

157746

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

**PROHİBİTİN GENİ 3' TRANSLE EDİLMİYEN
BÖLGEDEKİ C→T POLİMORFİZMİ İLE ERKEN YAŞ
MEME KANSERİ İLİŞKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nevin BALCI

Samsun
Ocak-2004

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

**PROHİBİTİN GENİ 3' TRANSLE EDİLMİYEN
BÖLGEDEKİ C→T POLİMORFİZMİ İLE ERKEN YAŞ
MEME KANSERİ İLİŞKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nevin BALCI

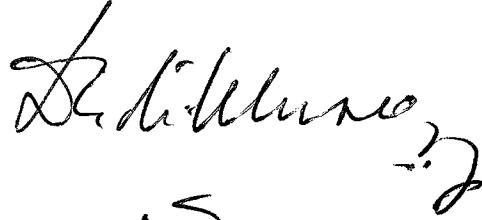
Danışman: Yrd. Doç. Dr. Nurten KARA

Samsun
Ocak-2004

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

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

Başkan: Prof. Dr. Ali Naki ULUSOY



Üye: Prof. Dr. Hasan BAĞCI



Üye: Prof. Dr. Gülsen ÖKTEN



Üye: Prof. Dr. Mehmet ELBİSTAN

Açıklama: Önerdiğim düzeltmeler ile şekil ve tablolara metnin içinde atıf yapıldığı görülmüştür (10.02.2004).



Üye: Yrd. Doç. Dr. Nurten KARA



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



Prof. Dr. Süleyman ÇELİK

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı ile ilgili edindiğim bilgilerin çoğunu bana öğreten ve tez çalışmalarım sırasında bana her türlü destek ve yardımı veren danışmanım Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. 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'a, çalışmalarım sırasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Hasan BAĞCI'ya, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Gülsen ÖKTEN'e, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Mehmet ELBİSTAN'a ve laboratuvar çalışmalarıyla ilgili bilgi ve becerilerimin gelişmesine yardımcı olan Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Sezgin GÜNEŞ'e teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında her türlü yardım ve desteğini gördüğüm Anabilim Dalımız Araş. Gör. Serbüent YİĞİT'e, Sağlık Teknisyenleri Mustafa DÜZ'e, Ömür UZUN'a ve Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Elemanı İlker URUK'a teşekkür ederim.

Ayrıca benden yardımlarını esirgemeyen Anabilim Dalımız Araş. Gör. Dr. Özlem TÜRKELİ SEZER'e, Doktora Öğrencisi Emre TAŞKIN'a, Yüksek Lisans Öğrencisi Şengül BEKAR'a ve personel Namık CANTÜRK'e teşekkür ederim.

Yüksek Lisans çalışmalarım sırasında gösterdikleri sabır ve desteklerinden dolayı anne ve babama, kardeşlerim Mustafa ve Mahmut'a, bana her zaman manevi destek olan ablam ve teyzeme teşekkür ederim.

Bu çalışmayı destekleyen Ondokuz Mayıs Üniversitesi Araştırma Fonu'na (T-332 No'lu Proje) desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

ÖZET**PROHİBİTİN GENİ 3' TRANSLE EDİLMİYEN BÖLGEDEKİ C→T
POLİMORFİZMİ İLE ERKEN YAŞ MEME KANSERİ İLİŞKİSİ**

Nevin BALCI, Yüksek Lisans Tezi

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Samsun, Ocak 2004

Hücre döngüsü kontrolünün ve DNA tamirinin bozulması, meme kanseri de dahil olmak üzere kanser nedenleri arasındadır. Prohibitin proteini, retinoblastoma tümör baskılayıcı protein ile birleşerek hücrel transkripsiyon faktörü olan E2F'nin fonksiyonu sırasında transkripsiyonu baskılar. Hücre döngüsü sırasında G1 safhasından S safhasına geçişe engel olarak hücre proliferasyonunu engeller. Prohibitin transkriptinin antiproliferatif aktivitesi bu genin 3' transle edilmeyen bölgesinde (UTR) yer alır. Bu bölge içindeki C→T değişimi antiproliferatif etkisi olmayan bir varyant oluşturması nedeniyle meme kanseri ile ilişkilendirilmiştir.

Çalışmamızda erken yaş meme kanserli kadın hastalar ile prohibitin geni 3'UTR polimorfizmi arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için 58 meme kanserli hasta ve 52 sağlıklı kontrol DNA'ları polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve restriksiyon fragment length polimorfizmiyle (RFLP) analiz edilmiştir.

Meme kanserli hasta grubu ile kontrol grubu arasında T varyantı sıklıkları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak bir anlam bulunamamıştır (olasılık oranı: OR= 0.98 ; güven aralığı: 0.517 - 2.020)

Sonuç olarak, bulgularımız, erken yaş meme kanseri ile T varyantı arasında bir ilişki olmadığını göstermektedir. Bununla birlikte hasta grubu ve kontrol grubu sayısı artırıldığında olasılık oranının pozitif ya da negatif yönde değişmesi olasılığı vardır.

SUMMARY

THE RELATION BETWEEN EARLY AGE BREAST CANCER AND C→T POLYMORPHISM OF 3' UNTRANSLATED REGION OF PROHIBITIN GENE

Nevin BALCI, MsC Thesis

Ondokuz Mayıs University Samsun, January 2004

Disruption of cell cycle control and DNA repair is a cause of cancer, including breast cancer. The Prohibitin protein binds to retinoblastoma tumor suppressor protein leading to repression of transcription mediated by the cellular transcription factor E2F. It stops cell proliferation by preventing the transition from G1 phase to S phase during cell cycle. The antiproliferative activity of prohibitin transcript is located in the 3' untranslated region (UTR) of this gene. A C to T transition within this region creates a variant that does not have antiproliferative activity.

The DNAs of 58 early breast cancer patients and 52 healthy controls have been analysed by polimerase chain reaction (PCR) and restriction fragment length polymorphism (RFLP) to evaluate the relation between polymorphism of the prohibitin gene 3'UTR region and woman patients with early breast cancer in our study.

When we compared the frequencies of the T variants between the breast cancer patients group and the controls group, there was no statistically significant association (the odds ratio: OR= 0.98; confidence interval: 0.517 - 2.020).

