 5'ini (%2.5) hastalar, 19'unu (%9.9) kontroller oluşturmaktaydı (Tablo 14). GAAGTT kompozit genotipinin kontrollerde, hastalara göre yaklaşık 4 kat daha fazla görüldüğü ve meme kanseri riski açısından kuvvetli bir koruyucu etkisi olduğu saptandı.

Tablo 11: Meme kanserli hastaların demografik özelliklerinin dağılımı, genotip sonuçları ve p değerleri

Hastalığın başlama yaşı *	TNF- α -308 (G→A)		TNF- β +252 (A→G)		IFN- γ +874 (T→A)		P değeri#
	GG	GA	AA	AG	TT	TA	
	P değeri#		P değeri#		P değeri#		
189							
< 50	86 (86.0)	13 (13.0)	1 (1.0)	42 (42.0)	21 (21.0)	54 (54.0)	0.739
≥ 50	70 (78.7)	19 (21.3)	0 (0)	33 (37.1)	15 (16.9)	49 (55.1)	
171							
Herhangi bir zaman kullanmış	24 (88.9)	3 (11.1)	0 (0)	12 (44.4)	6 (22.2)	15 (55.6)	0.778
Hiç kullanmamış	117 (81.3)	26 (18.1)	1 (0.7)	59 (41.0)	24 (16.7)	84 (58.3)	
Ailede kanser öyküsü							
196							
Meme kanseri	23 (82.1)	5 (17.9)	0 (0)	13 (46.4)	5 (17.9)	16 (57.1)	0.268
Diğer tip kanser	49 (80.3)	12 (19.7)	0 (0)	27 (44.3)	11 (18.0)	40 (65.6)	
Hiçbir kanserli akrabası bulunmayan	88 (82.2)	18 (16.8)	1 (0.9)	40 (37.4)	23 (21.5)	52 (48.6)	
Klinik tanı							
175							
Bilateral meme kanseri	11 (100)	0 (0)	0 (0)	2 (18.2)	2 (18.2)	7 (63.6)	0.915
Sol meme kanseri	65 (79.3)	16 (19.5)	1 (1.2)	38 (46.3)	16 (19.5)	46 (56.1)	
Sağ meme kanseri	68 (82.9)	14 (17.1)	0 (0)	29 (35.4)	15 (18.3)	43 (52.4)	

İstatistiksel olarak anlamlı olan sonuçlar kalın karakterle yazılmıştır

*Hastalar için meme kanseri tanısının ilk konduğu yaş

χ^2 (Kikare) testi uygulandı

Tablo 11: Meme kanserli hastaların demografik özelliklerinin dağılımı, genotip sonuçları ve p değerleri (devam)

	Toplam n (%)	TNF- α -308 (G→A)			P değeri#	TNF- β +252 (A→G)			P değeri#	IFN- γ +874 (T→A)			P değeri#	
		GG	GA	AA		AA	AG	GG		TT	TA	AA		
Meme kanserinin tipi	182													
Duktal karsinom	161 (88.5)	134 (83.2)	27 (16.7)	0 (0)	82 (50.9)	66 (41.0)	13 (8.1)	29 (18.0)	89 (55.3)	43 (26.7)				
Lobüler karsinom	11 (6.0)	8 (72.7)	2 (18.2)	1 (9.1)	6 (54.5)	3 (27.3)	2 (18.2)	2 (18.2)	6 (54.5)	3 (27.3)				0.883
Diğer	10 (5.5)	8 (80.0)	2 (20.0)	0 (0)	6 (60.0)	4 (40.0)	0 (0)	3 (30.0)	4 (40.0)	3 (30.0)				
Meme kanserinin evresi	149													
Evre I	17 (11.4)	14 (82.4)	3 (17.6)	0 (0)	8 (47.1)	6 (35.3)	3 (17.6)	4 (23.5)	10 (58.8)	3 (17.6)				
Evre II	60 (40.3)	51 (85.0)	9 (15.0)	0 (0)	33 (55.0)	23 (38.3)	4 (6.7)	9 (15.0)	38 (63.3)	13 (21.7)				
Evre IIIA	45 (30.2)	39 (86.7)	5 (11.1)	1 (2.2)	25 (55.6)	18 (40.0)	2 (4.4)	9 (20.0)	22 (48.9)	14 (31.1)				0.520
Evre IIIB	21 (14.1)	13 (61.9)	8 (38.1)	0 (0)	6 (28.6)	13 (61.9)	2 (9.5)	1 (4.8)	13 (61.9)	7 (33.3)				
Evre IV	6 (4.0)	5 (83.3)	1 (16.7)	0 (0)	3 (50.0)	1 (16.7)	2 (33.3)	2 (33.3)	2 (33.3)	2 (33.3)				
Menarş yaşı	166													
< 15 yaş	131 (78.9)	107 (81.7)	23 (17.6)	1 (0.8)	64 (48.9)	55 (42.0)	12 (9.2)	18 (13.7)	74 (56.5)	39 (29.8)				
≥ 15 yaş	35 (21.1)	30 (85.7)	5 (14.3)	0 (0)	20 (57.1)	14 (40.0)	1 (2.9)	7 (20.0)	20 (57.1)	8 (22.9)				0.552
Menapoz yaşı	178													
Menapoz henüz girmemiş	70 (39.3)	59 (84.3)	10 (14.3)	1 (1.4)	31 (44.3)	33 (47.1)	6 (8.6)	12 (17.1)	43 (61.4)	15 (21.4)				
< 40 yaş	10 (5.6)	8 (80.0)	2 (20.0)	0 (0)	7 (70.0)	1 (10.0)	2 (20.0)	2 (20.0)	2 (20.0)	6 (60.0)				0.098
≥ 40 yaş	98 (55.1)	79 (80.6)	19 (19.4)	0 (0)	55 (56.1)	37 (37.8)	6 (6.1)	19 (19.4)	53 (54.1)	47 (26.5)				

İstatistiksel olarak anlamlı olan sonuçlar kalın karakterle yazılmıştır

#Hastalar için meme kanseri tanısının ilk konduğu yaş

χ^2 testi uygulandı

Tablo 11: Meme kanserli hastaların demografik özelliklerinin dağılımı, genotip sonuçları ve p değerleri (devam)

Doğum sayısı	TNF- α -308 (G→A)		TNF- β +252 (A→G)		IFN- γ +874 (T→A)		P değeri#	
	GG	GA	AA	AG	TT	TA		
Toplam								
n (%)								
Doğum sayısı								
178								
Hiç çocuğu olmayan	18 (10.1)	2 (11.1)	0 (0)	8 (44.4)	1 (5.6)	2 (11.1)	11 (61.1)	5 (27.8)
1 çocuk	13 (7.3)	3 (23.1)	0 (0)	3 (23.1)	1 (7.7)	3 (23.1)	5 (38.5)	5 (38.5)
≥ 2 çocuk	147 (82.6)	119 (81.0)	1 (0.7)	61 (41.5)	13 (8.8)	30 (20.4)	81 (55.1)	36 (24.5)
P değeri#								
0.903								
0.700								
Ortalama emzirme süresi								
179								
Hiç emzirmemiş	26 (14.5)	2 (7.7)	0 (0)	11 (42.3)	1 (3.8)	4 (15.4)	16 (61.5)	6 (23.1)
< 6 ay	38 (21.2)	9 (23.7)	0 (0)	14 (36.8)	6 (15.8)	11 (28.9)	18 (47.4)	9 (23.7)
≥ 6 ay	115 (64.2)	93 (80.9)	1 (0.9)	48 (41.7)	7 (6.1)	19 (16.5)	64 (55.7)	32 (27.8)
P değeri#								
0.510								
0.354								
Östrojen reseptör								
143								
Pozitif	101 (70.6)	18 (17.8)	1 (1.0)	45 (44.6)	7 (6.9)	22 (21.8)	53 (52.5)	26 (25.7)
Negatif	42 (29.4)	7 (16.7)	0 (0)	17 (40.5)	6 (14.3)	4 (9.5)	25 (59.5)	13 (31.0)
P değeri#								
0.796								
0.378								
Progesteron reseptör								
112								
Pozitif	66 (58.9)	11 (16.7)	1 (1.5)	28 (42.4)	4 (6.1)	15 (22.7)	33 (50.0)	18 (27.3)
Negatif	46 (41.1)	9 (19.6)	0 (0)	19 (41.3)	4 (8.7)	8 (17.4)	25 (54.3)	13 (28.3)
P değeri#								
0.660								
0.868								

İstatistiksel olarak anlamlı olan sonuçlar kalın karakterle yazılmıştır

*Hastalar için meme kanseri tanısının ilk konduğu yaş

χ^2 testi uygulandı

Tablo 12: TNF- α , TNF- β ve IFN- γ gen polimorfizmlerinin genotip ve allel dağılımlarının hasta ve kontrollerde karşılaştırılması

SNP	Genotip / Allel	Hastalar (n=204) (%)	Kontroller (n=204) (%)	χ^2	P değeri	OR (%95 CI)
TNF-α -308 (G→A)	GG	167 (81.9)	159 (77.9)	2.196	0.333	
	GA	36 (17.6)	45 (22.1)			
	AA	1 (0.5)	0 (0)	0.977	1.00*	0.7828 (0.481-1.273)
	GG+GA : AA	203 : 1	204 : 0			
	GG : GA+AA	167 : 37	159 : 45			
	G	370 (90.7)	363 (89.0)			
A	38 (9.3)	45 (11.0)	0.657	0.4175	0.8285 (0.525-1.306)	
TNF-β +252 (A→G)	AA	103 (50.5)	88 (43.1)	8.296	0.016	
	AG	83 (40.7)	108 (52.9)			
	GG	18 (8.8)	8 (3.9)	4.108	0.0468	2.371 (1.007-5.584)
	AA+AG : GG	186 : 18	196 : 8			
	AA : AG+GG	103 : 101	88 : 116			
	A	289 (70.8)	284 (69.6)			
G	119 (29.2)	124 (30.4)	0.147	0.7019	0.943 (0.699-1.273)	
IFN-γ +874 (T→A)	TT	41 (20.1)	69 (35.9)	14.580	0.001	
	TA	112 (54.9)	74 (38.5)			
	AA	51 (25.0)	49 (25.5)	0.014	0.9051	0.972 (0.618-1.531)
	TT+TA : AA	153 : 51	143 : 49			
	TT : TA+AA	41 : 163	69 : 123			
	T	194 (47.5)	212 (55.2)			
A	214 (52.5)	172 (44.8)	4.645	0.0312	1.36 (1.028-1.798)	

İstatistiksel olarak anlamlı olan sonuçlar kalın karakterle yazılmıştır

* Fisher exact test

Tablo 13: İki-yönlü SNP-SNP etkileşimlerinin genotip kombinasyonları ile ilişkili p değerleri, olasılık oranları (OR) ve %95 güven aralıkları (CIs) (haplotip ve kompozit genotip analizi)

SNP-SNP etkileşimi	SNP Genotipleri	Hastalar n (%)	Kontroller n (%)	χ^2	P değeri	OR (%95 CI)
TNF- α -308 (G→A) ve TNF- β +252 (A→G)	TNF-α / TNF-β					
	GGAA	101 (49.5)	88 (43.1)	1.666	0.1971	1.293 (0.875-1.909)
	GGAG	58 (28.4)	68 (33.3)	1.148	0.2853	0.795 (0.522-1.21)
	GGGG	8 (3.9)	3 (1.5)		0.2202*	
	GAAA	2 (1.0)	0 (0)		0.4988*	
	GAAG	25 (12.3)	40 (19.6)	4.118	0.0424	0.573 (0.333-0.985)
Toplam	GAGG	9 (4.4)	5 (2.5)	0.666	0.4146	1.837 (0.605-5.579)
	AAGG	1 (0.5)	0 (0)		1.00*	
	204	204				
TNF- α -308 (G→A) ve IFN- γ +874 (T→A)	TNF-α / IFN-γ					
	GGTT	33 (16.2)	48 (25.0)	4.733	0.0296	0.579 (0.353-0.950)
	GGTA	90 (44.1)	62 (32.3)	5.849	0.0156	1.655 (1.099-2.494)
	GGAA	44 (21.6)	40 (20.8)	0.032	0.8580	1.045 (0.645-1.693)
	GATT	8 (3.9)	21 (10.9)	6.177	0.0129	0.332 (0.144-0.770)
	GATA	22 (10.8)	12 (6.3)	2.045	0.1528	1.813 (0.871-3.773)
Toplam	GAAA	6 (2.9)	9 (4.7)	0.418	0.5180	0.616 (0.215-1.765)
	AAAA	1 (0.5)	0 (0)		1.03*	
	204	192				

İstatistiksel olarak anlamlı olan sonuçlar kalın karakterle yazılmıştır

* Fisher exact test

Tablo 13: İki-yönlü SNP-SNP etkileşimlerinin genotip kombinasyonları ile ilişkili p değerleri, olasılık oranları (OR) ve %95 güven aralıkları (CIs) (haplotip ve kompozit genotip analizi) (devam)

SNP-SNP etkileşimi	SNP Genotipleri	Hastalar n (%)	Kontroller n (%)	χ^2	P değeri	OR (%95 CI)
TNF- β +252 (A→G) ve IFN- γ +874 (T→A)	TNF-β / IFN-γ					
	AATT	25 (12.3)	31 (16.1)	1.233	0.2678	0.725 (0.411-1.28)
	AATA	54 (26.5)	37 (19.3)	2.897	0.0888	1.508 (0.938-2.424)
	AAAA	24 (11.8)	17 (8.9)	0.616	0.4324	1.373 (0.713-2.643)
	AGTT	13 (6.4)	36 (18.8)	12.86	0.0003	0.295 (0.151-0.576)
	AGTA	49 (24.0)	34 (17.7)	2.378	0.1231	1.469 (0.900-2.399)
	AGAA	21 (10.3)	29 (15.1)	1.661	0.1977	0.645 (0.354-1.175)
	GGTT	3 (1.5)	2 (1.0)		1.05*	
	GGTA	9 (4.4)	3 (1.6)		0.1709*	
	GGAA	6 (2.9)	3 (1.6)		0.5645*	
Toplam	204	192				

İstatistiksel olarak anlamlı olan sonuçlar kalın karakterle yazılmıştır

* Fisher exact test

Tablo 14: Üç-yönlü SNP-SNP etkileşimlerinin genotip kombinasyonları ile ilişkili p değerleri, olasılık oranları (OR) ve %95 güven aralıkları (CIs) (kompozit genotip analizi)

SNP-SNP etkileşimi	SNP Genotipleri	Hastalar n (%)	Kontroller n (%)	χ^2	P değeri	OR (%95 CI)
TNF-α / TNF-β / IFN-γ						
TNF- α -308 (G→A)	GGAATT	24 (11.8)	31 (16.1)	1.242	0.2661	0.693 (0.390-1.229)
TNF- β +252 (A→G)	GGAATA	53 (26.0)	37 (19.3)	2.535	0.1114	1.47 (0.914-2.367)
IFN- γ +874 (T→A)	GGAAAA	24 (11.8)	17 (8.9)	0.616	0.4324	1.373 (0.713-2.643)
	GGAGTT	8 (3.9)	17 (8.9)	4.069	0.0437	0.420 (0.177-0.998)
	GGAGTA	34 (16.7)	23 (12.0)	1.404	0.2367	1.47 (0.831-2.599)
	GGAGAA	16 (7.8)	22 (11.5)	1.103	0.2953	0.658 (0.334-1.294)
	GGGGTT	1 (0.5)	0 (0)		1.03*	
	GGGGTA	3 (1.5)	2 (1.0)		1.05*	
	GGGGAA	4 (2.0)	1 (0.5)		0.4109*	
	GAAATT	1 (0.5)	0 (0)		1.03*	
	GAAATA	1 (0.5)	0 (0)		1.03*	
	GAAAGT	5 (2.5)	19 (9.9)		0.0038	0.229 (0.084-0.626)
	GAAAGTA	15 (7.4)	11 (5.7)	8.366	0.6534	1.306 (0.584-2.919)
	GAAGAA	5 (2.5)	7 (3.6)	0.160	0.6892	0.664 (0.207-2.129)
	GAGGTT	2 (1.0)	2 (1.0)		1.33*	
	GAGGTA	6 (2.9)	1 (0.5)		0.1425*	
	GAGGAA	1 (0.5)	2 (1.0)		0.9544*	
	AAGGAA	1 (0.5)	0 (0)		1.03*	
Toplam		204	192			

İstatistiksel olarak anlamlı olan sonuçlar kalın karakterle yazılmıştır

* Fisher Kikare yöntemi

5. TARTIŞMA

TNF- α , TNF- β ve IFN- γ genlerinin, tümör hücrelerine karşı immün cevaptaki ve kanser patogenezindeki rolleri gözönüne alındığında, bu genlerin meme kanseri çalışmaları için potansiyel adaylar olduğu öne sürülmektedir. TNF- α -308G>A, TNF- β +252A>G ve IFN- γ +874T>A gen polimorfizmleri ile meme kanseri arasındaki ilişkiyi incelemek için farklı populasyonlarda birçok çalışma yapılmıştır ve bu çalışmaların sonuçları birbirinden farklılık göstermektedir (Chouchane ve ark., 1997; Mestiri ve ark., 2001; Park ve ark., 2002; Giordani ve ark., 2003; de Jong ve ark., 2003; Smith ve ark., 2004; Azmy ve ark., 2004; Lee ve ark., 2005; Kamali-Sarvestani ve ark., 2005a; Scola ve ark., 2006; Gaudet ve ark., 2007; Gönüllü ve ark., 2007; Kohaar ve ark., 2009). Meme kanseri ile TNF- α -308G>A, TNF- β +252A>G ve IFN- γ +874T>A gen polimorfizmleri arasındaki ilişkinin çalışıldığı araştırma sonuçları ile kendi bulgularımızı karşılaştırdık (Tablo 15).