As a result, our findings show that there was no association between the T allele and early onset breast cancer. However, there is a possibility that the odds ratio can change either positively or negatively if the sizes of the patients and the control groups are increased.

İÇİNDEKİLER

I.	GİRİŞ.....	1
II.	GENEL BİLGİLER.....	5
2.1.	Meme Kanserinin Epidemiyolojisi ve Etiyolojisi.....	5
2.2.	Meme Kanseri İçin Risk Faktörleri.....	6
2.2.1	Değiştirilemeyen Risk Faktörleri.....	6
2.2.2.	Yaşam Tarzıyla İlişkili Faktörler ve Meme Kanseri Riski.....	10
2.3.	Meme Kanserinin Erken Tanısı.....	14
2.4.	Meme Kanseri ve Kalıtım.....	15
2.5.	Meme Kanseri ve Genetik Polimorfizm.....	16
2.5.1.	Düşük penetranslı meme kanseri yatkınlık genleri.....	19
2.6.	Prohibitin Geni.....	25
2.7.	Meme Kanserinin Tedavisi.....	29
III.	MATERYAL VE METOT.....	31
3.1.	DNA İzolasyonu.....	31
3.1.1.	Solüsyonlar.....	31
3.1.2.	DNA İzolasyon Yöntemi.....	32
3.1.3.	DNA Miktarının Tayini.....	33
3.2.	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR).....	33
3.2.1.	PHB Geninin 3' UTR Bölgesi PCR Koşulları.....	34
3.3.	Agaroz Jel Elektforezi.....	36
3.3.1.	Solüsyonlar.....	36
3.3.2.	Jelin Hazırlanışı.....	36
3.3.3.	Agaroz Jel Elektforezi Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	36
IV.	BULGULAR.....	38
V.	TARTIŞMA.....	41
VI.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	43
VII.	KAYNAKLAR.....	44
VIII.	ÖZGEÇMİŞ.....	50

I. GİRİŞ

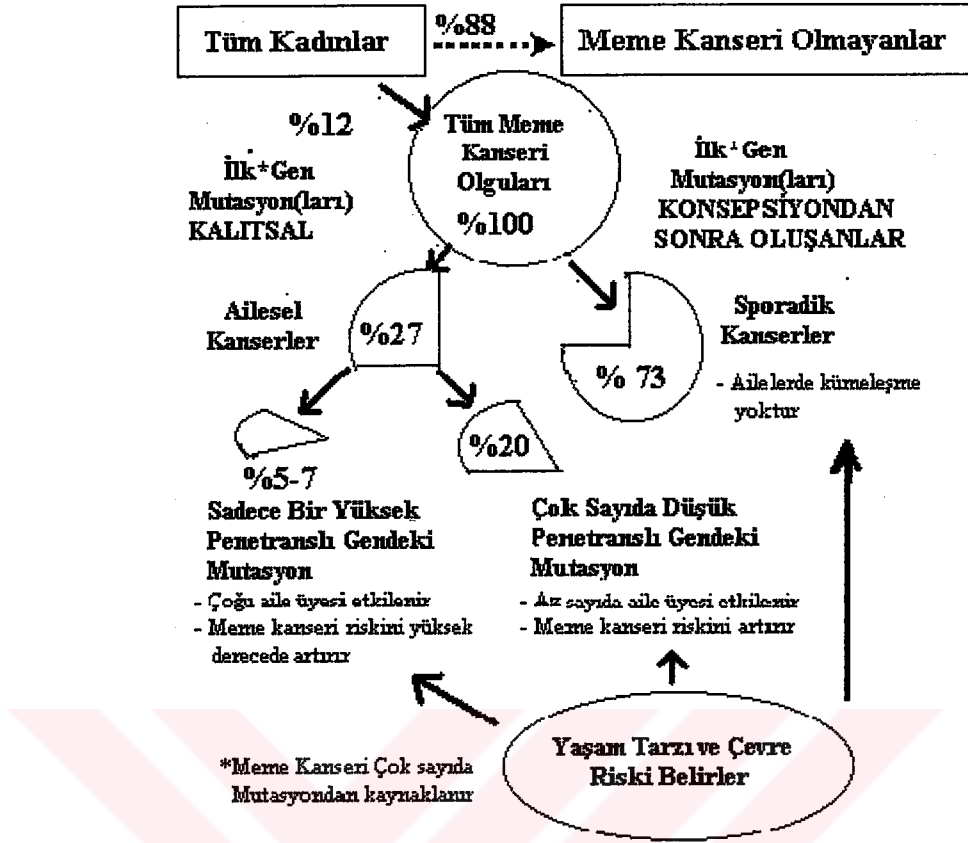
Meme kanseri gelişmiş ülkelerdeki kadınlarda en sık görülen kanserdir (Jong ve ark., 2002). Amerika'da her yıl yaklaşık 190.000 meme kanseri vakası gözlenmekte olup (Falkenberry ve Legare, 2002), yaklaşık 46.000 kadın bu hastalıktan ölmektedir (<http://www.ndsu.nodak.edu/instruct/mcclean/plsc431/index.htm>).

Meme kanseri genellikle kadınları etkilemekle birlikte nadir olarak erkeklerde de görülebilir. Çoğu kadın, istatistiksel olarak meme kanserine yakalanma riskini ve bu riskin belirlenmesinin tıbbi tedavide yol gösterici olup olmadığını öğrenmek istemektedir.

Kadınların çoğunda meme kanseri oluşmaz. Meme kanserinin oluşması çok sayıda kanserle ilişkili genin mutasyonu ile olur. Bu mutasyonların ilki, bir bireyin ebeveynlerinden aktarılabilir (familial kanser) veya doğumdan sonra oluşabilir (sporadik kanser). Kalıtsal kanserlerin çok az bir kısmını oluşturan yüksek penetranslı genlerdeki mutasyonlar, belirgin bir meme kanseri aile öyküsü ve yüksek meme kanseri riski ile ilişkilidir. Fakat, kalıtsal kanserlerin çoğunluğunu oluşturan düşük penetranslı genlerdeki mutasyonlar ise, düşük bir meme kanseri risk artışıyla ve daha zayıf meme kanseri aile öyküsüyle ilişkilidir. Meme kanseri vakalarının yaklaşık üçte ikisi sporadiktir, yani ender mutasyonlar sonucu ortaya çıkar. Bu olguların aile öyküsüyle hiçbir ilgisi yoktur ve bu tip olgularda ilk gen mutasyonları döllenmeden sonra meydana gelir (Şekil 1)

(<http://envirocancer.cornell.edu/FactSheet/General/fs48.inheritance.cfm?navigation=no>)

Tek yumurta ve çift yumurta ikizlerinde yapılan çalışmalar, meme kanserinin ne kadarının kalıtsal olduğu konusunda çok iyi bir ölçüt olmuştur. İsveç, Danimarka ve Finlandiya'daki ikizler kullanılarak yapılan çalışmada bütün meme kanseri olgularının yaklaşık dörtte birinin (%27) kalıtsal faktörlere bağlı olduğu görülmüştür. İskandinav ülkelerinde yapılan bu çalışmadan elde edilen sonuçların, diğer batı ülkelerinde de aynı olduğu düşünülmektedir (Lichtenstein ve ark., 2000).



Şekil 1. Tüm kadınlardaki meme kanseri risk değerleri

(<http://envirocancer.cornell.edu/FactSheet/General/fs48.inheritance.cfm?navigation=no>)

Meme kanserinin oluşumunda çok sayıda risk faktörü vardır. Meme kanseri için en önemli risk faktörü cinsiyettir. Genetik olmayan risk faktörleri menarş, menapoz ve ilk çocuk doğurma yaşıdır. Erken yaşta çocuk doğurma ve menapoz meme kanseri riskini azaltırken erken menarş bu riski artırmaktadır. Meme kanseri aile öyküsü, genetik faktörlere bağlı olduğundan meme kanseri riskini artırmaktadır. Hormon replasman tedavisi (HRT), emzirme (kaç yaşında, ne kadar süre emzirdiği ve kaç çocuk sahibi olduğu), oral kontraseptif kullanımı, kadınların fiziksel özellikleri (vücut ağırlığı ve yağın vücutta nerede toplandığı), alkol kullanımı, radyasyona maruz kalma, fiziksel aktivite ve çevre kirliliği gibi çevresel faktörler de risk faktörleri arasında yer alır (Falkenberry ve Legare, 2002).

Sporadik olan çoğu meme kanseri, aile öyküsünde meme kanseri bulunmayan kadınlarda gözlenir. Meme kanserlerinin yaklaşık %15-20'si kalıtsaldır. Meme kanseri riskindeki 2-3 katlık bir artış genel olarak meme kanserli bir anne ve kız kardeşin

varlığıyla ilişkilidir. Bir kadının meme kanseri riski, hasta olan akrabasının sayısı ve akrabalık derecesi kadar bu akrabalarının ilk teşhislerinin kaç yaşında konulduğuna da bağlıdır. Bu ailesel grup, çok sayıda nispeten zayıf genetik etkilerin, düşük penetranslı kanser yatkınlık genlerinin ve ortak olan çevresel risk faktörlerinin sonucu olabilir (Falkenberry ve Legare, 2002).

Mutasyona uğradığında meme kanserine de sebep olabilen en az iki önemli gen (BRCA1 ve BRCA2) vardır. Bu genler bütün meme kanserlerinin sadece %5-10'undan, kalıtsal meme kanserlerinin ise %30-70'inden sorumludur (Falkenberry ve Legare, 2002). Bu genler ebeveynlerden çocuklarına geçebilir ve mutasyona uğramış genleri taşıyan çocuklarda meme kanseri riski artar. BRCA1 (Breast Cancer 1) ve BRCA2 (Breast Cancer 2) genleri sırasıyla 17q21 ve 13q12.3'te lokalizedir. Bunlar otozomal dominant kalıtsal tümör baskılayıcı genlerdir. Bu mutasyonlu genleri taşıyan kadınlarda meme kanseri oluşma riski %90'dır. BRCA1 mutasyonu taşıyan erkeklerin hiçbirinde meme kanseri oluşma riski yoktur, fakat BRCA2 geni mutasyonu taşıyanlar yüksek riske sahiptir. Kalıtsal kanserler genç yaşta ortaya çıkar. Örneğin, 20 yaşında meme kanserli bir kadının kalıtsal tip meme kanseri olma ihtimali 50 yaşındaki bir kadından çok daha fazladır (Falkenberry ve Legare, 2002).

BRCA1 ve BRCA2 mutasyonları, meme kanserinde % 30-70 oranında kalıtsal yatkınlığa sebep olmasının yanı sıra, Li-Fraumeni sendromundaki soy hattı (germline) TP53 (Tümör Protein 53 = p53) mutasyonunu içeren diğer genlerdeki mutasyonlar da tanımlanmıştır. Bu sendromda karsinoma riski 35 yaşından sonra %50, yaşam boyu ise erkek ve kadınlarda sırasıyla %70 ve %90'dır. Cowden Sendromuyla ilişkili olan PTEN (Phosphatase and Tensin Homolog) genindeki soy hattı mutasyonlar meme kanseri oluşumuna da neden olmaktadır. Kalıtsal nonpoliposis kolon kanseriyle ilişkili olan Muir-Torre sendromunda da benign ve malign meme tümörleri meydana gelir. Peutz-Jeghers sendromu ile ilişkili olan STK11 (Serine/Threonine Protein Kinase 11) genindeki soy hattı mutasyonlar, erken yaş bilateral meme kanserinde artan riskle karakterizedir. Bu genlerdeki mutasyonlar kalıtsal meme karsinomalarının yaklaşık %2'sinden sorumludur (Falkenberry ve Legare, 2002).