5.1. TNF- α GENİ -308G>A POLİMORFİZMİ

TNF- α -308G>A promotor polimorfizmi, TNF- α 'nın ifadesini etkiler ve -308A alleli yüksek miktarda TNF- α üretirken, -308G alleli azalmış TNF- α üretimi ve dolayısıyla artan meme kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir (Chen ve ark., 1996; Wilson ve ark., 1997; Kroeger ve ark., 1997). TNF- α -308G/A polimorfizminin, transkripsiyon faktörü aktivatör protein-2 (AP-2)'nin bağlanma bölgesi olan bir konsensus diziyi etkilediği rapor edilmiştir (Kroeger ve Abraham, 1996). -308G alleli varlığında TNF- α 'nın 10 bp'lik bir bölgesi, AP-2'nin konsensus bağlanma bölgesi ile homoloji göstermektedir ki bu homoloji, -308A varyantında azalır (Kroeger ve Abraham, 1996). Fakat, daha sonra yapılan bazı çalışmalarda, AP-2 transkripsiyon faktörünün, polimorfik bölge ile konsensus diziyeye sahip olmasına rağmen, -308 polimorfik bölgesi ile etkileşime girmediği gösterilmiştir (Wilson ve ark., 1997; Baseggio ve ark., 2004). Belki de polimorfik bölgedeki DNA konformasyonundaki değişimin sonucu olarak farklı çekirdek proteinlerinin bağlanma yetenekleri değişmekte ve TNF- α geninin transkripsiyonel aktivitesi etkilenmektedir. Birçok farklı tümör tipinde artmış TNF- α -308 GA genotipi ile birlikte, malignant tümörlü hastalarda önemli derecede artış

göstermiş -308G alleli rapor edilmiştir (Chouchane ve ark., 1997; Oh ve ark., 2000; Ho ve ark., 2004).

TNF- α -308G>A polimorfizmi ile sadece meme kanseri arasında değil, aynı zamanda diğer kanser tiplerinden non-Hodgkin's lenfoma (Chouchane ve ark., 1997; Warzocha ve ark., 1998; Juszczynski ve ark., 2002; Wang ve ark., 2006; Rothman ve ark., 2006), gastrik kanser (Shimura ve ark., 1995), multiple miyeloma (Davies ve ark., 2000; Morgan ve ark., 2005; Brown ve ark., 2007; Kadar ve ark., 2008), akciğer kanseri (Shih ve ark., 2006), invaziv servikal kanser (Duarte ve ark., 2005), oral squamous hücre karsinoması (Liu ve ark., 2005; Vairaktis ve ark., 2008) ve prostat kanseri (Saenz-Lopez ve ark., 2008) arasında da ilişki gözlenmiştir (Tablo 2).

TNF- α -308G>A promotor polimorfizminin, çalışılan populasyonlarda farklı sıklıklarda olduğu gözlenmiştir. Normal populasyonda, beyazların (Amerika, Avustralya, Danimarka, İngiltere, Almanya, İsviçre) yaklaşık %60-70'i G alleli için homozigot, %30-40'ı heterozigot, %1.5-3'ü A alleli için homozigot (Demeter ve ark., 1997; Wihlborg ve ark., 1999; Hoffman ve ark., 2002; Skorpil ve ark., 2007; Javor ve ark., 2007; Zabaleta ve ark., 2008), Japon, Çin, Tayvan, Batı Afrika, İtalyan, Fransız ve İspanyolların %80-97'si G alleli için homozigot, %3-17'si heterozigot ve %0-3'ü A alleli için homozigottur (Cuenca ve ark., 2001; Bagheri ve ark., 2006; Skorpil ve ark., 2007). Çalışmamızda normal populasyon (204 kontrol) için elde ettiğimiz oranlar ise G allelinin homozigot formu için %77.9, heterozigot için %22.1, A allelinin homozigot formu için %0 olup Afrikalı Amerikanlar, Slovak, Kore ve Singapur Çinlilerinde bulunan sonuçlarla benzerlik göstermektedir (Bagheri ve ark., 2006; Javor ve ark., 2007; Zabaleta ve ark., 2008). Türkiye'de (İstanbul ilinde) yapılan başka bir çalışmada da normal populasyonun (146 kontrol) %79.5'i GG homozigot, %20.5'i GA heterozigot, %0'ı AA homozigot olup bizim sonuçlarımızla benzerlik göstermektedir (Ates ve ark., 2008).

204 meme kanserli hasta ve 204 sağlıklı kontrol kullanarak yaptığımız çalışmamızda, TNF- α -308G>A polimorfizmi ile meme kanseri arasında gerek genotip ($p=0.333$) gerekse allel ($p=0.4175$) dağılımları açısından istatistiksel olarak herhangi bir ilişki bulunamamıştır. Hasta ve kontrollerin genotiplerini GG+GA'ya karşılık AA veya GG'ye karşılık GA+AA olarak karşılaştırıldığımızda da istatistiksel olarak bir ilişki olmadığı görülmüştür (sırasıyla $p=1.00$ ve $p=0.3230$). Diğer populasyonlarda yapılan

çalışmalarının birçoğunda da bizim sonuçlarımızla benzer şekilde TNF- α -308G>A polimorfizmi ile meme kanseri arasında ilişki tesbit edilememiştir (Park ve ark., 2002; de Jong ve ark., 2003; Giordani ve ark., 2003; Azmy ve ark., 2004; Kamali-Sarvestani ve ark., 2005; Scola ve ark., 2006; Gaudet ve ark., 2007; Ostashkin ve ark., 2008).

Amerika'da 3318 hasta ve 2841 kontrol; Polonya'da 2228 hasta ve 2378 kontrol gibi çok geniş populasyonlarla yapılan çalışmalarda meme kanseri ile TNF- α -308G>A polimorfizmi arasında (sırasıyla $p=0.48$ ve $p=0.12$) istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Gaudet ve ark., 2007). Amerika ve Polonya'da yapılan bu çalışmaların sonuçlarının birleştirilmiş analizinde de TNF- α -308G>A polimorfizmi ile meme kanseri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir ($p=0.15$) (Gaudet ve ark., 2007). Bu çalışmalarda, genotip-meme kanseri risk ilişkisi, teşhis yaşı, menapozal durum, aile öyküsü ve meme kanseri tipine göre oluşturulan alt gruplarda da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir (Gaudet ve ark., 2007). Hollanda'da yapılan ve 956 meme kanserli hasta ve 1271 sağlıklı kontrolün katıldığı diğer bir geniş populasyonlu çalışmada da bizim bulgularımızla benzer şekilde meme kanseri ile en az bir A alleli taşımak arasında herhangi bir ilişki (OR = 0.90, %95 CI 0.75-1.08) bulunamamıştır (de Jong ve ark., 2003). Azmy ve ark.'larının, iki farklı TNF- α promotor polimorfizmi ile yapmış oldukları çalışmada, TNF- α -308 polimorfizmi ile meme kanseri arasında bizim sonuçlarımıza benzer şekilde herhangi bir ilişki (OR=0.82, %95 CI 0.64-1.04) saptanmamıştır (Azmy ve ark., 2004). 709 meme kanserli hasta ve 498 sağlıklı kontrolün kullanıldığı bu çalışmada aynı zamanda, -308 A alleli, meme kanserli aile öyküsü bulunan altgrubu oluşturan meme kanserli bireylerle de ilişkilendirilememiştir (OR=0.79, %95 CI 0.49-1.26).

Bizim çalışma populasyonumuzdan biraz daha büyük bir populasyon üzerinde çalışan Kamali-Sarvestani ve ark.ları, İranlı 223 meme kanserli hasta ve 267 sağlıklı kontrol ile yapmış olduğu çalışmada, çalışmamızdaki sonuçlarla benzer olarak TNF- α -308 polimorfizmi ile meme kanseri arasında anlamlı bir ilişki olmadığını gözlemişlerdir ($p=0.96$) (Kamali-Sarvestani ve ark., 2005a). Aynı çalışmada TNF- α polimorfizmi ile, klinik tümör büyüklüğü, lenf nodu durumu ve hastalığın başlangıç yaşı arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Daha küçük populasyonlarla yapılan çalışmalardan bazılarında da bizim çalışmamızdaki sonuçlara benzer sonuçlar bulunmuştur. Rusya'da 167 sporadik meme

kanserli hasta ve 139 kadın kontrol kullanılarak yapılan çalışmada da, -308 polimorfizmi ile meme kanseri arasında bir ilişkiye rastlanmamıştır (Ostashkin ve ark., 2008). İtalyan populasyonunda TNF- α -308 polimorfizmi ile meme kanseri arasındaki ilişkinin incelendiği iki çalışma bulunmaktadır. Bu iki çalışmanın sonuçları hem birbirleriyle hem de bizim sonuçlarımızla benzerlik göstermektedir. Giordani ve ark.'larının 125 meme kanserli hasta ve 100 sağlıklı kontrol; Scola ve ark.'larının da 84 meme kanserli hasta ve 226 sağlıklı kontrol ile yapmış oldukları İtalyan hasta-kontrol çalışmalarında sitokin gen polimorfizmlerine bakılmış ve TNF- α -308 polimorfizmi ile meme kanseri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanamamıştır (Giordani ve ark., 2003; Scola ve ark., 2006). Koreli 95 meme kanserli hasta ve 190 kontrol ile yapılan diğer bir çalışmada, TNF- α -308 polimorfizmi bizim çalışmamızda da olduğu gibi meme kanseri ile istatistiksel olarak ilişkilendirilememiş, fakat GG genotipinin sıklığının, meme kanserli hastalarda sağlıklı kontrollerle kıyaslandığında daha fazla olduğu gösterilmiştir (Park ve ark., 2002).

Daha önce Türkiye'de yapılan diğer bir çalışmada, sitokin gen polimorfizmleri ile meme kanseri arasındaki ilişkiye bakılmıştır (Gonullu ve ark., 2007). Marmara Bölgesi'nde (Bursa ili) yapılan ve 38 meme kanserli hasta ve 24 sağlıklı kontrolün dahil edildiği bu çalışmada TNF- α -308 polimorfizmi ile meme kanseri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Gonullu ve ark., 2007). Çalışılan populasyon çok küçük olmakla beraber, bu çalışmada elde edilen sonuçlar, bizim sonuçlarımızla benzerlik göstermektedir.

Bizim sonuçlarımızdan farklı olarak TNF- α -308 polimorfizmi ile meme kanseri arasında ilişkinin tesbit edildiği çalışmalar da bulunmaktadır. Smith ve ark.'larının, İngiltere'de meme kanserli hastalarda yapmış olduğu çalışmada, genel dağılıma bakıldığında TNF- α -308 genotipleri ile meme kanseri arasında istatistiksel olarak bir ilişki saptanamamıştır ($p=0.07$) (Smith ve ark., 2004). Fakat Smith ve ark.'larının 144 meme kanserli hasta ve 261 sağlıklı kontrol kullanarak yapmış olduğu bu çalışmada, bizim sonuçlarımızdan farklı olarak, GG genotipinin sıklığının, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında meme kanserli hasta grubunda anlamlı derecede artmış olduğu ($p=0.03$; OR=1.83, %95 CI 1.08-3.09) gözlenmiştir (Smith ve ark., 2004). Bu çalışmada bizim sonuçlarımızdan farklı bir sonucun çıkmasında, kullanılan sağlıklı kontrollerin yarısının erkek olması ve kontrol grubunun yaş ortalamasının hasta

grubununkine göre düşük olması etken olabilir. Chouchane ve ark.'ları, TNF- α -308 polimorfizmini, Tunuslu 40 meme kanserli hasta ve 106 sağlıklı kontrol ile çalışmış ve bizim sonuçlarımızdan farklı olarak TNF- α heterozigot genotip ile meme kanseri ($p \leq 0.001$; RR=3.2) arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermişlerdir (Chouchane ve ark., 1997). Aynı çalışma grubu, meme kanserli hastaların ($n=243$) ve sağlıklı kontrollerin sayısını ($n=174$) artırarak çalışmayı tekrarlamış ve AA homozigot genotipi ile meme karsinoması arasında anlamlı bir ilişki ($p=0.0006$, RR=4.4) tesbit etmişlerdir (Mestiri ve ark., 2001). Bu çalışmaya dahil edilen meme kanserli hastaların hepsinin, tek taraflı meme tümörüne sahip olmaları ve çalışılan populasyonun farklı olması bizim sonuçlarımızdan farklı bir sonucun oluşmasına sebep olmuş olabilir.

Bizim sonuçlarımızdan farklı olan diğer bir çalışmada, TNF- α -308 GA heterozigot genotipinin, meme kanserli hastalarda (sporadik) sağlıklı kontrollerden 9.5 kat daha fazla bulunduğu gösterilmiştir ($p < 0.0001$) (Kohaar ve ark., 2009). Aynı çalışmada meme kanserli hastalar, meme kanseri için yüksek riskli grup (meme kanseri aile öyküsü olan) ile karşılaştırıldığında ise bu riskin 5 kat arttığı gözlenmiştir ($p=0.0002$). Hindistan'da 127 birey (40 meme kanserli hasta [35 sporadik ve 5 ailesel], 87 meme kanseri için yüksek riskli grup) ve 150 kontrol kullanılarak yapılan bu çalışmada meme kanseri için yüksek riskli olan grup ile kontroller arasında TNF- α -308G>A polimorfizmi açısından herhangi bir farklılığa rastlanılmamıştır. Yine bu çalışmada A allel sıklığının meme kanserli hastalarda kontrol grubunkinden 6.5 kat fazla olduğu görülmüştür. Çalışılan populasyonun farklı bir etnik kökenden geliyor olmasının böyle bir farklılığa neden olduğu kanaatindeyim.

Çalışmamızda, hastaların demografik karakterleri ile TNF- α -308G>A polimorfizmi karşılaştırılmış ve meme kanserli hastaların aile öyküsü, sigara kullanımı, klinik tanı, kanserinin evresi, menarş ve menapoz yaşı, doğum sayısı ve ortalama emzirme süresi ile östrojen ve progesteron reseptörlerinin durumu ile TNF- α -308G>A polimorfizmi arasında bir ilişki saptanmamıştır. Buna karşılık meme kanserinin tipi ile TNF- α geni -308G>A polimorfizmi arasında bir ilişki olduğu gözlenmiş ($p=0.003$) olup tek olan AA homozigot genotipine lobüler karsinomlu meme kanseri hastasında rastlanmıştır Yapılan başka bir çalışmada, TNF- α -308 GA genotipini taşıyan infiltratif lobular karsinomlu meme kanseri hastalarına, aynı genotipi taşıyan infiltratif duktal

karsinomlu meme kanseri hastalarından daha sık rastlandığı görülmüştür (%34.0'a karşılık %17.3, $p=0.034$) (Ostashkin ve ark., 2008).

5.2. TNF- β GENİ +252A>G POLİMORFİZMİ

TNF- β geni birinci intronu içindeki +252A>G polimorfizminin, TNF- β 'nın plazma düzeyini ve in vitro TNF- β ifadesini etkilediği rapor edilmiştir (Messer ve ark., 1991; Ozaki ve ark., 2002). +252 A alleli, G allele göre daha güçlü bir transkripsiyon faktörüdür (Messer ve ark., 1991). GG genotipine sahip olanlarda, TNF- β üretimi, A allele sahip olanlara göre anlamlı derecede düşüktür (Whichelow ve ark., 1996). TNF- β +252A>G polimorfizminin meme kanseri riskini artırdığı rapor edilmiştir (Park ve ark., 2002; Lee ve ark., 2005b). TNF- β +252A>G polimorfizmi, meme kanseri kadar akciğer kanseri (Hagihara ve ark., 1995), gastrik kanser (Shimura ve ark., 1995) ve non-Hodgkin's lenfoma (Warzocha ve ark., 1998; Wang ve ark., 2006), endometrial kanser (Niwa ve ark., 2007), kolorektal kanser (Park ve ark., 1998) ve multiple miyeloma (Davies ve ark., 2000) ile de ilişkilendirilmiştir.

TNF- β geni +252A>G polimorfizmi açısından, normal populasyonda beyazların, %40-45'i yabancıl tip A alleli için homozigot, %40-45'i heterozigot ve yaklaşık %15' i de varyant G alleli için homozigottur (Demeter ve ark., 1997; Wihlborg ve ark., 1999). Çalışmamızda ise normal popülasyonunun (204 sağlıklı kontrol) %43.1'i AA homozigot, %52.9'u heterozigot ve %3.9'u GG homozigot olarak belirlenmiştir. Beyaz popülasyonla karşılaştırdığımızda, bizim popülasyonumuzda GG homozigot genotipine daha az rastlanıldığı gözlenmiştir.

Çalışmamızda hasta ve kontrollerin genotip dağılımları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu belirlenmiştir ($p=0.016$). AA homozigot genotipe hastalarda daha fazla rastlanırken, heterozigot genotipe (AG) kontrollerde daha fazla rastlanmıştır. AA+AG'ye karşılık GG karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık olduğu gözlenmiştir ($p=0.0468$, OR=2.371 %95CI 1.007-5.584). GG genotipine, meme kanserli hastalarda kontrollere nazaran yaklaşık 2.5 kat daha fazla rastlanmıştır. Allel sıklıkları karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa rastlanmamıştır ($p=0.7019$).

İstatistiksel olarak elde ettiğimiz sonuçların, diğer bazı araştırmacıların sonuçlarıyla benzerlik gösterdiği görülmüştür. Park ve ark.'larının Koreli 95 meme

kanserli hasta ve 190 sağlıklı kontrol ile yapmış olduğu çalışmada, GG genotipinin sıklığının, bizim sonuçlarımızla da benzer şekilde, meme kanserli hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p=0.001$; OR=5.33, %95 CI 2.33-12.19) (Park ve ark., 2002). Park ve ark.'larının çalışmasında G allel sıklığının da meme kanserli hastalarda, kontrol grubunkinden daha fazla olduğu saptanmıştır ($p=0.015$). Yaş ile TNF- β +252 genotipleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Yine Kore'de yapılan bir diğer çalışmada, Koreli 560 meme kanserli hasta ve 509 sağlıklı kontrol kullanılmış ve TNF- β G allelini taşıyan genotiplerin (AG veya GG), postmenapozal meme kanseri riskini artırdığı (OR=1.7, %95 CI=1.09-2.55) gösterilmiştir (Lee ve ark., 2005b).