Kromozom 11 de bulunan ATM (Ataxia Telangiectasia Mutated) genindeki mutasyonlar da meme kanseriyle ilişkilendirilmiştir ve genel popülasyonda BRCA1 ve BRCA2 mutasyonlarından daha yaygın olabilir. Ailesel meme kanserlerinin %7'si

ATM mutasyonlarıyla birleşmiş olabilir. ATM mutasyonlarının erkekler için meme kanseri riskini artırıp artırmadığı bilinmemektedir. AT (Ataxia Telangiectasia), otozomal resesif bir nörolojik sendromdur. ATM mutasyonunun her iki kopyasını da taşıyan ve AT sendromundan etkilenmiş kişiler arasında kanser insidansı genel popülasyondan 100 kat daha fazladır. Mutasyonun bir kopyasını taşıyan kadınlar (genel popülasyonun yaklaşık %1,4'ü) meme kanserine daha duyarlı olabilir (<http://www.ndsu.nodak.edu/instruct/mcclean/plsc431/index.htm>).

p53 geninde mutasyonu bulunan kadınlar da meme kanseri oluşumunda artan riske sahip olabilir. Fakat p53 genindeki mutasyonlar seyrek, 10.000 de 1 bireyi etkiler. p65 ve TSG101'deki (Tumor Susceptibility Gene) mutasyonlar da meme kanseri oluşumunda yüksek riskin nedenidir (<http://www.ndsu.nodak.edu/instruct/mcclean/plsc431/index.htm>).

Prohibitin (PHB) geninde yapılan çalışmalarda bu genin 3' transle edilmeyen bölgesindeki SNP'nin (Single nükleotit polimorfizm) meme kanserine yatkınlığa neden olduğu bulunmuştur. 17q21-22 bölgesinde bulunan Prohibitin geninin 3' transle edilmeyen bölgesinden kodlanan mRNA, hücre döngüsü sırasında G1 ve S safhaları arasında geçişe engel olarak hücre proliferasyonunu bloke eder. Bu nedenle Prohibitin tümör baskılayıcı bir gen'dir. Fakat Sitozin (C)'in, Timin (T)'e dönüşmesi şeklinde olan varyant inaktiftir ve hücre bölünmesini durduramaz. Birinci derece akrabaları arasında meme kanserli yakını bulunan kadınlarda, meme kanseri ile T alleli arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir. En yüksek ilişki de 50 yaş ve bunun altındaki kadınlarda tesbit edilmiştir (Jupe ve ark., 2001). Aile öyküsü olan bu kadınlarda genetik riskin tanımlanması, mammografi taramasına başlama yaşının belirlenmesinde yol gösterici olacaktır.

Erken tanı ve tedavi, meme kanserli bir kadının yaşama şansını artırmaktadır. Meme kanseri yayılmadan bulunabilirse, beş yıllık yaşama oranı % 90'dan fazla olmaktadır (Parker ve ark., 1997).

Bu çalışmada, Prohibitin geni 3'UTR bölgesindeki C→T polimorfizmi ile erken yaş meme kanseri arasında bir ilişki olup olmadığını belirlemeyi amaçladık.

II.GENEL BİLGİLER

2.1. Meme Kanserinin Epidemiyolojisi ve Etiyolojisi

Kadınlarda meme kanseri oluşumunu artıran risk faktörlerinin bazılarının bilinmesine rağmen, risk faktörlerinin çoğu ve bu risk faktörlerinin hücrelerin kanserleşmesine nasıl sebep olduğu tam olarak bilinmemektedir.

Hücrel proliferasyona neden olan ilk etki normal hücrelerin sayısının artmasına sebep olur. Bunu hiperplazi, displazi, karsinoma ve bunları, metastatik hastalığın gelişmesine neden olan ek mutasyonlar izler. Bilim adamları normal meme hücrelerinin kanserleşmesine neden olan DNA'daki mutasyonları belirlemeye çalışmaktadırlar. Bu yolda görev alan genler dört kategoriye ayrılabilir:

1. Tümör baskılayıcı genler
2. Proto-onkogenler
3. DNA onarım genleri
4. Karsinogen metabolizma genleri

Bazı genler, hücrelerimizin büyümesini, bölünmesini ve ölmesini kontrol eden bilgileri içerir. Hücre bölünmesini teşvik eden belirli genlere proto-onkogen denir. Hücre bölünmesini yavaşlatan veya hücrenin doğru zamanda ölmesini sağlayan genlere ise tumor baskılayıcı genler denir. Kansere, proto-onkogenleri uyaran ve tumor baskılayıcı genleri baskılayan DNA mutasyonlarının sebep olduğu bilinmektedir. Radyasyon veya karsinojenlerin etkisiyle, DNA hasara uğramış veya replikasyon sırasında yanlış bir eşleşme olmuş ise, DNA onarım genleri, DNA'nın bütünlüğünü sağlamak için enzim kodlarlar. DNA tamir genlerindeki fonksiyon kaybına sebep olan mutasyonların birikmesi sonucunda karsinojenik prosesi hızlanır. Karsinojen metabolizmasını düzenleyen enzimleri kodlayan genlerdeki mutasyonlar, metabolizma üzerine olan etkilerinden dolayı kanser gelişimine neden olabilirler. Tümör baskılayıcı genler, proto-onkogenler, DNA onarım genleri , karsinogen metabolizması ile ilgili genlerindeki mutasyonlar kalıtsal olabilir veya sonradan oluşabilir. Sonradan oluşan mutasyonlar, radyasyona veya kimyasal karsinojenlere maruz kalma sonucu veya hücrel replikasyon sırasında şans eseri meydana gelebilir. Belirli kalıtsal DNA mutasyonları, bu mutasyonları taşıyan bireylerde kanser oluşum riskini artırabilir ve bu durum da bazı ailelerde süregelen kanserlere neden olur

(<http://www.breastdiseases.com/genebr2.htm>).

Fakat, meme kanseriyle ilgili çoğu DNA mutasyonları, kalıtsal olmaktan çok kadının yaşamı sırasında meme hücrelerinde gelişir. Radyasyon veya kansere sebep olan kimyasallar proto-onkogenlerin ve/veya tümör baskılayıcı genlerin sonradan meydana gelen mutasyonlarına neden olabilir. Meme dokusunda milyarlarca meme hücresi vardır. Bu hücrelerden bir tanesinde meydana gelecek bir mutasyon, hücrenin kontrolden çıkarak devamlı bölünmesine ve meme tümörünün gelişmesine sebep olur.

2.2. Meme Kanseri İçin Risk Faktörleri

Risk faktörü, bir bireyin bir hastalığa yakalanma olasılığını artıran herhangi bir etkidir. Çeşitli kanser tiplerinin risk faktörleri farklıdır. Bir veya çok sayıda risk faktörüne sahip olmak, bireyde hastalık oluşacağı anlamına gelmez. Bir veya birkaç meme kanseri risk faktörü bulunan bazı kadınlarda hiç hastalık oluşmadığı gözlenirken, meme kanserli kadınlarda sıklıkla görünen bir risk faktörü de yoktur. (<http://www.cancer.org/eprise/main/docroot/CRI/content>). Meme kanserinden ölümün, yaşamboyu riski, birinci dereceden meme kanserli akrabası bulunmayanlar için %2.3, bir tane birinci dereceden meme kanserli akrabası bulunanlarda %4.2 ve iki tane birinci dereceden meme kanserli akrabası bulunanlarda %7.6'dır (<http://envirocancer.cornell.edu/FactSheet/General/fs48.inheritance.cfm?navigation=no>)

Meme kanserlerinin dörtte biri kalıtıma bağlıdır. Dörtte üçü ise, kadının maruz kaldığı biyolojik ve çevresel faktörlerin sonucudur. Çok çeşitli risk faktörleri vardır. Bireyin yaşı ve ırkı gibi bazı risk faktörleri değiştirilemez. Değiştirilebilen diğer risk faktörleri ise çevresel faktörler ve sigara içme, içki içme ve diet gibi bireysel tercihlerle ilişkilidir. Bazı risk faktörleri, diğerlerinden daha çok etkilidir. Bu çevresel ve yaşam tarzıyla ilişkili faktörler, genetik faktörlerle birlikte de hareket edebilirler. Bir kadının meme kanserine yakalanma riski yaşam boyunca değişkenlik gösterebilir (<http://www.cancer.org/eprise/main/docroot/CRI/content>).

2.2.1. Değiştirilemeyen Risk Faktörleri

Cinsiyet: Kadın olmak, meme kanseri oluşumu için başlıca risk faktörüdür. Çünkü kadınların erkeklerden daha fazla meme hücreleri olması ve bu meme hücrelerinin dişi hormonlarının büyüme teşvik edici etkisine sıklıkla maruz kalması nedeniyle

kadınlarda meme kanseri çok daha yaygındır. Erkeklerde de meme kanseri oluşabilir fakat bu oran, kadınlarda erkeklerden 100 kat daha fazladır (<http://www.cancer.org/eprise/main/docroot/CRI/content>).

Yaş: Cinsiyetten sonra en önemli risk faktörüdür. Meme kanseri, ilerleyen yaşla meydana gelen tipik bir hastalıktır. Bir kadında meme kanseri oluşma riski yaşla artar. İncelemeler meme kanserli kadınların %77'sinin 50 yaşın üstünde olduğunu göstermiştir. 30 yaşın altındaki kadınlar meme kanseri olgularının %0.3'ünü oluşturur. 30 yaşındaki kadınlar ise tüm olguların %3.5'ini içerir. 50 yaşlarındaki kadınların meme kanseri riski (1/400), 30 yaşındaki kadınlardan (1/4200) 10 kat fazladır (Tablo 1) (Falkenberry ve Legare, 2002).

Genetik Risk Faktörleri: Son yıllardaki çalışmalar, meme kanseri olgularının yaklaşık %10'unun direkt olarak meme kanseriyle ilişkili genlerdeki mutasyonlardan kaynaklandığını ve bunların çoğunun da BRCA1 ve BRCA2 genlerindeki mutasyonlarla ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu genler, hücreleri anormal büyümeye karşı koruyan proteinleri sentezleyerek kanseri önlemeye yardımcı olurlar. Bir bireyin ebeveyninden birinden kalıtsal olarak aktarılmış mutasyonlu bir geni varsa, meme kanseri riski artar. Kalıtsal olarak aktarılmış BRCA1 veya BRCA2 mutasyonu taşıyan kadınların %50-60'ında, 70 yaşına kadar meme kanseri oluşacaktır. BRCA1 ve BRCA2 gen mutasyonlarının kalıtsal meme kanserli ailelerin %80'inden sorumlu olduğu gösterilmiştir (Jong ve ark., 2002). Son çalışmalar bu riski %30 olarak belirlemiştir (Jong ve ark., 2002). Kalıtsal mutasyonlara sahip olan kadınların, ovaryum kanseri riski de artmaktadır. p53 tumor baskılayıcı genindeki mutasyonlar, lösemi, beyin tümörleri ve sarkomaların yanısıra kadınlarda meme kanseri riskini artırabilir. Li Fraumeni Sendromu da nadiren meme kanserine neden olur (Falkenberry ve Legare, 2002).

Tablo 1 : Kadınlarda yaşa bağlı meme kanseri riski (Feuer ve ark., 1993).

Kadınlarda Yaşa Bağlı Meme Kanseri Riski	
25 yaşına kadar	1/19,608
30 yaşına kadar	1/2,525
35 yaşına kadar	1/622
40 yaşına kadar	1/217
45 yaşına kadar	1/93
50 yaşına kadar	1/50
55 yaşına kadar	1/33
60 yaşına kadar	1/24
65 yaşına kadar	1/17
70 yaşına kadar	1/14
75 yaşına kadar	1/11
80 yaşına kadar	1/10
85 yaşına kadar	1/9
Yaşamboyu	1/8

Meme Kanserli Hastanın Aile Öyküsü: Çoğu meme kanseri sporadik olup herhangi bir aile öyküsü yoktur. Meme kanserlerinin yaklaşık %15-20'si aile öyküsüyle ilişkilidir (Falkenberry ve Legare, 2002). Bir kadının meme kanseri riski, hasta olan akraba sayısı ve akrabalık derecesi kadar akrabalarının kaç yaşında bu hastalığa yakalandığı ile de yakından ilişkilidir. Ailesel meme kanserlerinin, nispeten zayıf, çok sayıda genetik etkinin, düşük penetranslı kanser yatkınlık genlerinin ve ortak çevresel faktörlerin etkisiyle oluştuğu tahmin edilmektedir. Yakın akrabalarında meme kanseri bulunan kadınların meme kanseri riski daha yüksektir. Meme kanserli sadece bir tane birinci dereceden akrabanın (anne, kız kardeş veya kız evlat) bulunması kadının riskini yaklaşık 2 katına çıkarır , meme kanserli iki tane birinci dereceden akrabanın bulunması ise riski 5 katına çıkarır. Erkek aile üyelerinde de meme kanseri bulunan kadınlar meme

kanseri için artan riske sahiptir (Tablo 2). Meme kanseri öyküsü bulunan kadınlar meme kanserli bütün kadınların sadece % 5-7' sini oluşturur