Hindistan'da yapılan bir diğer çalışmada ise +252 A>G polimorfizmi açısından meme kanseri için yüksek riskli grup (meme kanseri aile öyküsü olan) ile kontroller arasında 8 katlık bir fark ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ortaya konmuştur ($p<0.0001$, OR=8.27, %95 CI 4.28-16.0) (Kohaar ve ark., 2009). G alleli taşıyan genotiplerin sıklığının (AG ve GG) meme kanseri için yüksek riskli grupta kontrollerden çok daha fazla olduğu saptanmıştır. Daha zayıf bir ilişkiye, meme kanseri için yüksek riskli grup ile meme kanserli hastalar (sporadik) karşılaştırıldığında rastlanmıştır ($p=0.007$). Bu sonuçlar da, bizim çalışmamızda tesbit ettiğimiz GG genotipine hastalarda daha fazla rastlanıldığı bulgularıyla uygunluk göstermektedir

Bizim bulgularımızın aksine, bazı populasyon çalışmaları TNF- β +252A>G polimorfizmi ile meme kanseri arasında hiçbir ilişki tesbit edememiştir. De Jong ve ark.'larının Hollandalı 956 meme kanserli hasta ve 1271 kontrol; Kamali-Sarvestani ve ark.'larının İranlı 223 meme kanserli hasta ve 267 kontrol ile yapmış olduğu çalışmada, TNF- β polimorfizmi ile meme kanseri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (de Jong ve ark., 2003; Kamali-Sarvestani ve ark., 2005a). Her iki çalışmada da kullanılan hasta ve kontrollerin özelliklerinin bizim çalışmamızda kullandıklarımızla aynı olmasına rağmen, sonuçların bizim sonuçlarımızdan farklı çıkması, farklı populasyonlar olmalarından kaynaklanabilir.

Polonya ve Amerika'da geniş bir populasyon ile yapılan ve TNF lokusundaki polimorfizmlerin bir kısmının meme kanseri ile ilişkisine bakıldığı bir çalışmada da TNF- β +252 polimorfizmi ile meme kanseri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanamamıştır (Gaudet ve ark., 2007). Aynı çalışmada genotipler ile meme

kanseri teşhis yaşı, menapozal durum, histolojik alt tipler ve meme kanserli aile öyküsü gibi klinik bulgularda da farklılık gözlenmemiştir. Bizim çalışmamızda da meme kanserli hastaların aile öyküsü, sigara kullanımı, klinik tanı, kanserin evresi, menarş ve menapoz yaşı, doğum sayısı ve ortalama emzirme süresi ile östrojen ve progesteron reseptörlerinin durumu ile TNF- β +252A>G polimorfizmi arasında bir ilişki saptanmamıştır.

5.3. TNF- α 308G>A ve TNF- β +252 A>G POLİMORFİZMLERİ HAPLOTİP ANALİZLERİ

Meme kanseri riski üzerine tek başına etkisi olmayan veya tesbit edilemeyecek kadar küçük etkisi olan SNPLerin, diğer SNPLerle etkileşime girerek meme kanseri riskini artırabileceği gösterilmiştir (Onay ve ark., 2006). TNF- α 308G>A ve TNF- β +252 A>G polimorfizmleri ile ilgili haplotip analizlerinin yapıldığı çalışmaların bulunması bizi de bu yönde çalışma yapmaya yönlendirdi. Bizim çalışmamızda hasta ve kontroller karşılaştırıldığında GAAG haplotipinin, kontrollerde hastalara göre yaklaşık 1.5 kat daha fazla görüldüğü ve meme kanseri riski açısından koruyucu bir etkisi olduğu istatistiksel olarak saptanmıştır ($p=0.0424$, $OR=0.573$ %95CI 0.333-0.985). Diğer haplotipler ile meme kanseri arasında herhangi bir ilişki tesbit edilmedi.

Diğer popülasyonlarda yapılan haplotip analizlerinden birinde, TNF- α -308/TNF- β +252 polimorfizmlerinin yabancı tip allellerinin (sırasıyla G ve A) oluşturduğu haplotip (GGAA) ile meme kanseri arasında ilişki bulunmuştur (de Jong ve ark., 2003). Yine başka çalışmalarda, AG (AAGG) haplotipi ile multiple miyeloma arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır (Davis ve ark., 2000; Morgan ve ark., 2005; Kádár ve ark., 2008). Kamali-Servastani ve ark.'ları, TNF- α -308G/A ve TNF- β +252A/G polimorfizmleri ile meme kanserlerinde steroid hormonlarının ifadesi arasındaki ilişkiyi çalışmış ve TNF- α -308G ve TNF- β +252A allellerinin homozigot halde birarada bulunduğu hastalar (GGAA haplotipi), yüksek seviyede progesteron reseptör (PR) ifadesi ile ilişkilendirilmiştir (Kamali-Sarvestani ve ark., 2005b).

5.4. IFN- γ GENİ +874T>A POLİMORFİZMİ

IFN- γ geni +874T ve A alleleline sahip olma, sırasıyla yüksek ve düşük IFN- γ ifadesi ile ilişkilendirilmiştir (Rossouw ve ark., 2003). Sağlıklı bireylerde yüksek in

vitro IFN- γ üretimi ile IFN- γ +874 TT genotipi arasında anlamlı bir ilişki olduğunu rapor eden yayınlar bulunmaktadır (Pravica ve ark., 2000). IFN- γ +874 polimorfizminin sadece meme kanseri ile olan ilişkisi değil (Kamali-Sarvestani ve ark., 2005a; Scola ve ark., 2006; Gonullu ve ark., 2007); aynı zamanda servikal kanser (Govan ve ark., 2003) ve nazofaringeal kanser (Ferhat ve ark., 2008) ile olan ilişkisi de çalışılmıştır.

IFN- γ geni +874 polimorfizmi açısından beyaz populasyonun %22'si yabancı tip IFN- γ +874T alleli için homozigot, %51'i heterozigot ve yaklaşık %27'si de varyant IFN- γ +874A alleli için homozigottur (Hoffman ve ark., 2002). Bizim sonuçlarımıza göre ise normal Türk populasyonunun %34.3'ü T alleli için homozigot, %40.2'si heterozigot ve %25.5'i A alleli için homozigot olarak belirlenmiştir. Beyaz populasyonla karşılaştığımızda Türk populasyonunda TT homozigot bireylere daha sık rastlanıldığı görülmektedir. Yapılan populasyon çalışmalarında, Slovak, Çekoslovak, İtalyan Makedonya, Bulgar ve Yunan ırklarında T ve A allel sıklıklarının hemen hemen benzer olduğu görülmüştür (Javor ve ark., 2007; Hoffman ve ark., 2002). Bizim bulduğumuz T ve A allel sıklıkları da bu populasyonlarla uyumludur. Türkiye'de (Bursa ilinde) yapılan diğer bir çalışmada normal populasyonun (58 kontrol) %15.3'ünün TT homozigot, %47.5'inin TA heterozigot, %37.3'ünün AA homozigot olduğu gösterilmiş olup TT genotip sıklığının bizim bulduğumuz orandan az olduğu görülmüştür (Çolakoğulları ve ark., 2008). Aynı bölgede yapılan bir başka çalışmada da Çolakoğlu ve ark.'larının sonuçlarına benzer bir sıklık bulunmuştur (Baştürk ve ark., 2005). Fakat her iki çalışmadaki kontrol grubu sayısı da bizimkinden çok azdır.

Çalışmamızda, hasta ve kontrollerin genotip dağılımları karşılaştırıldığında IFN- γ geni +874 polimorfizmi açısından istatistiksel olarak çok anlamlı bir farklılık tesbit edilmiştir ($p=0.001$). A allelini taşıyan genotiplerin (TA ve AA) meme kanserli hastalarda, kontrollere nazaran anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p=0.0004$, OR=2.23, %95 CI 1.419-3.504). Hasta ve kontrollerin allel sıklıkları karşılaştırıldığında ise A allele hastalarda daha sık rastlanıldığı görülmüştür ($p=0.0312$). Bu sonuçlar bize, A allelinin ve A alleli taşıyan genotiplerin Türk populasyonunda meme kanserine yakınlık oluşturduğunu göstermektedir.

IFN- γ geni +874 polimorfizmi ile bazı hastalıklar arasında ilişki gösteren çalışmalar (Daher ve ark., 2003; Ben-Ari ve ark., 2003; Lio ve ark., 2002) olmasına rağmen, meme kanseri ile ilişkisi ilk kez Kamali-Sarvestani ve ark.ları tarafından İran

populasyonunda 223 meme kanserli hasta ve 267 kontrol ile çalışılmış ve bu çalışmada bizim sonuçlarımızın aksine TT genotip sıklığı, meme kanserli kadınlarda kontrollere göre anlamlı derecede yüksek çıkmıştır ($p=0.0019$, $OR=2.03$, %95 CI 1.28-3.2) (Kamali-Sarvestani ve ark., 2005a).

İtalya'da 85 meme kanserli hasta ve 226 sağlıklı kontrol ile yapılan bir çalışmada ise birkaç sitokin polimorfizmi ile IFN- γ geni +874 polimorfizmine de bakılmış ve bu polimorfizm ile meme kanseri arasında bizim çalışmamızdaki sonuçlardan farklı olarak herhangi bir ilişki saptanamamıştır (Scola ve ark., 2006). Bu çalışmada kullanılan hasta sayısının nispeten küçük olması ve çalışmanın farklı bir populasyonda yapılmış olmasından dolayı bizimkinden farklı sonuçlar çıkmış olabilir.

Daha önce Türkiye'de Marmara bölgesinde (Bursa ili) çok az sayıda örnek (38 meme kanserli hasta ve 24 sağlıklı kontrol) üzerinde yapılan bir çalışmada, sitokin gen polimorfizmleri ile meme kanseri arasındaki ilişki incelenmiş (Gönüllü ve ark., 2007) ve IFN- γ +874 polimorfizmi ile meme kanseri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Gönüllü ve ark., 2007). Bu çalışma bulgularının, bizim bulgularımıza benzerlik göstermemesinin nedeni çalışılan coğrafi bölgenin farklı ve örnek sayısının küçük olması olabilir.

5.5. TNF- α -308, TNF- β +252 ve IFN γ +874 POLİMORFİZMLERİ KOMPOZİT GENOTİP ANALİZLERİ

Bazı genotiplerin birarada bulunmasının meme kanseri riskini etkileyebileceği düşüncesi ile çalışılan polimorfizmler için kompozit genotip analizleri yapıldı. Yapmış olduğumuz kompozit genotip analizi sonucunda TNF- β /IFN γ genleri AGTT kompozit genotipinin hasta ve kontrollerde anlamlı derecede farklılık gösterdiği görülmüştür ($p=0.0003$, $OR=0.295$, %95 CI 0.151-0.576). İstatistiksel olarak bu iki genotipinin birarada bulunmasının meme kanserine karşı koruyucu olduğu saptanmıştır. TNF- α /IFN- γ genleri GGTT ($p=0.0296$, $OR=0.579$ %95CI 0.353-0.950) ve GATT kompozit genotiplerinin de ($p=0.0129$, $OR=0.332$ %95CI 0.144-0.770) hasta ve kontrollerde, istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık gösterdiği görülmüştür. Bu sonuçlar, IFN- γ geni TT genotipinin meme kanserine karşı koruyucu olduğu varsayımını desteklemektedir. Buna karşılık, TNF- α /IFN- γ GGTA kompozit genotipinin

meme kanseri riskini artırdığı görülmüştür ($p=0.0156$, $OR=1.655$ %95CI 1.099-2.494) (Tablo 13).

Yapmış olduğumuz üçlü kompozit genotip analizinde de anlamlı bir ilişki, $TNF-\alpha/\beta/IFN-\gamma$ genleri GGAGTT kompozit genotipinde gözlenmiştir ($p=0.0437$, $OR=0.420$, %95 CI 0.177-0.998). GGAGTT kompozit genotipinin, kontrollerde hastalara göre yaklaşık 2.3 kat daha fazla olduğu ve meme kanserine karşı koruyucu etkisi olduğu görülmüştür. Daha etkili bir koruyuculuk ise GAAGTT kompozit genotipinde gözlenmiştir ($p=0.0038$, $OR=0.229$, %95 CI 0.084-0.626). GAAGTT kompozit genotipinin kontrollerde hastalara göre yaklaşık 4 kat daha fazla rastlanmıştır (Tablo 14).

Çalışmamız, $TNF-\alpha$ -308, $TNF-\beta$ +252 ve $IFN\gamma$ +874 polimorfizmleri kompozit genotip analizlerinin yapıldığı ilk çalışma olmaktadır. Türk populasyonunda bulduğumuz bu sonuçların, diğer populasyonlarda da çalışılıp bu genler ve meme kanseri riski arasındaki ilişkinin daha netlik kazanacağı kanaatindeyiz.

Tablo 15: Meme kanseri ile TNF- α -308(G>A), TNF- β +252(A>G) ve IFN- γ +874(T>A) gen polimorfizmleri arasındaki ilişkilendirme sonuçlarımızın literatür ile karşılaştırılması

Polimorfizm	Çalışma alanı, büyüklüğü (hasta+kontrol)	İlişki	OR (%95 CI)	Kaynak
TNF α -.308GA	Tunus (124 + 106)	Yatkınlık /	RR=3.2 (p \le 0.001)	Chouchane ve ark., 1997
TNF α -.308AA	Tunus (243 + 174)	Yatkınlık	RR=4.4 (p=0.006)	Mestiri ve ark., 2001
TNF α -.308 / TNF β +.252G	Kore (95 + 195)	Etkisi yok / Yatkınlık	- / 5.33 (2.33-12.19)	Park ve ark., 2002
TNF α -.308 / TNF β +.252	Hollanda (956 + 1271)	Etkisi yok / Etkisi yok	0.90 (0.75-1.08) / -	de Jong ve ark., 2003
TNF α -.308	İtalya (125 + 100)	Etkisi yok	1.62 (0.08-96.42)	Giordani ve ark., 2003
TNF α -.308	İngiltere (709 + 498)	Etkisi yok	0.82 (0.64-1.04)	Azmy ve ark., 2004
TNF α -.308GG	İngiltere (144 + 263)	Yatkınlık	1.83 (1.08-3.09)	Smith ve ark., 2004
TNF α -.308 / TNF β +.252 / IFN γ +.874TT	İran (223 + 267)	Etkisi yok / Etkisi yok / Yatkınlık	0.98 (0.57-1.68) / 1.15 (0.85-1.54) / 2.03 (1.28-3.2)	Kamali-Sarvestani ve ark., 2005
TNF β +.252G	Kore (560 + 509)	Yatkınlık	1.7 (1.09-2.55)	Lee ve ark., 2005
TNF α -.308 / IFN γ +.874	İtalya (84 + 226)	Etkisi yok / Etkisi yok	- / -	Scola ve ark., 2006
TNF α -.308 / TNF β +.252	USA + Polonya (5546 + 5219)	Etkisi yok / Etkisi yok	0.95 (0.88-1.02) / 0.97 (0.89-1.05)	Gaudet ve ark., 2007
TNF α -.308 / IFN γ +.874	Türkiye (38 + 24)	Etkisi yok / Etkisi yok	- / -	Gonullu ve ark., 2007
TNF α -.308	Rusya (167 + 139)	Etkisi yok	-	Ostashkin ve ark., 2008
TNF α -.308A / TNF β +.252G	Hindistan (40 + 87 + 150)	Yatkınlık / Yatkınlık	9.53 (4.11-22.13) / 2.38 (1.17-4.85)	Kohaar ve ark., 2009
TNF α -.308 / TNF β +.252GG / IFN γ +.874A	Türkiye (204 + 204)	Etkisi yok / Yatkınlık / Yatkınlık	0.828 (0.525-1.306) / 2.371 (1.007-5.584) / 1.36 (1.028-1.798)	Bizim çalışmamız

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çoğunluğu Orta Karadeniz ve İç Anadolu Bölgesinden alınan meme kanserli hastalar ile yapılan bu çalışmada, TNF- α -308 polimorfizmi ile meme kanseri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Ancak, TNF- β +252 A>G polimorfizmi için, hasta ve kontrollerin genotip dağılımlarında ($p=0.016$), IFN- γ +874 T>A polimorfizmi için ise hem allel hem genotip dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğu görülmüştür (sırasıyla $p=0.0312$ ve $p=0.001$) ve IFN- γ TA+AA genotiplerinin, meme kanseri riskini önemli derecede artırdığı saptanmıştır. Yapılan haplotip ve kompozit genotip analizlerinde TNF- α/β GAAG haplotipinin ($p=0.0424$), TNF- α /IFN- γ GGTT ve GATT kompozit genotiplerinin (sırasıyla $p=0.0296$ ve $p=0.0129$), TNF- β /IFN- γ AGTT kompozit genotipinin ($p=0.0003$), TNF- α/β /IFN- γ GGAGTT ve GAAGTT kompozit genotiplerinin (sırasıyla $p=0.0437$ ve $p=0.0038$) meme kanseri karşı koruyuculuk etkisi olduğu saptanmıştır. Ancak, TNF- α /IFN- γ GGTA kompozit genotipinin meme kanseri için risk oluşturduğu tespit edilmiştir ($p=0.0156$).

Meme kanserinde, sitokin gen polimorfizmlerinin analizi ve bunların hastalığa yatkınlıkla ve hastalığın ciddiyetiyle ilişkisinin olduğunun anlaşılmasının bize sunacağı çok şey vardır. Bu incelemeler sadece hastalık etiyojisini anlamamızı ve hastalık riskini tesbit etmemizi sağlamayacak aynı zamanda yeni tedavi protokollerinin ve daha iyi klinik uygulamaların oluşturulmasını da sağlayacaktır.

Sitokinler ile beraber karsinojen ve steroid metabolizması, anjiogenesis, DNA tamiri ve apoptozis gibi yollarda rol alan genleri içeren birçok farklı sınıftan genlerdeki polimorfizmlerin tesbit edilmesi ve bunların meme kanseri ile olan ilişkilerinin ortaya konması meme kanserinin erken tanısı ve klinik seyrinde bize yol gösterici olacaktır.

Sonuç olarak, ülkemiz ve dünya genelinde, meme kanserli hastalarda, sitokin gen polimorfizmleri ile ilgili çalışmaların genişletilmesiyle daha açıklayıcı ve kesin sonuçların elde edilebileceği kanaatindeyiz.

7. KAYNAKLAR

- Abraham L.J., Du D.C., Zahedi K., Dawkins R.L., Whitehead A.S. (1991). Haplotypic polymorphisms of the TNFB gene. *Immunogenetics*, **33**, 50–53.
- Aggarwal B.B., Kohr W.J., Hass P.E., Moffat B., Spencer S.A., Henzel W.J., Bringman T.S., Nedwin G.A., Goeddel D.V., Harkins R.N. (1985). Human tumor necrosis factor: production, purification, and characterization. *J Biol Chem*, **260**, 2345-2354.
- Aggarwal B.B. (2003). Signalling pathways of the TNF superfamily: a doubleedged sword. *Nat Rev Immunol*, **3**, 745–756.
- Ahmed M., Lalloo F., Evans D.G. (2009). Update on genetic predisposition to breast cancer. *Expert Rev Anticancer The*, **9(8)**, 1103-1113.
- Antoniou A., Pharoah P.D., Narod S., Risch H.A., Eyfjord J.E. Hopper J.L., Loman N., Olsson H., Johannsson O., Borg A., Pasini B., Radice P. ve ark. (2003). Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies. *Am J Hum Genet*, **72**, 1117-1130.
- Antoniou A.C., Easton D.F. (2006). Models of genetic susceptibility to breast cancer. *Oncogene*, **25**, 5898-5905.
- Ates O., Müsellim B., Ongen G., Topal-Sarikaya A. (2008). Analysis of TNF polymorphisms in Turkish systemic sclerosis patients with interstitial lung involvement. *Biochem Genet*, **46(11-12)**, 696-701.
- Azmy I.A., Balasubramanian S.P., Wilson A.G., Stephenson T.J., Cox A., Brown N.J., Reed M.W. (2004). Role of tumour necrosis factor gene polymorphisms (-308 and -238) in breast cancer susceptibility and severity. *Breast Cancer Res*, **6**, 395-400.
- Azzawi M., Hasleton P.S., Turner D.M., Yonan N., Deiraniya A.K., Sinnott P.J. Hutchinson I.V. (2001). Tumor necrosis factor-alpha gene polymorphism and death due to acute cellular rejection in a subgroup of heart transplant recipients. *Human Immunol*, **62**, 140-142.
- Bach E.A., Aguet M., Schreiber R.D. (1997). The IFN γ receptor: a paradigm for cytokine receptor signaling. *Annu Rev Immunol*, **15**, 563–591.
- Bagheri M., Abdi-Rad I., Omrani D., Khalkhali H.R. (2006). Heterogeneity of cytokine single-nucleotide polymorphisms among the Iranian and in the other East-South Asian populations. *Transfus Med*, **16(3)**, 192-199.
- Balding J., Kane D., Livingstone W., Mynett-Johnson L., Bresnihan B., Smith O., FitzGerald O. (2003) Cytokine gene polymorphisms: association with psoriatic arthritis susceptibility and severity. *Arthritis Rheum*, **48**, 1408-1413.

- Balkwill F., Mantovani A. (2001). Inflammation and cancer: back to Vrchow. *Lancet*, **357**, 539-580.
- Balkwill F. (2002). Tumor necrosis factor or tumor promoting factor? *Cytokine Growth Factor Rev*, **13**, 135-141.
- Balog A., Klausz G., Gál J., Molnár T., Nagy F., Ocsovszky I., Gyulai Z., Mándi Y. (2004). Investigation of the prognostic value of TNF-alpha gene polymorphism among patients treated with infliximab, and the effects of infliximab therapy on TNF-alpha production and apoptosis. *Pathobiology*, **71(5)**, 274-280.
- Barbara J.A., Van ostade X., Lopez A. (1996). Tumour-necrosis factor-alpha (TNF-alpha): the good, the bad and potentially very effective. *Immunol Cell Biol*, **74**, 434-443.
- Baron J.L., Gardiner L., Nishimura S., Shinkai K., Locksley R., Ganem D. (2002). Activation of a nonclassical NKT cell subset in a transgenic mouse model of hepatitis B virus infection. *Immunity*, **16**, 583-594.
- Bartsch H., Nair J., Owen R.W. (1999). Dietary polyunsaturated fatty acids and cancers of breast and colorectum: emerging evidence for their role as risk modifiers. *Carcinogenesis*, **20**, 2209-2218.
- Baseggio L., Bienvenu J., Charlot C., Picollet J., Felman P., Coiffier B., Salles G. (2001). Higher LPS-stimulated TNF- α mRNA levels in peripheral blood mononuclear cells from non-Hodgkin's lymphoma patients. *Exp Hematol*, **29**: 330-338.
- Baseggio L., Bartholin L., Chantome A., Charlot C., Rimokh R., Salles G. (2004). Allele-specific binding to the -308 single nucleotide polymorphism site in the tumour necrosis factor-alpha promoter. *Eur J Immunogenet*, **31**, 15-19.
- Baştürk B., Evke E., Tunalı A., Karakuş S. (2005). Interleukin-10 and interferon-gamma cytokine gene polymorphisms may be risk factors for chronic myelogenous leukemia. *Turk J Haematol*, **22(4)**, 191-196.
- Bathgate A.J., Pravica V., Perrey C., Therapondon G., Plevris J.N., Hayes P.C. Hutchinson I.V. (2000). The effect of polymorphisms in tumor necrosis factor- α , interleukin-10, and transforming growth factor- β 1 genes in acute hepatic allograft rejection. *Transplantation*, **69**, 1514-1517.
- Ben-Ari Z., Mor E., Papo O., Kfir B, Sulkes J., Tambur A.R., Tur-Kaspa R., Klein T. (2003). Cytokine gene polymorphisms in patients infected with hepatitis B virus. *Am J Gastroenterol*, **98**, 144-150.
- Beral V. (2002). Breast cancer and breastfeeding: collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries including 50302 women with breast cancer and 96973 women without the disease. *The Lancet*, **360**, 187-195.

- Bernstein L., Henderson B.E., Hanisch R., Sullivan-Halley J., Ross R.K. (1994). Physical exercise and reduced risk of breast cancer in young women. *J Natl Cancer Inst*, **86**, 1403-1408.
- Beroud C., Soussi T. (1998). p53 gene mutation: software and database. *Nucleic Acids Res*, **26**, 200-204
- Beroud C., Soussi T. (2003). The UMD p53 database: new mutations and analysis tools. *Hum Mutat*, **21**, 176-81.
- Bevers T.B., Armstrong D.K., Arun B., Carlson R.W., Cowan K.H., Daly M.B., Fleming I., Garber J.E., Gemignani M., Gradishar W.J., Krontiras H., Kulkarni S. ve ark. National Comprehensive Cancer Network (NCCN). (2007). Breast cancer risk reduction. *J Natl Compr Canc Netw*, **5(8)**, 676-701.
- Bidwell J.P. (1998). Nuclear matrix proteins and osteoblast gene expression. *J Bone Minet Res*, **13**, 155-167.
- Bidwell J., Keen L., Gallagher G. Kimberly R., Huizinga T., McDermott M.F., Oksenberg J., McNicholl J., Pociot F., Hardt C., D'Alfonso S. (1999). Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases. *Genes Immun*, **1**, 3-19.
- Bidwell J., Keen L., Gallagher G., Kimberly R., Huizinga T., McDermott M.F., Oksenberg J., McNicholl J., Pociot F., Hardt C., D'Alfonso S. (2001). Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases, Supplement 1. *Genes Immun*, **2**, 61-70.
- Biglia N., Defabiani E., Ponzone R., Mariani L., Marengo D., Sismondi P. (2004). Management of risk of breast carcinoma in postmenopausal women. *Endocr Relat Cancer*, **11**, 69-83.
- Blackwood M.A., Weber B.L. (1998). BRCA1 and BRCA2: from molecular genetics to clinical medicine. *J Clin Oncol*, **16**, 1969-1977.
- Boardman L.A., Thibodeau S.N., Schaid D.J., Lindor N.M., McDonnell S.K., Burgart L.J., Ahlquist D.A., Podratz K.C., Pittelkow M., Hartmann L.C. (1998). Increased risk for cancer in patients with the Peutz-Jeghers syndrome. *Ann Intern Med*, **128**, 896-899.
- Boehm U., Klamp T., Groot M., Howard J.C. (1997). Cellular responses to interferon- γ . *Annu Rev Immunol*, **15**, 749-795.
- Bogunia-Kubik K., Mazur G., Urbanowicz I., Wrobel T., Kuliczowski K., Wozniak M., Lange A. (2005). Lack of association between the TNF- α promoter gene polymorphism and susceptibility to B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *J Immunogen*, **33**, 21-24.

- Borresen A.L., Andersen T.I., Garber J., Barbier-Piroux N., Thorlacius S., Eyfjord J., Ottestad L., Smith-Sorensen B., Hovig E., Malkin D., Friend S.H. (1992). Screening for germ line TP53 mutations in breast cancer patients. *Cancer Res*, **52**, 3234–3236.
- Bouma G., Crusius J.B.A., Pool M.O., Kolkman J.J., Von Blomber B.M.E., Kostense P.J., Giphart M.J., Schreuder G.M.T., Meuwissen S.G.M., Pena A.S. (1996). Secretion of tumor necrosis factor α and lymphotoxin α in relation to polymorphism in the TNF genes and HLA-Dr alleles. Relevance for inflammatory bowel disease. *Scand J Immunol*, **43**, 456-563.
- Boyd N.F., Byng J.W., Jong R.A., Fishell E.K., Little L.E., Miller A.B., Lockwood G.A., Tritchler D.L., Yaffe M.J. (1995). Quantitative classification of mammographic densities and breast cancer risk: results from the Canadian National Breast Screening Study. *J Natl Cancer Inst*, **87**, 670-675.
- Bradbury A.R., Olopade O.I. (2007). Genetic susceptibility to breast cancer. *Rev Endocr Metab Disord*, **8**, 255-267.
- Bravo M.J., de Dios Colmenero J., Alonso A., Caballero A. (2003). Polymorphisms of the interferon gamma and interleukin 10 genes in human brucellosis. *Eur J Immunogenet*, **30**, 433–435.
- Bray F., Sankila R., Ferlay J., Parkin D.M. (2002a). Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 1995. *Eur J Cancer*, **38**, 99-166.
- Bray G.A., Lovejoy J.C., Smith S.R., DeLany J.P., Lefevre M., Hwang D., Ryan D.H., York D.A. (2002b). The influence of different fats and fatty acids on obesity, insulin resistance and inflammation. *J Nutr*, **132**, 2488–2491.
- Bream J.H., Carrington M., O’Toole S., Dean M., Gerrard B., Shin H.D., Kosack D., Modi H., Young H.A., Smith M.W. (2000). Polymorphisms of the human IFNG gene noncoding regions. *Immunogenetics*, **51**, 50–58.
- Brewster A., Helzlsouer K. (2001). Breast cancer epidemiology, prevention, and early detection. *Curr Opin Oncol*, **13**, 420-425.
- Brinton L.A., Hoover R., Haile R. (1995). Mammographic features and breast cancer risk: effects with time, age, and menopause status. *J Natl Cancer Inst*, **87**, 1622-1629.
- Brown E.E., Lan Q., Zheng T., Zhang Y., Wang S.S., Hoar-Zahm S., Chanock S.J., Rothman N., Baris D. (2007). Common variants in genes that mediate immunity and risk of multiple myeloma. *Int J Cancer*, **120(12)**, 2715-2722.
- Browning J.L., Ngam-ek A., Lawton P., DeMarinis J., Tizard R., Chow E.P., Hession C., O’Brine-Greco B., Foley S.F., Ware C.F. (1993). Lymphotoxin beta, a novel

- member of the TNF family that forms a heteromeric complex with lymphotoxin on the cell surface. *Cell*, **72**, 847–856.
- Browning J.L., Douglas I., Ngam-ek A., Bourdon P.R., Ehrenfels B.N., Miatkowski K., Zafari M., Yampaglia A.M., Lawton P., Meier W., Benjamin C.P., Hession C. (1995). Characterization of surface lymphotoxin forms. *J Immunol*, **154**, 33-46.
- Cabrera M., Shaw M.A., Sharples C., Williams H., Castes M., Convit J., Blackwell J.M. (1995). Polymorphism in tumor necrosis factor gene associated with mucocutaneous leishmaniasis. *J Exp Med*, **182**, 1259-1264.
- Carroll M.C., Katzman P., Alicot E.M., Koller B.H., Geraghty D.E., Orr H.T., Strominger J.L., Spies T. (1987). Linkage map of the human major histocompatibility complex including the tumor necrosis factor genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, **84(23)**, 8535-8539.
- Carswell E.A., Old L.J., Kassel R.L., Green S., Fiore N., Williamson B. (1975). An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci*, **72(9)**, 3666-3670.
- Chan F.K-M., Siegel R.M., Lenardo M.J. (2000). Signaling by the TNF receptor superfamily and T cell homeostasis. *Immunity*, **13**, 419-422.
- Chakravarti A. (1998). It's raining SNPs, hallelujah? *Nat Genet*, **19**, 216-217.
- CHEK2 Breast Cancer Case-Control Consortium. (2004). CHEK2*1100delC and susceptibility to breast cancer: a collaborative analysis involving 10,860 breast cancer cases and 9,065 controls from 10 studies. *Am J Hum Genet*, **74**, 1175-1182.
- Chen G., Wilson R., Wang S.H., Zheng H.Z., Walker J.J., McKillop J.H. (1996). Tumor necrosis factor alpha (TNF- α) gene polymorphism and expression in pre-eclampsia. *Clin Exp Immunol*, **104**, 154-159.
- Chie W.C., Hsieh C., Newcomb P.A., Longnecker M.P., Mittendorf R., Greenberg E.R., Clapp R.W., Burke K.P., Titus-Ernstoff L., Trentham-Dietz A., MacMahon B. (2000). Age of any full-term pregnancy and breast cancer risk. *Am J Epidemiol*, **151**, 715-722.
- Chrivia J.C., Wedrychowicz T., Young H.A., Hardy K.J. (1990). A model of human cytokine regulation based on transfection of gamma interferon gene fragments directly into isolated peripheral blood T lymphocytes. *J Exp Med*, **172**, 661–664.
- Chong W.P., Ip W.K., Tso G.H., Ng M.W., Wong W.H., Law H.K., Yung R.W., Chow E.Y., Au K.L., Chan E.Y., Lim W., Peiris J.S., Lau Y.L. (2006). The interferon gamma gene polymorphism +874 A/T is associated with severe acute respiratory syndrome. *BMC Infect Dis*, **6**, 82-85.

- Chouchane L., Ahmed S.B., Baccouche S., Remadi S. (1997). Polymorphism in the tumor necrosis factor- α promoter region and in the heat shock protein 70 genes associated with malignant tumors. *Cancer*, **80**, 1489-1496.
- Ciccarone V.C., Chrivia J., Hardy K.J., Young H.A. (1990). Identification of enhancer-like elements in human IFN-gamma genomic DNA. *J Immunol*, **144**, 725-730.
- Cifaldi L., Quaglino E., Di Carlo E., Musiani P., Spadora M., Lollini P.L. Wolf S., Boggio K., Forni G., Cavallo F. (2001). A light, nontoxic interleukin 12 protocol inhibits HER-2/neu mammary carcinogenesis in BALB/c transgenic mice with established hyperplasia. *Cancer Res*, **61**, 2809-2812.
- Cohen P.R., Kohn S.R., Kurzrock R. (1991). Association of sebaceous gland tumors and internal malignancy: the Muir-Torre syndrome. *Am J Med*, **90**, 606-613.
- Colakogullari M., Ulukaya E., Oral A.Y., Aymak F., Basturk B., Ursavas A., Oral H.B. (2008). The involvement of IL-10, IL-6, IFN- γ , TNF- α and TGF- β gene polymorphisms among Turkish lung cancer patients. *Cell Biochem Funct*, **26**, 283-290.
- Colditz G.A., Willett W.C., Hunter D.J., Stampfer M.J., Manson J.E., Hennekens C.H., Rosner B.A. (1993). Family history, age, and risk of breast cancer. Prospective data from the Nurses' Health Study. *JAMA*, **270**, 338-343.
- Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. (1996). Breast cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data on 53,297 women with breast cancer and 100,239 women without breast cancer from 54 epidemiological studies. *Lancet*, **347**, 1713-1727.
- Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. (1997). Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52,705 women with breast cancer and 108,411 women without breast cancer. *Lancet*, **350**, 1047-1059.
- Collins F.S., Guyer M.S., Charkravarti A. (1997). Variations on a theme: cataloging human DNA sequence variation. *Science*, **278**, 1580-1581.
- Couch F.J., Weber B.L. (1996). Mutations and polymorphisms in the familial earlyonset breast cancer (BRCA1) gene. Breast Cancer Information Core. *Hum Mutat*, **8**, 8-18.
- Couch F.J., DeShano M.L., Blackwood M.A., Calzone K., Stopher J., Campeau L., Ganguly A., Rebbeck T., Weber B.L. (1997). BRCA1 mutations in women attending clinics that evaluate the risk of breast cancer. *N Engl J Med*, **336**, 1409-1415.

- Crowe P.D., VanArsdale T.L., Walter B.N., Ware C.F., Hession C., Ehrenfels B., Browning J.L., Din W.S., Goodwin R.G., Smith C.A. (1994). A lymphotoxin-beta specific receptor. *Science*, **264**, 707-710.
- Cuenca J., Perez C.A., Aguirre A.J., Schiattino I., Aguillon J.C. (2001). Genetic polymorphism at position -308 in the promoter region of the tumor necrosis factor (TNF): Implications of its allelic distribution on susceptibility or resistance to diseases in the Chilean population. *Biol Res*, **34**, 3-4.
- Daher S., Shulzhenko N., Morgun A., Mattar R., Rampim G.F., Camano L., DeLima M.G. (2003). Associations between cytokine gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss. *J Reprod Immunol*, **58**, 69-77.
- Damin A.P.S., Frazzon A.P.G., Damin D.C., Roehe A., Hermes V., Zettler C., Alexandre C.O.P. (2006). Evidence for an association of TP53 codon 72 polymorphism with breast cancer risk. *Cancer Detect Prev*, **30**, 523-529
- Danforth K.N., Rodriguez C., Hayes R.B., Sakoda L.C., Huang W-Y., Yu K., Calle E.E., Jacobs E.J., Chen B.E., Andriole G.L., Figueroa J.D., Yeager M., Platz E.A., Michaud D.S., Chanock S.J., Thun M.J., Hsing A.W. (2008). TNF polymorphisms and prostate cancer risk. *The Prostate*, **68**, 400-407.
- Davies F.E., Rollinson S.J., Rawstron A.C., Roman E., Richards S., Drayson M., Child J.A., Morgan G.J. (2000). High-producer haplotypes of tumor necrosis factor alpha and lymphotoxin alpha are associated with an increased risk of myeloma and have an improved progression-free survival after treatment. *J Clin Oncol*, **18**, 2843-2851.
- Dawkins R.L., Leaver A., Cameron P.U., Martin E., Kay P.H., Christiansen F.T. (1989). Some disease-associated ancestral haplotypes carry a polymorphism of TNF. *Hum Immunol*, **26**, 91-97.
- de Jong M.M., Nolte I.M., te Meerman G.J., van der Graaf W.T., Oosterwijk J.C., Kleinbenker J.H., Schaapveld M., de Vries E.G. (2002). Genes other than BRCA1 ve BRCA2 involved in breast cancer susceptibility. *J Med Genet*, **39**, 225-242.
- de Jong M.M., Nolte I.M., de Vries E.G., Schaapveld M., Kleibeuker J.H., Oosterom E., Oosterwijk J.C., van der Hout A.H., van der Steege G., Bruinenberg M., Boezen H.M., Te Meerman G.J., van der Graaf W.T. (2003). The HLA class III subregion is responsible for an increased breast cancer risk. *Hum Mol Genet*, **12**, 2311-2319.
- de Kossodo S., Moore R., Gschmeissner S., East N., Upton C., Balkwill F.R. (1995). Changes in the endogenous cytokines, adhesion molecules and platelets during cytokine-induced tumor necrosis. *Br J Cancer*, **72**, 1165-1172.
- DeLeo A.B., Jay G., Appella E., Dubois G.C., Law L.W., Old L.J. (1979). Detection of tranformation-related antigen in chemically induced sarcomas and other transformed cells of the mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **76**, 2420-2424.