(<http://envirocancer.cornell.edu/FactSheet/General/fs48.inheritance.cfm?navigation=no>)

Meme kanserli aile öyküsü bulunan kişilerde meme kanseri riskinin daha çok olmasının sebebi, aile üyeleri arasındaki besin, enfeksiyonlara ve sigara dumanına maruz kalma gibi ortak çevresel karsinojenik faktörler veya ortak genetik faktörler olabilir.

Tablo 2. Aile öyküsü ile meme kanseri arasındaki ilişki

(<http://www.breastdiseases.com/genebr2.htm>)

Orta-Riskli Ailelerdeki Meme Kanseri Risk Değerleri		
Hasta Akraba	Hasta Akrabanın Yaşı,	80 Yaşına Kadar Artan Meme Kanseri Riski, %
Birinci Dereceden Bir Kişi	< 50	13-21
	≥ 50	9-11
İkinci Dereceden Bir Kişi	< 50	10-14
	≥ 50	8-9
Birinci Dereceden İki Kişi	Her ikisi < 50	35-48
	Her ikisi ≥ 50	11-24
İkinci Dereceden İki Kişi	Her ikisi < 50	21-26
	Her ikisi ≥ 50	9-16

Meme Kanserli Hastanın Öyküsü: Bir memesinde kanser olan bir kadın, diğer memesinde veya aynı memenin başka bölgesinde yeni bir kanser oluşumu için 3-4 kat artan riske sahiptir. Bu, ilk kanserin tekrar etmesinden farklı bir şeydir. (http://www.cancer.org/eprise/main/docroot/CRI/content/CRI_2_4_2X_What_are_the_risk_factors_for_breast_cancer_5)

İrk: Beyaz kadınlar, Siyah kadınlardan daha fazla meme kanseri riskine sahiptir. Ancak Siyah kadınlardaki ölüm oranları daha fazladır. Çünkü, Siyahlardaki kanser sıklıkla

meme kanserinin tedavisinin ve bakımının zor olduğu ilerlemiş safhalarda teşhis edilirler. Asyalı, İspanyol ve Amerikalı Hintli kadınlar meme kanseri için düşük riske sahiptir.

(http://www.cancer.org/eprise/main/docroot/CRI/content/CRI_2_4_2X_What_are_the_risk_factors_for_breast_cancer_5)

Önceki Meme Biopsisi: Meme biopsisinde erken yaşta “tipik olmayan proliferatif meme hastalığı ve normal hiperplazi” teşhisi konan kadınların meme kanseri için yüksek riski vardır (diğer kadınlardan 1,5-2 kat fazla). Önceki biopsisinde “atipik hiperplazi”, kadının meme kanseri riskini 4-5 kat artırır. Proliferatif meme hastalığı olmayan fibrokistik değişiklikler teşhisi konmuş olmak, meme kanseri riskini etkilemez. (http://www.cancer.org/eprise/main/docroot/CRI/content/CRI_2_4_2X_What_are_the_risk_factors_for_breast_cancer_5).

Önceden Alınan Meme Işın Tedavisi: Çocuk veya genç kızken göğüs radyasyon tedavisi gören kadınlar, meme kanseri için anlamlı derecede artan riske sahiptir.

Menstrual Peryot: Menstruasyona erken yaşta (12 yaşından önce) başlayan veya menapoza geç yaşta giren (50 yaşından sonra) kadınların meme kanseri riski yüksektir. Menarşdaki her 2 yıllık gecikme meme kanseri riskini %10 düşürür. Eğer menapoz 55 yaşın üstünde gerçekleşirse risk 2 katına çıkar. Bunun sebebi tam aydınlatılmamakla birlikte her iki durum da kadınların östrogene maruz kalma süresini artırır. Erken menarş ve geç menapoz, aynı zamanda ovulasyon döngüsünden dolayı progesterona daha fazla maruz kalınmasına sebep olur. Fakat tekrarlayan ovulasyonun mu, yoksa uzun süre östrogene maruz kalmanın mı riski arttırdığı kesin değildir. (http://www.cancer.org/eprise/main/docroot/CRI/content/CRI_2_4_2X_What_are_the_risk_factors_for_breast_cancer_5).

2.2.2. Yaşam Tarzıyla İlişkili Faktörler ve Meme Kanseri Riski

Oral Kontraseptif Kullanımı: Yapılan çalışmalar, meme kanseri riskinin, oral kontraseptif (doğum kontrol hapları) kullanan kadınlarda, kullanmayanlara oranla daha

yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Oral kontraseptif kullanımını 10 yıl önce bırakan kadınların meme kanseri riskinde artış olmadığı görülmüştür

(http://www.cancer.org/eprise/main/docroot/CRI/content/CRI_2_4_2X_What_are_the_risk_factors_for_breast_cancer_5).

Çocuk Doğurmak: Hiç çocuğu olmayan kadınlarda meme kanseri riski yüksektir. Çocuk sahibi olmak meme kanseri riskini düşürmektedir, fakat ilk çocuğu 30 yaşından sonra olan kadınlarda bu risk artmaktadır. İlk çocuklarına 18 yaşından önce sahip olan kadınların da ilk çocuğu 30 yaşından sonra olanlarınkinin yarısı kadar bir riski vardır. Sonraki gebelik yaşları da riski etkilemektedir. Acaba erken gebelik, meme epitelyumunu karsinogeneze koruyor mu, veya gecikmiş gebeliğin negatif etkisi tekrarlayan ovulasyonların sonucu mu? Bu sorulara henüz cevap bulunamamıştır. Sterilizasyon için tüplerini bağlatan kadınlarda da riskin düştüğü gösterilmiştir. (http://www.cancer.org/eprise/main/docroot/CRI/content/CRI_2_4_2X_What_are_the_risk_factors_for_breast_cancer_5).