- Demeter J., Porzolt F., Ramisch S., Schmidt D., Schmid M., Messer G. (1997). Polymorphism of tumour necrosis factor-alpha and lymphotoxin-alpha genes in chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol*, **97**, 107-112.
- Don Haeng L. ve Ki-Baik H. (2008). Inflammatory cytokine gene polymorphisms and gastric cancer. *J Gastroenterol Hepatol*, **22**, 1465-1472.
- Duarte I., Santos A., Sousa H., Catarino R., Pinto D., Matos A., Pereira D., Moutinho J., Canedo P., Machado J.C., Medeiros R. (2005). G-308A TNF-alpha polymorphism is associated with an increased risk of invasive cervical cancer. *Biochem Biophys Res Commun*, **334**, 588-592.
- Dumitrescu R.G., Cotarla I. (2005). Understanding breast cancer risk-where do we stand in 2005? *J Cell Mol Med*, **9**, 208-221.
- Dunning A.M., Healey C.S., Pharoah P.D., Teare M.D., Ponder B.A., Easton D.F. (1999). A systematic review of genetic polymorphisms and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **8**, 843-854.
- Easton D., Ford D., Peto J. (1993a). Inherited susceptibility to breast cancer. *Cancer Surv*, **18**, 95-113.
- Easton D.F., Bishop D.T., Ford D., Crockford G.P. (1993b). Genetic linkage analysis in familial breast and ovarian cancer: results from 214 families. The Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet*, **52**, 678-701.
- Easton D.F., Ford D., Bishop D.T. (1995). Breast and ovarian cancer incidence in BRCA1-mutation carriers. Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet*, **56**, 265-271.
- Easton D.F., Steele L., Fields P., Ormiston W., Averill D., Daly P.A., McManus R., Neuhausen S.L., Ford D., Wooster R., Cannon-Albright L.A., Stratton M.R., Goldgar D.E. (1997). Cancer risks in two large breast cancer families linked to BRCA2 on chromosome 13q12-13. *Am J Hum Genet*, **61**, 120-128.
- Eck M.J., Ultsch M., Rinderknecht E., de Vos A.M., Sprang S.R. (1992). The structure of human lymphotoxin (tumor necrosis factor beta) at 1.9-Å resolution. *J Biol Chem*, **267**, 2119-2122.
- El-Omar E.M., Carrington M., Chow W.H., McColl K.E., Bream J.H., Young H.A., Herrera J., Lissowska J., Yuan C.C., Rothman N., Lanyon G., Martin M., Fraumeni J.F.Jr., Rabkin C.S. (2000). Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature*, **404**, 398-402.
- El Omar E.M., Rabkin C.S., Gammon M.D., Vaughan T.L., Risch H.A., Schoenberg J.B., Stanford J.L., Mayne S.T., Goedert J., Blot W.J., Fraumeni Jr J.F., Chow W.H. (2003). Increased risk of noncardia gastric cancer associated with

- proinflammatory cytokine gene polymorphisms. *Gastroenterology*, **124**, 1193–1201.
- Elahi M.M., Matata B.M. (2005). Genetic diversity of tumor necrosis factor: Implications on cardiovascular complications of polymorphisms at position -308 in promoter region. *The Cardiology*, **1(3)**, 179-188.
- Falkenberry S.S., Legare R.D. (2002). Risk factors for breast cancer. *Obstet Gynecol Clin North Am*, **29(1)**, 159-172.
- Farrar M.A. Schreiber R.D. (1993). The molecular cell biology of interferon- γ and its receptor. *Annu Rev Immunol*, **11**, 571–611.
- Feilotter H.E., Coulon V., McVeigh J.L., Boag A.H., Dorion-Bonnet F., Duboué B., Latham W.C., Eng C., Mulligan L.M., Longy M. (1999). Analysis of the 10q23 chromosomal region and the PTEN gene in human sporadic breast carcinoma. *Br J Cancer*, **79**, 718-723.
- Ferencik S., Lindemann M., Horsthemke B., Grosse-Wilde H. (1992). A new restriction fragment length polymorphism of the human TNF-B gene detected by AspHI digest. *Eur J Immunogenet*, **19**, 425–430.
- Ferhat K., Hassen E., Gabbouj S., Bouaouina N., Chouchane L. (2008) Interleukin-10 and interferon-gamma gene polymorphisms in patients with nasopharyngeal carcinoma. *Int J Immunogenet*, **35**, 197-205.
- Fernandes H., Koneru B., Fernandes N., Hameed M., Cohen M.C., Raveche E., Cohen S. (2002). Investigation of promoter polymorphisms in the tumor necrosis factor- α and interleukin-10 genes in liver transplant patients. *Transplantation*, **73**, 1886–1891.
- Ferraroni M., Decarli A., Franceschi S., La Vecchia C. (1998). Alcohol consumption and risk of breast cancer: a multicenter Italian case-control study. *Eur J Cancer*, **34**, 1403-1409.
- Ford D., Easton D.F., Stratton M., Narod S., Goldgar D., Devilee P., Bishop D.T., Weber B., Lenoir G., Chang-Claude J., Sobol H., Teare M.D. et al. (1998). Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. The Breast Cancer Linkage Consortium, *Am J Hum Genet*, **62**, 676-689.
- Frank B., Hemminki K., Wirtenberger M., Bermejo J.L., Bugert P., Klaes R., Schmutzler R.K., Wappenschmidt B., Bartram C.R., Burwinkel B. (2005). The rare ERBB2 variant Ile654Val is associated with an increased familial breast cancer risk. *Carcinogenesis*, **26**, 643–647.

- Futreal P.A., Liu Q., Shattuck-Eidens D., Cochran C., Harshman K., Tavtigian S., Bennett L.M., Haugen-Strano A., Swensen J., Miki Y. ve ark. (1994). BRCA1 mutations in primary breast and ovarian carcinomas. *Science*, **266**, 120-122.
- Gadducci A., Ferdeghini M., Castellani C., Annicchiarico C., Galletti O., Prontera C., Bianchi R., Facchini V. (1995). Serum levels of tumor necrosis factor (TNF), soluble receptors for TNF (55-and 75 kDa sTNFr), and soluble CD14 (sCD14) in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol*, **58**, 184-188.
- Gandini S., Merzenich H., Robertson C., Boyle P. (2000). Meta-analysis of studies on breast cancer risk and diet: the role of fruit and vegetable consumption and the intake of associated micronutrients. *Eur J Cancer*, **36**, 636-646.
- Garber J.E., Goldstein A.M., Kantor A.F., Dreyfus M.G., Fraumeni J.F., Li F.P. (1991). Follow-up study of twentyfour families with Li-Fraumeni syndrome. *Cancer Res*, **51**, 6094-6097.
- Garcia-Closas M., Hankinson S.F., Ho S., Malins D.C., Polissar N.L., Schaefer S.N., Su Y., Vinson M.A. (2000). Factors critical to the design and execution of epidemiologic studies and description of an innovative technology to follow the progression from normal to tumor tissue. *J Natl Cancer Inst Monogr*, **27**, 147-156.
- Garcia-Gonzalez M.A., Lanas A., Quintero E., Nicolas D., Parra-Blanco A., Strunk M., Benito R., Angel Simon M., Santolaria S., Sopena F., Piazuelo E., Jiménez P., ve ark.; Spanish Gastroenterological Association AEG. (2007). Gastric cancer susceptibility is not linked to pro- and anti-inflammatory cytokine gene polymorphisms in whites: a nationwide multicenter study in Spain. *Am J Gastroenterol*, **102**, 1878-1892.
- Gaudet M.M., Egan K.M., Lissowska J., Newcomb P.A., Brinton L.A., Titus-Ernstoff L., Yeager M., Chanock S., Welch R., Peplonska B., Trentham-Dietz A., Garcia-Closas M. (2007). Genetic variation in tumor necrosis factor and lymphotoxin- α (TNF-LTA) and breast cancer risk. *Hum Genet*, **121**, 483-490.
- Gibbs J.B. (2000). Mechanism-based target identification and drug discovery in cancer research. *Science*, **287**, 1969-1973.
- Giordani I, Brazzi P., Lasalandra C., Quaranta M., Schittulli E., Della Ragione E., Iolascon A. (2003). Polymorphisms of interleukin-10 and tumor necrosis factor- α gene promoter and breast cancer risk. *Clin Chem*, **49**, 1664-1667.
- Gollob J.A., Mier J.W., Veenstra K., Mc Dermott D.F., Clancy D., Clancy M., Atkins M.B. (2000). Phase I trial of twice-weekly intravenous interleukin 12 in patients with metastatic renal cell cancer or malignant melanoma: ability to maintain IFN- γ induction is associated with clinical response. *Clin Cancer Res*, **6**, 1678-1692.

- Gonullu G., Basturk B., Evrensel T., Oral B., Gozkaman A., Manavoglu O. (2007). Association of breast cancer and cytokine gene polymorphism in Turkish women. *Saudi Med J*, **28(11)**, 1728-1733.
- González S., Rodrigo L., Martínez-Borra J., López-Vázquez A., Fuentes D., Nino P., Cadahía V., Saro C., Dieguez M.A., López-Larrea C. (2003). TNF- α -308A promoter polymorphism is associated with enhanced TNF- α production and inflammatory activity in Crohn's patients with fistulizing disease. *Am J Gastroenterol*, **98**, 1101-1106.
- Gough D.J., Levy D.E., Johnstone R.W., Clarke C.J. (2008). IFN γ signaling-Does it mean JAK-STAT? *Cytokine Growth Factor Rev*, **19(5-6)**, 383-394.
- Govan V.A., Carrara H.R.O., Sachs J.A., Hoffman M., Stanczuk G.A., Williamson A-L. (2003). Ethnic differences in allelic distribution of IFN- γ in South African women but no link with cervical cancer. *J Carcinogen*, **2**, 3-10.
- Govan V.A., Constant D., Hoffman M., Williamson A. (2006). The allelic distribution of -308 Tumor Necrosis Factor- α gene polymorphism in South African women with cervical cancer and control women. *BMC Cancer*, **6**, 24-29.
- Gray P.W., Goeddel D.V. (1982). Structure of the human immune interferon gene. *Nature*, **298(5877)**, 859-863.
- Gross R.E. (2000). Breast cancer: Risk factors, Screening and Prevention. *Semin Oncol Nurs*, **16(3)**, 176-184.
- Gunter M.J., Canzian F., Landi S., Chanock S.J., Sinha R., Rothman N. (2006). Inflammation-related gene polymorphisms and colorectal adenoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **15(6)**, 1126-1131.
- Guo W., Wang N., Li Y., Zhang J.H. (2005). Polymorphisms in tumor necrosis factor genes and susceptibility to esophageal squamous cell carcinoma and gastric cardiac adenocarcinoma in a population of high incidence region of North China. *Chin Med J (Engl)*, **118**, 1870-1878.
- Hagihara M, Shimura T, Sato K, Genga K, Suzuki M, Tsuji K. (1995). HLA and tumor necrosis factor beta gene polymorphisms in Okinawa lung cancer patients: comparative study with mainland Japan lung cancer patients. *Hum Immunol*, **43(2)**, 95-100.
- Hall J.M., Lee M.K., Newman B., Morrow J.E., Anderson L.A., Huey B., King M.C. (1990). Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21. *Science*, **250**, 1684-9.
- Haukim N., Bidwell J.L., Smith A.J.P., Keen L.J., Gallagher G., Kimberly R. Huizinga T., McDermott M.F., Oksenberg J., McNicholl J., Pociot F., Hardt C., D'Alfonso S.

- (2002). Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases, Supplement 2. *Genes Immun*, **3(6)**, 313-330.
- He Y-F., Wang X-H., Zhang G-M., Chen H-T., Zhang H., Feng Z-H. (2005). Sustained low-level expression of interferon- γ promotes tumor development: potential insights in tumor prevention and tumor immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother*, **54**, 891-897.
- Heesen M., Kunz D., Bachmann-Mennenga B., Merk H.F., Bloemeke B. (2003). Linkage disequilibrium between tumor necrosis factor (TNF)-alpha_308 G/A promoter and TNF-beta NcoI polymorphisms: association with TNF- alpha response of granulocytes to endotoxin stimulation. *Crit Care Med*, **31**, 211-214.
- Herrington D.M. (2003). Role of estrogen receptor- α in pharmacogenetics of estrogen action. *Curr Opin Lipidol*, **14**, 145-150.
- Ho S.Y., Wang Y.J., Chen H.L., Chen C.H., Chang C.J., Wang P.J., Chen H.H., Guo H.R. (2004). Increased risk of developing hepatocellular carcinoma associated with carriage of the TNF2 allele of the -308 tumor necrosis factor- α promoter gene. *Cancer Causes Control*, **15**, 657-663.
- Ho S.Y., Wang Y.J., Huang P.C., Tsai S.T., Chen C.H., Chen H.H.W., Chang C.J., Guo H.R. (2006). Evaluation of the associations between the single nucleotide polymorphisms of the promoter region of the tumor necrosis factor- α gene and nasopharyngeal carcinoma. *J Chin Med Assoc*, **69(8)**, 351-357.
- Hoffmann S.C., Stanley E.M., Cox E.D., Di Mercurio B.S., Koziol D.E., Harlan D.M., Kirk A.D., Blair P.J. (2002). Ethnicity greatly influences cytokine gene polymorphism distribution. *Am J Transplant*, **2(6)**, 560-567.
- Hohler T., Kruger A., Gerken G., Schneider P.M., Meyer zum Buschenefelde K.H., Rittner C. (1998). A tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) promoter polymorphism is associated with chronic hepatitis B infection. *Clin Exp Immunol*, **111(3)**, 579-582.
- Hollegaard M.V., Bidwell J.L. (2006). Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases, Supplement 3. *Genes Immun*, **7(4)**, 269-276.
- Holmes C.L., Russell J.A., Walley K.R. (2003). Genetic polymorphisms in sepsis and septic shock: role in prognosis and potential for therapy. *Chest*, **124(3)**, 1103-1115.
- Hou L., El Omar E.M., Chen J., Grillo P., Rabkin C.S., Baccarelli A., Yeager M., Chanock S.J., Zatonski W., Sobin L.H., Lissowska J., Fraumeni Jr J.F., Chow W.H. (2007). Polymorphisms in Th1-type cell-mediated response genes and risk of gastric cancer. *Carcinogenesis*, **28**, 118-123.
- Houlston R.S. ve Tomlinson L.P. (2000). Detecting low penetrance genes in cancer: the way ahead. *J Med Genet*, **37**, 161-167.

- Howell W.M., Turner S.J., Collins A., Bateman A.C., Theaker J.M. (2002). Influence of TNF α and LT α single nucleotide polymorphisms on susceptibility to and prognosis in cutaneous malignant melanoma in British population. *Eur J Immunogenetics*, **29**, 17-23.
- Howell W.M. ve Rose-Zerilli M.J. (2007). Cytokine polymorphisms, cancer susceptibility and prognosis. *J Nutr*, **137**, 194-199.
- Huang W.Y., Newman B., Millikan R.C., Schell M.J., Hulka B.S., Moorman P.G. (2000). Hormone-related factors and risk of breast cancer in relation to estrogen receptor and progesterone receptor status. *Am J Epidemiol*, **151**, 703-714.
- Hulka B.S. ve Moorman P.G. (2001). Breast cancer hormones and other risk factors. *Maturitas*, **38**, 103-113.
- Hunter D.J., Willett W.C. (1993). Diet, body size and breast cancer. *Epidemiol Rev*, **15**, 110-132.
- Ikeda H., Old L.J., Schreiber R.D. (2002). The roles of IFN γ in protection against tumor development and cancer immunoediting. *Cytokine Growth Factor Rev*, **13**, 95-109.
- Inoko H. ve Trowsdale J. (1987). Linkage of TNF genes to the HLA-B lokus. *Nucleic Acids Res*, **15**, 8957-8962.
- Jang W.H., Yang Y.I., Yea S.S., Lee Y.J., Chun J.H., Kim H.I., Kim M.S., Paik K.H. (2001). The -238 tumor necrosis factor-alpha promoter polymorphism is associated with decreased susceptibility to cancers. *Cancer Lett*, **66(1)**, 41-46.
- Javor J., Bucova M., Ferencik S., Grosse-Wilde H., Buc M. (2007). Single nucleotide polymorphisms of cytokine genes in the healthy Slovak population. *Int J Immunogenet*, **34**, 273-280.
- Jemal A., Thomas A., Murray T. Thun M. (2002). Cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin*, **52**, 23-47.
- Jemal A., Siegel R., Ward E., Hao Y., Xu J., Murray T., Thun M.J. (2008) Cancer Statistics, 2008. *CA Cancer J Clin*, **58**, 71-96.
- Jeong P., Kim E.J., Kim E.G., Byun S.S., Kim C.S., Kim W.J. (2004). Association of bladder tumors and GA genotype of -308 nucleotide in tumor necrosis factor-alpha promoter with greater tumor necrosis factor-alpha expression. *Urology*, **64**, 1052-1056.
- Johannesdottir G., Gudmundsson J., Bergthorsson J.T., Arason A., Agnarsson B.A., Eiriksdottir G., Johannsson O.T., Borg A., Ingvarsson S., Easton D.F., Egilsson V., Barkardottir R.B. (1996). High prevalence of the 999del5 mutation in icelandic breast and ovarian cancer patients. *Cancer Res*, **56**, 3663-3665.

- Johnson-Thompson M.C., Guthrie J. (2000). Ongoing research to identify environmental risk factors in breast carcinoma. *Cancer*, **88**, 1224-1229.
- Juszczynski P., Kalinka E., Bienvenu J., Woszczek G., Borowiec M., Robak T., Kowaiski M., Lech-Maranda E., Baseggio L., Coiffier B., Salles G., Warzocha K. (2002). Human leukocyte antigens class II and tumor necrosis factor genetic polymorphisms are independent predictors of non-Hodgkin lymphoma outcome. *Blood*, **100**(8), 3037-3040.
- Kádár K., Kovács M., Karádi I., Melegh B., Pocsai Z., Mikala G., Tordai A., Szilágyi A., Adány R., Füst G., Várkonyi J. (2008). Polymorphisms of TNF-alpha and LT-alpha genes in multiple myeloma. *Leuk Res*, **32**(10), 1499-1504.
- Kamali-Sarvestani E., Merat A., Talei A.R. (2005a). Polymorphism in the genes of alpha and beta tumor necrosis factors (TNF- α and TNF- β) and gamma interferon (IFN- γ) among Iranian women with breast cancer. *Cancer Lett*, **223**(1), 113-119.
- Kamali-Sarvestani E., Gharezi-Fard B., Sarvari J., Talei A.A.R. (2005b). Association of TNF- α and TNF- β gene polymorphisms with steroid receptor expression in breast cancer patients. *Pathol Oncol Res*, **11**(2), 99-102.
- Kamali-Sarvestani E., Rasouli ve ark., M., Mortazavi H., Gharezi-Fard B. (2006). Cytokine gene polymorphisms and susceptibility to cutaneous leishmaniasis in Iranian patients. *Cytokine*, **35**, 159-165.
- Kamangar F., Abnet C.C., Hutchinson A.A., Newschaffer C.J., Helzlsouer K., Shugart Y.Y., Pietinen P., Dawsey S.M., Albanes D., Virtamo J., Taylor P.R. (2006). Polymorphisms in inflammation-related genes and risk of gastric cancer (Finland). *Cancer Causes Control*, **17**, 117-25.
- Karakus N., Kara N., Ulusoy A.N. (2008). Lack of association between Prohibitin 3' untranslated region C→T polymorphism and breast cancer in a Turkish population. *DNA Cell Biol*, **27**(8), 449-452.
- Kawatsu M., Funabashi I., Kajikawa T., Takeo K., Asahi T., Yamashita T., Kawaharada H., Watanabe K. (1990). Synergistic anti-tumor effect of glycosylated recombinant human lymphotoxin with human interferon gamma on lymphotoxin-sensitive human tumor. *J Interferon Res*, **10**, 519-529.
- Kenemans P., Verstraeten R.A., Verheijen R.H.M. (2004). Oncogenic pathways in hereditary and sporadic breast cancer. *Maturitas*, **49**, 34-43.
- Kelsey J.L., Gammon M.D., John E.M. (1993). Reproductive factors and breast cancer. *Epidemiol Rev*, **15**, 36-47.
- Kerr J.R., McCoy M., Burke B., Matthey D.L., Pravica V., Hutchinson I.V. (2003). Cytokine gene polymorphisms associated with symptomatic parvovirus B19 infection. *J Clin Pathol*, **56**, 725-727.

- Kim E.J., Jeong P., Quan C.Y., Kim J., Bae S.C., Yoon S.J., Kang J.W., Lee S.C., Jun Wee J., Kim W.J.(2005). Genotypes of TNF- α , VEGF, hOGG1, GSTM1, and GSTT1: useful determinants for clinical outcome of bladder cancer. *Urology*, **65**, 70–75.
- Kim N., Cho S.I., Yim J.Y., Kim J.M., Lee D.H., Park J.H., Kim J.S., Jung H.C., Song I.S. (2006). The effects of genetic polymorphisms of IL-1 and TNF-A on *Helicobacter pylori*-induced gastroduodenal diseases in Korea. *Helicobacter*, **11**, 105–112.
- Kirchhoff S., Hauser H. (1999). Cooperative activity between HER oncogenes and the tumor suppressor IRF-1 results in apoptosis. *Oncogene*, **18(25)**, 3725-3736.
- Kirkpatrick A. Bidwell J., van der Brule A.J., Meijer C.J., Pawade J., Glew S. (2004). TNF alpha polymorphism frequencies in HPV-associated cervical dysplasia. *Gynecol Oncol*, **92(2)**, 675-679.
- Knight J.C., Udalova I., Hill A.V.S., Greenwood B.M., Peshu N., Marsh K., Kwiatkowski D. (1999). A polymorphism that effects OCT-1 binding to the TNF promoter region is associated with severe malaria. *Nat Genet*, **22**, 145-150.
- Kohaar I., Tiwari P., Kumar R., Nasare V., Thakur N., Das B. C., Bharadwaj M. (2009). Association of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in TNF-LTA locus with breast cancer risk in Indian population. *Breast Cancer Res Treat*, **114**, 347-355.
- Kordi Tamandani M.K., Sobti R.C., Shekari M., Mukesh M., Suri V. (2008). Expression and polymorphism of IFN- γ gene in patients with cervical cancer. *Exp Oncol*, **30(3)**, 224-229.
- Kotnis A., Sarin R., Mulherkar R. (2005). Genotype, phenotype and cancer: Role of low penetrance genes and environment in tumour susceptibility. *J Biosci*, **30**, 93-102.
- Kroeger K.M. ve Abraham L.J. (1996). Identification of an AP-2 element in the -323 to -285 region of the TNF-alpha gene. *Biochem Mol Biol Int*, **40**: 43-51.
- Kroeger K.M., Carville K.S., Abraham L.J. (1997). The -308 tumor necrosis factor-alpha promoter polymorphism effects transcription. *Mol Immunol*, **34(5)**, 391-399.
- Kubo M., Hanada T., Yoshimura A. (2003). Suppressors of cytokine signaling and immunity. *Nat Immunol*, **4**, 1169-1176.
- Lancaster J.M., Wooster R., Mangion J., Phelan C.M., Cochran C., Gumbs C., Seal S., Barfoot R., Collins N., Bignell G., Patel S., Hamoudi R., Larsson C., Wiseman R.W., Berchuck A., Iglehart J.D., Marks J.R., Ashworth A., Stratton M.R., Futreal P.A. (1996). BRCA2 mutations in primary breast and ovarian cancers. *Nat Genet*, **13**, 238-240.

- Lee I.M. (1999). Antioxidant vitamins in the prevention of cancer. *Proc Assoc Am Phys*, **111**, 10-15.
- Lee S-G., Kim B., Yook J-H., Oh S-T., Le I.L., Song K. (2004). TNF/LTA polymorphisms and risk for gastric cancer/duodenal ulcer in the Korean population. *Cytokine*, **28**, 75-82.
- Lee J.Y., Kim H.Y., Kim K.H., Kim S.M., Jang M.K., Park J.Y., Lee J.H., Kim J.H., Yoo J.Y. (2005a). Association of polymorphism of IL-10 and TNF-A genes with gastric cancer in Korea. *Cancer Lett*, **225**, 207-214.
- Lee K-M., Park S.K., Hamajima N., Tajima K., Yoo K-Y., Shin A., Noh D-Y., Ahn S-H., Hirvonen A., Kang D. (2005b). Genetic polymorphisms of TGF- β 1 and TNF- β and breast cancer risk. *Breast Cancer Res Treat*, **90**, 149-155.
- Leek R.D., Landers R., Fox S.B., Ng F., Harris A.L., Lewis C.E. (1998). Association of tumor necrosis factor alpha and its receptors with thymidine phosphorylase expression in invasive breast carcinoma. *Br J Cancer*, **77**, 2246-2251.
- Lejeune F.J., Ruegg C., Lienard D. (1998). Clinical applications of TNF-a in cancer. *Curr Opin Immunol*, **10**, 573-580.
- Lester J. (2007). Breast cancer in 2007: Incidence, risk assessment and risk reduction strategies. *Clin J Oncology Nursing*, **11(5)**, 619-622.
- Li D.H., Havell E.A., Brown C.L., Cullen J.M. (2000). Woodchuck lymphotoxin- α , - β and tumor necrosis factor genes: structure, characterization and biological activity. *Gene*, **242**, 295-305.
- Li W.H., Gu Z., Wang H., Nekrutenko A. (2001). Evolutionary analyses of the human genome. *Nature*, **409**, 847-849.
- Lichtenstein P., Holm N.V., Verkasalo P.K., Iliadou A., Kaprio J., Koskenvuo M., Pukkala E., Skytthe A., Hemminki K. (2000). Environmental and heritable factors in the causation of cancer-analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. *N Eng J Med*, **343**, 78-85.
- Lio D., Marino V., Scrauto A., Gioia V., Scola L., Crivello A., Forte G.I., Colonna-Romano G., Candore G., Caruso C. (2002). Genotype frequencies of the +874 T-A single nucleotide polymorphism in the first intron of the interferon- γ gene in a sample of Sicilian patients affected by tuberculosis. *Eur J Immunogenet*, **29**, 371-374.
- Lipworth L., Bailey L.R., Trichopoulos D. (2000). History of breast-feeding in relation to breast cancer risk: a review of the epidemiologic literature. *J Natl Cancer Inst*, **92**, 302-312.

- Liu C.J., Wong Y.K., Chang K.W., Chang H.C., Liu H.F., Lee Y.J. (2005). Tumor necrosis factor- α promoter polymorphism is associated with susceptibility to oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med*, **34**, 608-612.
- Liu M., Cao B., Zhang H., Dai Y., Liu X., Xu C. (2006). Association of interferon-gamma gen haplotype in the Chinese population with hepatitis B virus infection. *Immunogenetics*, **58**, 859-864.
- Locksley R.M., Killeen N., Lenardo M.J. (2001). The TNF and TNF receptor superfamilies: Integrating mammalian biology. *Cell*, **104**, 487-501.
- Lopez-Maderuelo D., Arnalich F., Serantes R., González A., Codoceo R., Madero R., Vázquez J.J., Montiel C. (2003). Interferon-gamma and interleukin-10 gene polymorphisms in pulmonary tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*, **167**, 970–975.
- Louis E., Franchimont D., Piron A., Gevaert Y., Schaaf-Lafontaine N., Roland S., Mahieu P., Malaise M., De Groote D., Louis R., Belaiche J. (1998). Tumour Necrosis Factor (TNF) gene polymorphism influences TNF- α production in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated whole blood cell culture in healthy humans. *Clin Exp Immunol*, **113**, 401-406.
- Lu W., Pan K., Zhang L., Lin D., Miao X., You W. (2005). Genetic polymorphisms of interleukin (IL)-1B, IL-1RN, IL-8, IL-10 and tumor necrosis factor { α } and risk of gastric cancer in a Chinese population. *Carcinogenesis*, **26**, 631–636.
- Machado J.C., Figueiredo C., Canedo P., Pharoah P., Carvalho R., Nabais S., Castro A.C., Campos M.L., Van Doorn L.J., Caldas C., Seruca R., Carneiro F., Sobrinho-Simoes M. (2003). A proinflammatory genetic profile increases the risk for chronic atrophic gastritis and gastric carcinoma. *Gastroenterology*, **125**, 364–371.
- Malkin D. (1994). Germline p53 mutations and heritable cancer. *Ann Rev Genet*, **28**, 443-465.
- Marsh H.P., Haldar N.A., Bunce M., Marshall S.E., le Monier K., Winsey S.L., Christodoulos K., Cranston D., Welsh K.I., Harris A.L. (2003). Polymorphisms in the tumor necrosis factor (TNF) are associated with risk of bladder cancer and grade of tumour at presentation. *Br J Cancer*, **89**, 1096–1101.
- Martin A.M., Athanasiadis G., Greshock J.D., Fisher J., Lux M.P., Calzone K., Rebbeck T.R., Weber B.L. (2003). Population frequencies of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in immuno-modulatory genes. *Hum Hered*, **56**, 171-178.
- McBride O.W., Merry D., Givol D. (1986). The gene for human p53 cellular tumor antigen is located on chromosome 17 short arm (17p13). *Proc Natl Acad Sci U S A*, **83**, 130-134.

- McCarron S.L., Edwards S., Evans P.R., Gibbs R., Dearnaley D.P., Dowe A., Southgate C., Easton D.F., Eeles R.A., Howell W.M. (2002). Influence of cytokine gene polymorphisms on the development of prostate cancer. *Cancer Res*, **62**, 3369–3372.
- McGillavry M.R., Prins M. (2003). Oral contraceptives and inherited thrombophilia: a gene-environment interaction with a risk of venous thrombosis? *Semin Thromb Hemost*, **29**, 219-226.
- McGuire W., Hill A.V., Allsopp C.E., Greenwood B.M., Kwiatkowski D. (1994). Variation in the TNF-alpha promoter region associated with susceptibility to cerebral malaria. *Nature*, **371**, 508-510.
- McKeown N. (1999). Antioxidants and breast cancer. *Nutr Rev*, **57**, 321-324.
- McPherson K., Steel C.M., Dixon J.M. (2000). ABC of breast diseases. Breast cancer-epidemiology, risk factors, and genetics. *BMJ*, **321**, 624-628.
- Mehrian-Shai R., Reichardt J.K. (2004). A renaissance of “biochemical genetics”? SNPs, haplotypes, function and complex diseases. *Mol Genet Metab*, **83**, 47-50.
- Meijers-Heijboer H., van der O.A., Klijn J., Wasielewski M., de S.A., Oldenburg R., Hollestelle A., Houben M., Crepin E., van Veghel-Plandsoen M., Elstrodt F., van D.C., et al. (2002). Low penetrance susceptibility to breast cancer due to CHEK2(*)1100delC in noncarriers of BRCA1 or BRCA2 mutations. *Nat Genet*, **31**, 55-59.
- Messer G., Spangler U., Jung M.C., Honold G., Blomer K., Pape G.R., Riethmuller G., Weiss E.H. (1991). Polymorphic structure of the tumor necrosis factor (TNF) locus: an NcoI polymorphism in the first intron of the human TNF-beta gene correlates with a variant amino acid in position 26 and a reduced level of TNF-beta production. *J Exp Med*, **173**, 209-219.
- Mestiri S., Bouaouina N., Ahmed S.B., Khedhaier A., Jrad B.B., Remadi S., Chouchane L. (2001). Genetic variation in the tumor necrosis factor- α promoter region and in the stress protein hsp70-2: susceptibility and prognostic implications in breast carcinoma. *Cancer*, **91**, 672-8
- Miki Y., Swensen J., Shattuck-Eidens D., Futreal P.A., Harshman K., Tavtigian S., Liu Q., Cochran C., Bennett L.M., Ding W. (1994). A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science*, **266**, 66-71.
- Miller C., Mohandas T., Wolf D., Prokocimer M., Rotter V., Koeffler H.P. (1986). Human p53 gene localized to short arm of chromosome 17. *Nature*, **319**, 783-784.
- Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*, **16**, 1215.

- Mira J-P., Cariou A., Grall F., Delclaux C., Losser M.R., Heshmati F., Cheval C., Monchi M., Teboul J.L., Riche F., Leleu G., Arbibe L., Mignon A., Delpech M., Dhainaut J.F. (1999). Association of TNF2, a TNF-alpha promoter polymorphism, with septic shock susceptibility and mortality. *JAMA*, **282**, 561-568.
- Mitrunen K., Hirvonen A. (2003). Molecular epidemiology of sporadic breast cancer. The roles of polymorphic genes involved in oestrogen biosynthesis and metabolism. *Mutation Res*, **544(1)**, 9-41.
- Moffatt M.F., Cookson W.O. (1997). Tumour necrosis factor haplotypes and asthma. *Hum Mol Genet*, **6**, 551-554.
- Moore R.J., Owens D.M., Stamp G., Arnott C., Burke F., East N., Holdsworth H., Turner L., Rollins B., Pasparakis M., Kollias G., Balkwill F. (1999). Mice deficient in tumor necrosis factor-alpha are resistant to skin carcinogenesis. *Nat Med*, **5**, 828-31.
- Morgan G.J., Adamson P.J., Mensah F.K., Spink C.F., Law G.R., Keen L.J., Roman E., Davies F.E., Rollinson S., Child J.A., Bidwell J.L. (2005). Haplotypes in the tumour necrosis factor region and myeloma. *Br J Haematol*, **129**, 358-365.
- Mugnier B., Balandraud N., Darque A., Roudier C., Roudier J., Reviron, D. (2003). Polymorphism at position -308 of the tumor necrosis factor alpha gene influences outcome of infliximab therapy in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, **48**, 1849-1852.
- Myers M.P., Stolarov J.P., Eng C., Li J., Wang S.I., Wigler M.H., Parsons R., Tonks N.K. (1997). P-TEN, the tumor suppressor from human chromosome 10q23, is a dualspecificity phosphatase. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **94**, 9052-9057.
- Nadel S., Newport M.J., Booy R., Levin M. (1996). Variation in the tumor necrosis factor-alpha gene promoter region may be associated with death from meningococcal disease. *J Infect Dis*, **174**, 878-880.
- Narachi M.A., Davis J.M., Hsu Y.R., Arakawa T. (1987). Role of single disulfide in recombinant human tumor necrosis factor-alpha. *J Biol Chem*, **262**, 13107-13110.
- Narod S.A., Ford D., Devilee P., Barkardottir R.B., Lynch H.T., Smith S.A., Ponder B.A.J., Weber B.L., Garber J.E., Birch J.M., Cornelis R.S., Kelsell D.P., ve ark.; the Breast Cancer Linkage Consortium. (1995). An evaluation of genetic heterogeneity in 145 breast-ovarian cancer families. Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet*, **56**, 254-64.
- Nathanson K. ve Weber B.L. (2001). "Other" breast cancer susceptibility genes: searching for more holy grail. *Hum Mol Genet*, **10**, 715-20.
- Nathanson K.L., Wooster R., Weber B.L. (2001). Breast cancer genetics: what we know and what we need. *Nat Med*, **7**, 552-556.