Hormon Replacement Tedavisi: Çoğu çalışma, menapozdan sonra HRT'nin uzun süre kullanımının (5 yıl veya daha fazla) meme kanseri riskini arttırabileceğini göstermiştir. Eğer uterus varsa, doktorlar genellikle östrojen ve progesteron verirler. Östrojen, menapozal semptomları ve osteoporozisi önlemek için verilir. Fakat, uterusu kanser gelişimi riskini arttırır. Progesteron uterusu kanseri önlemeye yardım eder. Eğer uterus yoksa, sadece östrojen verilir.

HRT uygulamasının riski sadece şu anki kullanıcılara ve yakın zaman önce kullanmış olanlardır. Bu kadınların meme kanseri riski, HRT yi bıraktıktan sonra 5 yıl içinde normal popülasyonunkine ulaşır. HRT, kemiklerin kırılmasını azaltır. Menopozdan sonra HRT'nin kullanılma kararı, olası riskler tartışıldıktan sonra kadın ve doktoru tarafından verilmelidir

(http://www.cancer.org/eprise/main/docroot/CRI/content/CRI_2_4_2X_What_are_the_risk_factors_for_breast_cancer_5).

Emzirme: Bazı çalışmalar, emzirmenin, özellikle 1,5-2 yıl sürdüyse, meme kanseri riskini azaltabileceğini göstermiştir

(http://www.cancer.org/eprise/main/docroot/CRI/content/CRI_2_4_2X_What_are_the_risk_factors_for_breast_cancer_5).

Alkol: Alkol tüketimi, meme kanseri gelişimiyle bağlantılıdır. Alkolün aynı zamanda ağız, boğaz ve özafagus kanserlerinin gelişmesinde de artan riske sahip olduğu bilinmektedir

(http://www.cancer.org/eprise/main/docroot/CRI/content/CRI_2_4_2X_What_are_the_risk_factors_for_breast_cancer_5).

Obezite ve Yüksek Yağlı Besinler: Özellikle menapozdan sonra obezite, kadınlarda meme kanserini arttıran bir faktördür. Östrogen hormonunun çoğunluğunun ovaryum tarafından üretilmesine rağmen, yağ dokusu bazı diğer hormonları östrogene çevirebilir. Yani fazla yağ dokusuna sahip olmak, kadının östrogen seviyesini arttırabilir ve bu da onun meme kanseri geliştirme olasılığını arttırır. Fakat kilo ve meme kanseri arasındaki ilişki karışıktır. Mesela, yetişkinlikte kilosu artan kadınlarda risk artar ama çocukluğuna kadar aşırı kilolu olanlarda artmaz. Bel bölgesindeki fazla yağ, kalça bölgesindeki aynı miktardan daha fazla riski arttırır

(http://www.cancer.org/eprise/main/docroot/CRI/content/CRI_2_4_2X_What_are_the_risk_factors_for_breast_cancer_5).

Fiziksel Aktivite: Yapılan çalışmalar, gençlikteki yorucu egzersizlerin meme kanserine karşı yaşam boyu koruyuculuk etkisi olduğunu göstermiştir. Yetişkinlerde de orta derecede fiziksel aktivite meme kanseri riskini azaltabilir. Bu konudaki çalışmalar devam etmektedir

(http://www.cancer.org/eprise/main/docroot/CRI/content/CRI_2_4_2X_What_are_the_risk_factors_for_breast_cancer_5).

Bunların dışında meme kanseriyle ilişkisi kesin olarak ortaya konmamış olan bazı faktörler de bulunmaktadır: antiperspirantlar, sigara kullanımı, silikon taktırma, düşük sayısı gibi.

Bazı risk faktörlerinin nisbi oranları Tablo 3'te gösterilmektedir.

Tablo 3. Bazı risk faktörlerinin nisbi oranları
(<http://www.breastdiseases.com/genebr1.htm>)

MEME KANSERİ RİSK BELİRTEÇLERİ	
Faktörler	Nisbi Oran
Aile Öyküsü	
Meme kanserli birinci dereceden akraba	1.8
Premenapozal meme kanserli birinci dereceden akraba	3.0
Postmenapozal meme kanserli birinci dereceden akraba	1.5
Premenapozal bilateral meme kanserli birinci dereceden akraba	9.0
Postmenapozal bilateral meme kanserli birinci dereceden akraba	4.0-5.4
Menstrual Öykü	
12 yaşından önce menarş	1.7-3.4
17 yaşından sonra menarş	0.3
45 yaşından önce menapoz	0.5-0.7
45-54 yaş arası menapoz	1.0
55 yaşından sonra menapoz	1.5
40'dan fazla menstrual yıl içeren 55 yaşından önce menapoz	2.5-5.0
35 yaşından önce ovaryumlardan birinin alınması	0.4
Ovulasyonsuz menstrual döngüler	2.0-4.0
Gebelik Öyküsü	
20 yaşından önce gebelik	0.4
20-34 yaşları arasında ilk gebelik	1.0
35 yaşından sonra ilk gebelik	1.5-4.0
Hiç doğurmayan kadın	1.3-4.0
İnvazif Olmayan Meme Hastalığı	
Atipik lobüller hiperplazi	4.0
İn situ lobüller karsinoma	7.2
Diğer Neoplazmalar	
Kontralateral meme kanseri	2.0-10.0
Çoğu süt bezlerinin kanseri	4.0
Uterus kanseri	2.0

2.3. Meme Kanserinin Erken Tanısı

Meme kanserinin erken yaşta teşhis edilebilmesi için;

-40 yaş ve üstü kadınlar her yıl mammografi yaptırmalıdır.

-20-39 yaşları arasındaki kadınlar her 3 yılda bir, bir sağlık uzmanına klinik meme muayenesi yaptırmalıdır. 40 yaşından sonra ise bu her yıl yaptırılmalıdır.