- Naylor M.S., Stamp G.W., Foulkers W., Eccles D., Balkwill F.R. (1993). Tumor necrosis factor and its receptors in human ovarian cancer. Potential role in disease progression. *J Clin Invest*, **91**(5), 2194-2206.
- Nedospasov S.A., Udalova I.A., Kuprash D.V., Turetskaya R.L. (1991). DNA sequence polymorphism at the human tumor necrosis factor (TNF) locus: numerous TNF/lymphotoxin alleles tagged by two closely linked microsatellites in the upstream region of the lymphotoxin (TNF-b) gene. *J Immunol*, **147**, 1053–1059.
- Negoro K., Kinouchi Y., Hiwatashi N., Takahashi S., Takagi S., Satoh J., Shimosegawa T., Toyota T. (1999). Crohn's disease is associated with novel polymorphisms in the 5'-flanking region of the tumor necrosis factor gene. *Gastroenterology*, **117**, 1062–1068.
- Nelson H.D., Huffman L.H., Fu R., Harris E.L. (2005). Genetic risk assessment and BRCA mutation testing for breast and ovarian cancer susceptibility: systematic evidence review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med*, **143**, 362-379.
- Niwa Y, Hirose K, Matsuo K, Tajima K, Ikoma Y, Nakanishi T, Nawa A, Kuzuya K, Tamakoshi A, Hamajima N. (2005). Lymphotoxin-alpha polymorphism and the risk of cervical cancer in Japanese subjects. *Cancer Lett*, **218**(1), 63-68.
- Niwa Y., Ito H., Matsuo K., Hirose K., Ito N., Mizuno M., Hamajima N., Tajima K., Nakanishi T. (2007). Lymphotoxin-alpha polymorphisms and the risk of endometrial cancer in Japanese subjects. *Gynecol Oncol*, **104**(3), 586-590.
- Nonomura N., Tokizane T., Nakayama M., Inoue H., Nishimura K., Muramatsu M., Okuyama A. (2006). possible correlation between polymorphism in the tumor necrosis factor-beta gene and the clinicopathological features of bladder cancer in Japanese patients. *Int J Urol*, **13**, 971-976.
- Nordlander A., Uzunel M., Mattsson J., Remberger M. (2002). The TNFd4 allele is correlated to moderate-to-severe acute graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haematol*, **119**(4), 1133-1136.
- Oh B.R., Sasaki M., Perinchery G., Ryu S.B., Park Y.I., Carroll P., Dahiya R. (2000). Frequent genotype changes at -308 and 488 regions of the tumor necrosis factor- α (TNF- α) gene in patients with prostate cancer. *J Urol*, **163**, 1584–1587.
- Old L.J. (1985). Tumor necrosis factor (TNF). *Science*, **230**, 630–632.
- Oliver M., Eeles R., Hollstein M., Khan M.A., Harris C.C., Hainaut P. (2002). The IARC TP53 database: new online mutation analysis and recommendations to users. *Hum Mutat*, **19**, 607-14.
- Ollier W.E.R. (2004). Cytokine genes and disease susceptibility. *Cytokine*, **28**, 174-178.

- Onay V.Ü., Briollais L., Knight J.A., Shi E., Wang Y., Wells S., Li H., Rajendram I., Andrulis I.L., Ozcelik H. (2006). SNP-SNP interactions in breast cancer susceptibility. *BMC Cancer*, **6**, 114-129.
- Ostashkin A.S., Malivanova T.F., Iurchenko V.A., Mazurenko N.N. (2008). Tumor necrosis factor gene polymorphisms in breast cancer patients. *Genetika*, **44(9)**, 1275-80.
- Ozaki K., Ohnishi Y., Iida A., Sekine A., Yamada R., Tsunoda T., Sato H., Sato H., Hori M., Nakamura Y., Tanaka T. (2002). Functional SNPs in the lymphotoxin- α gene that are associated with susceptibility to myocardial infarction. *Nat Genet*, **32**, 650-654.
- Ozzelo L., de Rosa C.M., Cantell K., Kauppinen H.L., Habif D.V. (1995). Regression of human breast cancer xenografts in response to intralesional treatment with interferons alpha and gamma potentiated by tumor necrosis factor. *J Interferon Cytokine Res*, **15**, 839-848.
- Özmen V. (2006). Editörden. *Meme Sağlığı Dergisi*, **2(2)**, 55-58.
- Palmer J.R. ve Rosenberg L. (1993). Cigarette smoking and the risk of breast cancer. *Epidemiol Rev*, **15**, 145-156.
- Park K.S., Mok J.W., Rho S.A., Kim J.C. (1998). Analysis of TNFB and TNFA NcoI RFLP in colorectal cancer. *Mol Cells*, **8**, 246-249.
- Park K.S., Mok J.W., Ko H.E., Tokunagat K., Lee M.H. (2002). Polymorphisms of tumour necrosis factors A and B in breast cancer. *Eur J Immunogenet*, **29**, 7-10.
- Parkin D.M., Bray F., Ferlay J., Pisani P. (2005). Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin*, **55**, 74-108.
- Patio-Garcia A., Sotillo-Pieiro E., Modesto C., Sierrases-Maga L. (2000). Analysis of the human tumour necrosis factor-alpha (TNFalpha) gene promoter polymorphisms in children with bone cancer. *J Med Genet*, **37**, 789-791.
- Pecker I., Avraham K.B., Gilbert D.J., Savitsky K., Rotman G., Harnik R., Fukao T., Schrock E., Hirotsumi S., Tagle D.A., Collins F.S., Wynshaw-Boris A. ve ark. (1996). Identification and chromosomal localization of Atm, the mouse homolog of the ataxiatelangiectasia gene. *Genomics*, **35**, 39-45.
- Pelletier R., Pravica V., Perrey C., Xia D., Ferguson R.M., Hutchinson I.V., Orosz C. (2000). Evidence for a genetic predisposition towards acute rejection after kidney and simultaneous kidney-pancreas transplantation. *Transplantation*, **70**, 674-680.

- Penix L., Weaver W.M., Pang Y., Young H.A., Wilson C.B. (1993). Two essential regulatory elements in the human interferon gamma promoter confer activation specific expression in T cells. *J Exp Med*, **178**, 1483–1496.
- Pennica D., Nedwin G., Hayflick J., Seeburg P.H., Derynck R., Palladino M.A., Kohr W.J., Aggarwal B.B., Goeddel D.V. (1984). Human tumour necrosis factor: precursor structure, expression and homology to lymphotoxin. *Nature*, **312**, 724–729.
- Perri F., Piepoli A., Bonvicini C., Gentile A., Quitadamo M., Di Candia M., Cotugno R., Cattaneo F., Zagari M.R., Ricciardiello L., Gennarelli M., Bazzoli F., Ranzani G.N., Andriulli A. (2005). Cytokine gene polymorphisms in gastric cancer patients from two Italian areas at high and low cancer prevalence. *Cytokine*, **30**, 293–302.
- Pharoah P.D., Antoniou A., Bobrow M., Zimmern R.L., Easton D.F., Ponder B.A. (2002). Polygenic susceptibility to breast cancer and implications for prevention. *Nat Genet*, **31**, 33–36.
- Polyak K. (2002). Breast cancer gene discovery. *Expert Rev Mol Med*, **4(18)**, 1–18.
- Posch P.E., Cruz I., Bradshaw D., Medhekar B.A. (2003). Novel polymorphisms and the definition of promoter ‘alleles’ of the tumour necrosis factor and lymphotoxin α loci: inclusion in HLA haplotypes. *Genes Immun*, **4**, 547–558.
- Powell C.B., Scott J.H., Leslie Collins J. (1998). Comparison of TNF α and TNF β cytolytic mechanisms in human ovarian and cervical carcinoma cell lines. *Gynecol Oncol*, **71**, 258–265.
- Pravica V., Asderakis A., Perrey C., Hajeer A., Sinnott P.J., Hutchinson I.V. (1999). In vitro production of IFN- γ correlates with CA repeat polymorphism in the human IFN- γ gene. *Eur J Immunogenet*, **26**, 1–3.
- Pravica V., Perrey C., Stevens A., Lee J.H., Hutchinson I.V. (2000). A single nucleotide polymorphism in the first intron of the human gene: absolute correlation with a polymorphic CA microsatellite marker of high interferon production. *Hum Immunol*, **61**, 863–866.
- Purdue M.P., Lan Q., Kricker A., Grulich A.E., Vajdic C.M., Turner J., Whitby D., Chanock S., Rothman N., Armstrong B.K. (2007). Polymorphisms in immune function genes and risk of non-Hodgkin lymphoma: findings from the New South Wales non-Hodgkin Lymphoma Study. *Carcinogenesis*, **28(3)**, 704–712.
- Qin Z., Blankenstein T. (1995). Tumor growth inhibition mediated by lymphotoxin: evidence of B lymphocyte involvement in the anti-tumor response. *Cancer Res*, **55**, 4747–4751.
- Rebbeck T.R. (1999). Inherited genetic predisposition in breast cancer. A population-based perspective. *Cancer*, **86**, 2493–2501.

- Rocha G.A., Guerra J.B., Rocha A.M., Saraiva I.E., da Silva D.A., de Oliveira C.A., Queiroz D.M. (2005). IL1RN polymorphic gene and cagA-positive status independently increase the risk of noncardia gastric carcinoma. *Int J Cancer*, **115**, 678–683.
- Rossouw M., Nel H.J., Cooke G.S., van Helden P.D., Hoal E.G. (2003). Association between tuberculosis and a polymorphic NFkappaB binding site in the interferon gamma gene. *Lancet*, **361**, 1871–1872.
- Rothman N., Wacholder S., Caporaso N.E., Garcia-Closas M., Buetow K., Fraumeni J.F. (2001). The use of common genetic polymorphisms to enhance the epidemiologic study of environmental carcinogens. *Biochim Biophys Acta*, **1471**(2), C1-10.
- Rothman N., Skibola C.F., Wang S.S., Morgan G., Lan Q., Smith M.T., Spinelli J.J., Willett E., De Sanjose S., Cocco P., Berndt S.I., Brennan P. ve ark. (2006). Genetic variation in TNF and IL10 and risk of non-Hodgkin lymphoma: a report from the InterLymph Consortium. *Lancet Oncol*, **7**(1), 27-38.
- Ruuls S.R., Sedgwick J.D. (1999). Unlinking tumor necrosis factor biology from the major histocompatibility complex: Lessons from human genetics and animal models. *Am J Hum Genet*, **65**, 294-301.
- Ruiz-Ruiz C., Munoz-Pinedo C., Lopez-Rivas A. (2000). Interferon-gamma treatment elevates caspase-8 expression and sensitizes human breast tumor cells to a death receptor-induced mitochondria-operated apoptotic program. *Cancer Res*, **60**, 5673-5680.
- Sáenz-López P., Carretero R., Cózar J.M., Romero J.M., Canton J., Vilchez J.R., Tallada M., Garrido F., Ruiz-Cabello F. (2008). Genetic polymorphisms of RANTES, IL1-A, MCP-1 and TNF-A genes in patients with prostate cancer. *BMC Cancer*, **8**, 382-389.
- Sallakci N., Coskun M., Berber Z., Gürkan F., Kocamaz H., Uysal G., Bhujju S., Yavuzer U., Singh M., Yeğın O. (2007). Interferon-gamma gene+874T-A polymorphism is associated with tuberculosis and gamma interferon response. *Tuberculosis (Edinb)*, **87**(3), 225-230.
- Sankaran D., Asderakis A., Ashraf S., Roberts I.S.D., Short C.D., Dyer P.A., Sinnott P.J., Hutchinson I V. (1999). Cytokine gene polymorphisms predict acute graft rejection following renal transplantation. *Kidney Int*, **56**, 281-288.
- Sato S., Kawashima H., Oshiro H., Hasegawa D., Kashiwagi Y., Takekuma K., Hoshika A. (2001). Virological and immunological characteristics of a 19-year-old Japanese female with fatal outcome with Epstein–Barr virus-associated hemophagocytic syndrome. *J Clin Virol*, **31**, 235–238.

- Schneider K., Potter K.G., Ware C.F. (2004). Lymphotoxin and LIGHT signaling pathways and target genes. *Immunol Rev*, **202**, 49-66.
- Schroeder S., Börger N., Wrigge H., Welz A., Putensen C., Hoeft A., Stüber F. (2003). A tumor necrosis factor gene polymorphism influences the inflammatory response after cardiac operation. *Ann Thorac Surg*, **75(2)**, 534-537.
- Scola L., Vaglica M., Crivello A., Palmeri L., Forte G.I., Macaluso M.C., Giacalone A., Noto L.D., Bongiovanni A., Raimondi C., Accardo A., Verna R., Candore G., Caruso C., Lio D., Palmeri S. (2006). Cytokine gene polymorphisms and breast cancer susceptibility. *Ann N Y Acad Sci*, **1089**, 104-109.
- Seidemann K., Zimmermann M., Book M., Meyer U., Burkhardt B., Welte K., Reiter A., Stanulla M. (2005). Tumor necrosis factor and lymphotoxin alfa genetic polymorphisms and outcome in pediatric patients with non-Hodgkin's lymphoma: results from Berlin-Frankfurt-Münster Trial NHL-BFM 95. *J Clin Oncol*, **23(33)**, 8414-8421.
- Seifart C., Plagens A., Dempfle A., Clostermann U., Vogelmeier C., von Wichert P., Seifart U. (2005). TNF-alpha, TNF-beta, IL-6, and IL-10 polymorphisms in patients with lung cancer. *Dis Markers*, **21(3)**, 157-65.
- Shao C., Qu J., He L., Zhang Y., Wang J., Wang Y., Zhou H., Liu X. (2005). Transient overexpression of α interferon promotes Aspergillus clearance in invasive pulmonary aspergillosis. *Clin Exp Immunol*, **142**, 233-241.
- Shastri B.S. (2002). SNP alleles in human disease and evolution. *J Hum Genet*, **47**, 561-566.
- Shields P.G., Harris C.C. (2000). Cancer risk and low-penetrance susceptibility genes in gene-environment interactions. *J Clin Oncol*, **18**, 2309-2315.
- Shih C.M., Lee Y.L., Chiou H.L., Chen W., Chang G.C., Chou M.C., Lin L.Y. (2006). Association of TNF- α polymorphism with susceptibility to and severity of non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*, **52(1)**, 15-20.
- Shimura T., Hagihara M., Takebe K., Munkhbat B., Odaka T., Kata H., Nagamachi Y., Tsuji K. (1994). The study of tumor necrosis factor beta gene polymorphism in lung cancer patients. *Cancer*, **73**, 1184-1188.
- Shimura T., Hagihara M., Takebe K., Munkhbat B., Ogoshik K., Mitomi T., Nagamachi Y., Tsuji K. (1995). 10.5-kb homogygote of tumor necrosis factor-beta gene is associated with a better prognosis in gastric cancer patients. *Cancer*, **75**, 1450-1453.
- Sica A., Tan T.H., Rice N., Kretschmar M., Ghosh P., Young H.A. (1992). The c-rel protooncogene product c-Rel but not NF-kappa B binds to the intronic region of the

- human interferon-gamma gene at a site related to an interferonstimulable response element. *Proc Nat Acad Sci U S A*, **89**, 1740–1744.
- Sidransky D., Tokino T., Helzlsouer K., Zehnbauer B., Rausch G., Shelton B., Prestigiacomo L., Vogelstein B., Davidson N. (1992). Inherited p53 gene mutations in breast cancer. *Cancer Res*, **52**, 2984-2986.
- Simmonds M.J., Heward J.M., Howson J.M.M., Foxall H., Nithiyananthan R., Franklyn J.A., Gough S.C.L. (2004). A systematic approach to the assessment of known TNF- α polymorphisms in Graves' disease. *Genes Immun*, **5**, 267-273.
- Skorpil N., Kolesar L., Striz I., Lardy N.M., Slavcev A. (2007). Cytokine gene polymorphisms in the Dutch population. *Int J Immunogenet*, **34**, 87-90.
- Smith C.A. (1994). The TNF receptor super family of cellular and viral proteins-activation, co stimulation and death. *Cell*, **76**, 959-962.
- Smith K.C., Bateman A.C., Fussell H.M., Howell W.M. (2004). Cytokine gene polymorphisms and breast cancer susceptibility and prognosis. *Eur J Immunogenet*, **31**, 167-173.
- Smith-Warner S.A., Spiegelman D., Yaun S.S., van der Brandt P.A., Folsom A.R., Goldbohm R.A., Graham S., Holmberg L., Howe J.R., Marshall J.R., Miller A.B., Potter J.D., Speizer F.E., Willett W.C., Wolk A., Hunter D.J. (1998). Alcohol and breast cancer in women: a pooled analysis of cohort studies. *JAMA*, **279**, 535-540.
- Soussi T., Dehouche K., Beroud C. (2000). p53 website and analysis of p53 gene mutations in human cancer: forging a link between epidemiology and carcinogenesis. *Hum Mutat*, **15**, 105-13
- Soussi T., Beroud C. (2001). Assessing TP53 status in human tumors to evaluate clinical outcome. *Nat Rev Cancer*, **1**, 233-40.
- Spink C.F., Keen L.J., Mensah F.K., Law G.R., Bidwell J.L., Morgan G.J. (2006). Association between non-Hodgkin lymphoma and haplotypes in the TNF region. *Br J Haematol*, **133(3)**, 293-300.
- Stark G.R., Kerr I.M., Williams B.R., Silverman R.H., Schreiber R.D. (1998). How cells respond to interferons. *Annu Rev Biochem*, **67**, 227-264.
- Stanczuk G.A., Sibanda E.N., Tswana S.A., Bergstrom S. (2003). Polymorphism at the -308-promoter position of the tumour necrosis factor-alpha (TNF- α) gene and cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer*, **13**, 148-153.
- Steffen M., Ottmann O.G., Moore M.A.S. (1988). Simultaneous production of tumor necrosis factor-a and lymphotoxin by normal Tcells after induction with Il-2 and anti-T3. *J Immunol*, **140**, 2621-2624.

- Stewart S.L., King J.B., Thompson T.D., Friedman C., Wingo P.A. (2004). Cancer mortality surveillance-United State, 1990-2000. *MMWR Surveill Summ*, **53(3)**, 1-108.
- Struewing J.P., Tarone R.E., Brody L.C., Li F.P., Boice J.D. (1996). BRCA1 mutations in young women with breast cancer [letter]. *Lancet*, **347**, 1493.
- Struewing J.P., Hartge P., Wacholder S., Baker S.M., Berlin M., McAdams M., Timmerman M.M., Brody L.C., Tucker M.A. (1997). The risk of cancer associated with specific mutations of BRCA1 and BRCA2 among Ashkenazi Jews. *N Engl J Med*, **336**, 1401-1408.
- Stuber F., Peterson M., Bokelmann F., Schade U. (1996). A genomic polymorphism within the tumor necrosis factor locus influences plasma tumor necrosis factor-alpha concentrations an outcome of patients with severe sepsis. *Crit Care Med*, **24(3)**, 381-384.
- Suganuma M., Okabe S., Marino N.W., Sakai A., Sueoka E., Fijiki H. (1999). Essential role of tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) in tumor promotion as revealed by TNF-alpha-deficient mice. *Cancer Res*, **59**, 4516-4518.
- Sugimoto M., Furuta T., Shirai N., Nakamura A., Xiao F., Kajimura M., Sugimura H., Hishida A. (2007). Different effects of polymorphisms of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta on development of peptic ulcer and gastric cancer. *J Gastroenterol Hepatol*, **22**, 51-59.
- Sullivan K.E., Wooten C., Schmeckpeper B.J., Goldman D., Petri M.A. (1997). A promoter polymorphism of tumor necrosis factor alpha associated with systemic lupus erythematosus in African-Americans. *Arthritis Rheum*, **40**, 2207-2211.
- Sunpaweravong S., Sunpaweravong P. (2005). Recent developments in critical genes in the molecular biology of breast cancer. *Asian J Surg*, **28(1)**, 71-75.
- Suzuki G., Izumi S., Hakoda M., Takahashi N. (2004). LTA 252G allele containing haplotype block is associated with high serum C-reactive protein levels. *Atherosclerosis*, **176(1)**, 91-94.
- Tambur A.R., Ortegell J.W., Ben-Ari Z., Shabtai E., Klein T., Michowiz R., Tur-Kaspa R., Mor E. (2001). Role of cytokine gene polymorphism in hepatitis C recurrence and allograft rejection among liver transplant recipients. *Transplantation*, **71**, 1475-1480.
- Tang G.J., Huang S.L., Yien H.W., Chen W.S., Chi C.W., Wu C.W., Lui W.Y., Chiu J.H., Lee T.Y. (2000). Tumor necrosis factor gene polymorphism and septic shock in surgical infection. *Crit Care Med*, **28**, 2733-2736.
- Tartaglia L.A. ve Goeddel D.V. (1992). Two TNF receptors. *Immunol Today*, **13**, 151-153.

- Tavtigian S.V., Simard J., Rommens J., Couch F., Shattuck-Eidens D., Neuhausen S., Merajver S., Thorlacius S., Offit K., Stoppa-Lyonnet D., Belanger C., Bell R. ve ark. (1996). The complete BRCA2 gene and mutations in chromosome 13q-linked kindreds. *Nature Genetics*, **12**, 333-337.
- Tegoshi H., Hasegawa G., Obayashi H., Nakano K., Kitagawa Y., Fukui M., Matsuo S., Deguchi M., Ohta M., Nishimura M., Nakamura N., Yoshikawa T. (2002). Polymorphisms of interferon-gamma gene CA-repeat and interleukin-10 promoter region (-592A/C) in Japanese type I diabetes. *Hum Immunol*, **63**, 121–128.
- Tempfer C.B., Schneeberger C., Huber J.C. (2004). Applications of polymorphisms and pharmacogenomics in obstetrics and gynecology. *Pharmacogenomics*, **5**, 57-65.
- Tempfer C.B., Hefler L.A., Schneeberger C., Huber J.C. (2006). How valid is single nucleotide polymorphism (SNP) diagnosis for the individual risk assessment of breast cancer? *Gynecol Endocrinol*, **22(3)**, 155-159.
- Temple S.E., Cheong K.Y., Almeida C.M., Price P., Waterer G.W. (2003). Polymorphisms in lymphotoxin alpha and CD14 genes influence TNFalpha production induced by Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Genes Immun*, **4(4)**, 283-288.
- Teng D.H., Hu R., Lin H., Davis T., Iliev D., Frye C., Swedlund B., Hansen K.L., Vinson V.L., Gumpfer K.L., Ellis L., El-Naggar A. ve ark. (1997). MDM2/PTEN mutations in primary tumor specimens and tumor cell lines. *Cancer Res*, **57**, 5221-5225.
- Titus-Ernstoff L., Longnecker M.P., Newcomb P.A., Dain B., Greenberg E.R., Mittendorf R., Stampfer M., Willett W. (1998). Menstrual factors in relation to breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **7**, 783-789.
- Thune I., Brenn T., Lund E., Gaard M. (1997). Physical activity and the risk of breast cancer. *N Eng J Med*, **336**, 1269-1275.
- Tracey K.J., Beutler B., Lowry S.F., Merryweather J., Wolpe S., Milsark I.W., Hariri R.J., Fahey T.J., Zentella A., Albert J.D. ve ark. (1986). Shock and tissue injury induced by recombinant human cachectin. *Science*, **234**, 470-474.
- Tsai F.J., Lu H.F., Yeh L.S., Hsu C.D., Chen W.C. (2001). Lack of evidence for the association of tumor necrosis factor-alpha gene promoter polymorphism with calcium oxalate stone and bladder cancer patients. *Urol Res*, **29**, 412–416.
- Tso H.W., Ip W.K., Chong W.P., Tam C.M., Chiang A.K.S., Lau Y.L. (2005). Association of interferon gamma and interleukin 10 genes with tuberculosis in Hong Kong Chinese. *Genes Immun*, **6**, 358–363.
- Um J.Y., An N.H., Kim H.M. (2003). TNF-alpha and TNF-beta gene polymorphisms in cerebral infarction. *J Mol Neurosci*, **21(2)**, 167-171.

- Vairaktaris E., Yapijakis C., Serefoglou Z., Avgoustidis D., Critselis E., Spyridonidou S., Vylliotis A., Derka S., Vassiliou S., Nkenke E., Patsouris E. (2008). Gene expression polymorphisms of interleukins-1 beta, -4, -6, -8, -10, and tumor necrosis factors-alpha, -beta: regression analysis of their effect upon oral squamous cell carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol*, **134(8)**, 821-832.
- van Horssen R., Ten Hagen T.L., Eggermont A.M. (2006). TNF-alpha in cancer treatment: molecular insights, antitumor effects, and clinical utility. *Oncologist*, **11(4)**, 397-408.
- Vandenabeele P., Declercq W., Beyaert R., Fiers W. (1995). Two tumour necrosis factor receptors: structure and function. *Trends Cell Biol*, **5**, 392-399.
- Vassalli P. (1992). The pathophysiology of tumor necrosis factors. *Annu Rev Immunol*, **10**, 411-452.
- Verloop J., Rookus M.A., van der Kooy K., van Leeuwen F.E. (2000). Physical activity and breast cancer risk in women aged 20-54. *J Natl Cancer Inst*, **92**, 128-135.
- Wadler S. ve Schwartz E.L. (1990). Anti neoplastic of the combination of interferon and cytotoxic agents against experimental and human malignancies: a review. *Cancer Res*, **50**, 3473-3486.
- Wang S.S., Cerhan J.R., Hartge P., Davis S., Cozen W., Severson R.K., Chatterjee N., Yeager M., Chanock S.J., Rothman N. (2006). Common genetic variants in proinflammatory and other immunoregulatory genes and risk for non-Hodgkin lymphoma. *Cancer Res*, **66(19)**, 9771-9780.
- Warzocha K., Riberio P., Bienvenu J., Roy P., Charlot C., Rigal D., Coiffier B., Salles G. (1998). Genetic polymorphisms in the tumour necrosis factor locus influence non Hodgkin's lymphoma outcome. *Blood*, **91**, 3574-3581.
- Weber B.L. ve Nathanson K.L. (2000). Low penetrance genes associated with increased risk for breast cancer. *Eur J Cancer*, **36**, 1193-1199.
- Welch D.R., Steeg P.S., Rinker-Schaeffer C.W. (2000). Molecular biology of breast cancer metastasis. Genetic regulation of human breast carcinoma metastasis. *Breast Cancer Res*, **2**, 408-416.
- Welsh P.L., Owens K.N., King M.C. (2000). Insights into the functions of BRCA1 and BRCA2. *Trends Genet*, **16**, 69-74.
- Westendorp R.G., Langermans J.A., Huizinga T.W., Verweij C.L., Sturk A. (1997). Genetic influence on cytokine production in meningococcal disease. *Lancet*, **349**, 1912-1913.
- Whichelow C.E., Hitman G.A., Raafat I., Bottazzo G.F., Sachs J.A. (1996). The effect of TNF* β gene polymorphism on TNF-alpha and -beta secretion levels in patients

- with insulin-dependent diabetes mellitus and healthy controls. *Eur J Immunogenet*, **23**(6), 425–435.
- Wihlborg C, Sjoberg J., Intaglietta M., Axdorph U., Pisa E.K., Pisa P. (1999). Tumour necrosis factor- α cytokine promoter gene polymorphism in Hodgkin's disease and chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol*, **104**, 346-349.
- Wilson A.G., di Giovine F.S., Blakemore A.I.F., Duff G.W. (1992). Single base polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha (TNF- α) gene detectable by NcoI restriction of PCR product. *Hum Mol Genet*, **1**(5): 353.
- Wilson A.G., de Vries N., Pociot E., di Giovine F.S., van der Putte L.B., Duff G.W. (1993). An allelic polymorphism with the human tumor necrosis factor alpha promoter region is strongly associated with HLA A1, B8 and DR3 alleles. *J Exp Med*, **177**, 557-560.
- Wilson A.G., Symons J.A., McDowell T.L., McDevitt H.O., Duff G.W. (1997). Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **94**, 3195-3199.
- Wittle J.S., Palmer L.J., O'Connor R.D., Hopkins P.J., Hall, J.M. (2002). Relation between tumour necrosis factor polymorphism TNFalpha -308 and risk of asthma. *Eur J Hum Genet*, **10**, 82-85.
- Wohlfahrt J., Melbye M. (2001). Age at any birth is associated with breast cancer risk. *Epidemiology*, **12**, 68-73.
- Wooster R., Neuhausen S.L., Mangion J., Quirk Y., Ford D., Collins N., Nguyen K., Seal S., Tran T., Averill D. ve ark. (1994). Localization of breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12-13. *Science*, **265**, 2088-2090.
- Wooster R., Bignell G., Lancaster J, Swift S., Seal S., Mangion J., Collins N., Gregory S., Gumbs C., Micklem G. (1995). Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature*, **378**, 789-792.
- Wu H.C., Chang C.H., Chen H.Y., Tsai F.J., Tsai J.J., Chen W.C. (2004a). p53 gene codon 72 polymorphism but not tumor necrosis factor-alpha gene is associated with prostate cancer. *Urol Int*, **73**, 41–46.
- Wu M.S., Chen L.T., Shun C.T., Huang S.P., Chiu H.M., Wang H.P., Lin M.T., Cheng A.L., Lin J.T. (2004b). Promoter polymorphisms of tumor necrosis factor alpha are associated with risk of gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *Int J Cancer*, **110**, 695–700.
- Yapijakis C., Serefoglou Z., Vylliotis A., Nkenke E., Derka S., Vassiliou S., Avgoustidis D., Neukam F.W., Patsouris E., Vairaktaris E. (2009). Association of polymorphisms in tumor necrosis factor alpha and Beta genes with increased risk for oral cancer. *Anticancer Res*, **29**(6), 2379-2386.

- Yu H., Zhu Q.R., Gu S.Q., Fei L.E. (2006). Relationship between IFN-gamma gene polymorphism and susceptibility to intrauterine HBV infection. *World J Gastroenterol*, **12**, 2928–2931.
- Zabaleta J., Schneider B.G., Ryckman K., Hooper P.F., Camargo M.C., Piazuelo M.B., Sierra R.A., Fontham E.T., Correa P., Williams S.M., Ochoa A.C. (2008). Ethnic differences in cytokine gene polymorphisms: potential implications for cancer development. *Cancer Immunol Immunother*, **57(1)**, 107-114.
- Zheng W., Gustafson D.R., Sinha R., Cerhan J.R., Moore D., Hong C.P., Anderson K.E., Kushi L.H., Sellers T.A., Folsom A.R. (1998). Well-done meat intake and the risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst*, **90**, 1724-1729.

8. EKLER

8.1. BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMLARI (EK 1ve 2)

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda Meme Kanseri tanısı konulan hastalardan 5 ml kan örneği alınarak DNA analizi yapılacaktır. Araştırmaya katılmak tamamen hastanın kendi rızasıyla olacak ve hastaya yükümlülük getirmeyecektir. Araştırmaya başladıktan sonra devam etmek istemediğinizde, bırakma hakkına sahip olacaksınız. Gönüllüğün kendi rızasına bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma harici bırakılabilir.

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarda bahsedilen araştırmaya hiçbir baskı altında kalmadan ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllüğün

Adı Soyadı:

İmzası:

Adresi:

Tel:

Velayet ve vesayet altında bulunanlar için ve/veya vasisinin

Adı Soyadı:

İmzası:

Adresi:

Tel:

Açıklamayı yapan araştırmacının

Adı Soyadı:

İmzası:

Rıza alma işleminde başından sonuna tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı Soyadı:

İmzası:

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesinde Meme Kanseri tanısı konulan hastalardan 5 ml kan örneği alınarak DNA analizi yapılacaktır. Araştırmaya katılmak tamamen hastanın kendi rızasıyla olacak ve hastaya yükümlülük getirmeyecektir. Araştırmaya başladıktan sonra devam etmek istemediğinizde, bırakma hakkına sahip olacaksınız. Gönüllünün kendi rızasına bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma harici bırakılabilir.

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarda bahsedilen araştırmaya hiçbir baskı altında kalmadan ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün

Adı Soyadı:

İmzası:

Adresi:

Tel:

Velayet ve vesayet altında bulunanlar için ve/veya vasisinin

Adı Soyadı:

İmzası:

Adresi:

Tel:

Açıklamayı yapan araştırmacının

Adı Soyadı:

İmzası:

Rıza alma işleminde başından sonuna tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı Soyadı:

İmzası:

8.2. ETİK KURUL RAPORLARI (EK 3 ve 4)**ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ETİK KURUL BAŞKANLIĞI**

Sayı: EK: 81

7.4.2005

Sayın Yrd.Doç.Dr.Nurten KARA

Etik kurulumuza sunmuş olduğunuz “Stokin genleri TNF- α , TNF- β , INF- γ ile birlikte protoonkogen HER-2 ve tümör baskılayıcı p53 gen pölimorfizmlerinin meme kanseri ile ilişkisi.” başlıklı ilaç dışı araştırma projeniz ile ilgili değerlendirme çalışmaları sonuçlandırılmıştır. Projeniz amaç, gerekçe, yaklaşım ve yöntemle ilgili açıklamalarınızı dikkate alarak değerlendirilmiş olup OMÜ Tıp Fakültesi Etik Kurul yönergesinin 5. maddesi gereği sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere ve 6 ayda bir etik kurula bilgi verilerek etik yönden uygulanabilir olduğuna 04.04.2005 tarihli etik kurulumuzda oy birliği ile karar verilmiştir.

Ancak araştırmanın bütçesi temin edildikten sonra araştırmanıza etik kurul olurumuz verilecektir.

Bilgilerinize rica ederim.



Prof.Dr.Yüksel KESİM
Etik Kurul Başkanı

Eki : Altı aylık bildirim formu

ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ETİK KURUL BAŞKANLIĞI

Say: EK/ 352

20.11.2006

Sayın Yrd.Doç.Dr. Nurten KARA

Etik kurulumuza sunmuş olduğunuz "Sitokin genleri TNF- α , TNF- β , INF- γ ile birlikte protoonkogen Her-2 geni ve tümör baskılayıcı p53 gen polimorfizmlerinin meme kanseri ile ilişkisi" başlıklı ilaç dışı araştırma projeniz için gerekli olan meme kanserli hastaların kan örneklerinin sağlanması için Ankara Onkoloji Hastanesinin dahil edildiği gösteren belge 27.11.2006 tarihli etik kurulumuzda görüşülerek kurul üyelerimiz bilgilendirilmiştir.

Bilgilerinize rica ederim.



Prof.Dr.Yüksel KESİM
Etik Kurul Başkanı

Eki 1. Altı Aylık Bildirim Formu
2. Sonuç Raporu

9. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Ünvanı	Araştırma Görevlisi
Adı Soyadı	Nevin KARAKUŞ
Doğum Tarihi ve Yeri	26.04.1978 / KUMRU
Medeni Hali	Evli
İş Adresi	Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD
Telefon	(362) 3121919/3048
E-mail	nevinbalci@hotmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

2004-	Doktora, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD
2000-2004	Yüksek Lisans, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD
1996-2000	Lisans, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Bölümü
1989-1996	Lise ve Orta Öğretim, Samsun Anadolu Lisesi
1984 1989	İlköğretim, Samsun İstiklal İlköğretim Okulu

İŞ TECRÜBESİ

2006-	Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD
2004-2006	Milli Eğitim Bakanlığı, Samsun Gazi Lisesi
2002-2004	Milli Eğitim Bakanlığı, Erbaa Coşkun Önder Lisesi

YAYINLAR

Uluslararası Yayınlar

1. Karakus N., Kara N., Ulusoy A.N. (2008). Lack of association between Prohibitin 3' untranslated region C→T polymorphism and breast cancer in a Turkish population. *DNA Cell Biol*, **27(8)**, 449-452.

Ulusal Yayınlar

1. Güneş S., Ökten G., Kara N., Yiğit S., Tural Ş., Taşkın E., Karakuş N. (2005). Konjenital Malformasyonlu Olgularda Kromozomal Anomaliler. *OMÜ Tıp Dergisi* 22(3), 113–118.

KATILDIĞI KONGRELER

1. 8. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi, 06-09 Mayıs 2008, ÇANAKKALE
2. 7. Ulusal Prenatal Tanı ve Tıbbi Genetik Kongresi, 17-20 Mayıs 2006, KAYSERİ
3. 8. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi, 14-17 Ekim 2003, ADANA

KATILDIĞI KURSLAR

1. Adli Biyolojik İncelemeler ve Moleküler Genetik Kursu, 3-4 Nisan 2007, Adli Tıp Kurumu Başkanlığı - İSTANBUL

YABANCI DİL BİLGİSİ

İngilizce

ÜYELİKLER

Tıbbi Genetik Derneği