-20 yaş üzerindeki bayanlar her yıl kendi kendine meme muayenesi (BSA) uygulamalıdır. Eğer meme veya koltukaltı bölgesinde bir yumru veya kabarıklık, deri kaşıntısı, meme ucu ağrısı, meme ucunun veya meme derisinin kızarıklığı veya kabuklaşması ve meme ucundan süt dışında bir maddenin akması durumunda hemen bir doktora görünmelidir

(http://www.cancer.org/eprise/main/docroot/CRI/content/CRI_2_2_3X_How_is_breast_cancer_found_5?sitearea=CRI).

Mammografi: Mammogram, memenin X-ışını görüntüsüdür. Diagnostik mamografi, yukarıda özetlediğimiz gibi semptomlara sahip kadınlardaki meme hastalıklarını teşhis etmek için kullanılır. Tarama mammografi ise asemptomatik olan yani herhangi bir meme problemi bulunmayan kadınlarda meme hastalıklarını araştırmak için kullanılır. Çoğu insan X-ışınlarına maruz kalmaktan endişelenir. Fakat radyasyonun miktarı şu ana kadar meme kanseri riskini önemli derecede artırmamıştır. Bu işlem meme dokusunun siyah beyaz bir resminin geniş bir levha şeklindeki kırmızı bir filme geçmesini sağlar ve bir radyolog tarafından yorumlanır

(http://www.cancer.org/eprise/main/docroot/CRI/content/CRI_2_2_3X_How_is_breast_cancer_found_5?sitearea=CRI).

Bir mammogram, abnormal bir alanın kanser olduğunu kanıtlamaz. Kanser olup olmadığını onaylamak için az miktarda doku alınmalı ve mikroskop altında incelenmelidir. Bu işleme biopsi denir. Mammografi yaptıranların sadece %8-10'una biyopsi gerekir ve bunların %80'inde kanser görülmez

(<http://www.cancer.org/eprise/main/docroot/CRI/content>).

2.4. Meme Kanseri ve Kalıtım

Tablo 4: Meme kanseri gösteren otozomal dominant kalıtmı genetik sendromlar (<http://www.breastdiseases.com/genebr2.htm>)

KALITSAL MEME KANSERİ		
GEN	SENDROM	BELİRTİLER
BRCA1	Meme/Ovaryum, Özel Bölgesel Meme Kanseri	Meme, ovaryum, prostat ve kolon kanserleri
BRCA2	Meme/Ovaryum, Özel Bölgesel Meme Kanseri	Erkek meme kanserini de içeren meme kanseri, ovaryum, prostat, melanom ve pankreatik kanser
TP53	Li-Fraumeni	Sarkoma, meme ve beyin kanseri, lösemi, lenfoma ve adrenal kanser
MHS2 MLH1 PMS1 PMS2	Muir-Torre	Kolon, endometriyal, ovaryum, üroepitelyal, safra yolu, meme kanseri, yağ bezi dokusu tümörleri ve keratoakantom
ATM	Ataxia telangiectasia (heterozigotlar dahil)	Lösemi, lenfoma, meme kanseri
CD	Cowden Disease	Meme ve tiroid kanseri, deride çok sayıda hamartoma ve GI yol
P-J	Peutz-Jeghers	GI hamartomalar, mucocutaneous pigmentasyon, meme, ovaryum ve testiküler tümörler

Geniş ailelerin klinik araştırması ile meme kanseri gösteren otozomal dominant kalıtmı en az 7 kalıtsal sendrom belirlenmiştir (Hoskins ve ark., 1995). En yaygın

olanı kalıtsal meme kanseri ve meme-ovaryum sendromudur. Nadir olan diğer genetik sendromlarda da meme kanseri görülmektedir (Tablo 4) (Hoskins ve ark., 1995).

2.5. Meme Kanseri ve Genetik Polimorfizm

BRCA1 ve BRCA2'nin keşfinden bu yana, BRCA1 ve BRCA2'nin kalıtsal meme kanserine yatkınlığın sadece küçük bir bölümünden sorumlu olduğu açık hale gelmiştir. Her iki meme ve ovaryum kanserine yatkınlık için belirgin bir otozomal dominant kalıtımı olan bütün aileler, BRCA1 ve BRCA2'deki mutasyonları içerir. Meme Kanseri Bağlantı Konsorsiyumu (BCLC) tarafından yapılan geniş bir çalışmada dört veya daha fazla erken yaş meme kanseri olgusu bulunan bu ailelerin % 67'sinin BRCA1 ve BRCA2 ile bağlantısına ilişkin bir kanıt bulunamamıştır (Ford ve ark., 1998). Daha küçük mutasyonların temel alındığı çalışmalar, meme kanserli ailelerin çoğunluğunun BRCA1 ve BRCA2'deki germline mutasyonlardan kaynaklanmadığına başka kanıtlar da sağlamıştır (Serova ve ark., 1997; Schubert, 1997; Rebbeck, 1996; Vehmanen, 1997). Dahası, BRCA1 ve BRCA2 ile ilişkili ailelerin tanımlanması için 45 yaşından önce meme kanseri tesbiti konmuş probandlar kullanılarak PCR esaslı mutasyon analizleriyle yapılan geniş bir vaka-kontrol çalışmasında, vakaların anne ve kızkardeşlerinde meme kanserleri riskinin sadece %16'sı bu iki gendeki mutasyonlara bağlanmıştır (Peto ve ark., 1999).

İyi tanımlanmış yüksek penetranslı genler dışında meme kanserine yatkınlığı artıran başka genler de bulunabilir. Bu genlere aday olarak proto-onkogenler ve metabolik, östrojen ve immunomodulator yollarda görev alan genler gösterilebilir (Jong ve ark., 2002). Bu genlerin her biri meme kanseri riskinin azalmasında az da olsa rol oynarlar. Düşük penetranslı olarak tanımlanan bu genlerdeki mutasyonlar geniş bir kitlede görüldüğü için bu genlerce oluşturulabilen meme kanserinin popülasyonu etkileme riski (PAR=Population affected risk) dikkate değerdir ve BRCA1 ve BRCA2 gibi yüksek penetranslı seyrek mutasyonların sebep olduğu PAR'dan yüksektir (Jong ve ark., 2002). Düşük penetranslı genlerdeki varyant veya polimorfizmler, meme kanserinin nisbi risk artışlarıyla ilişkilidirler. Bu tür varyantlar, popülasyonda nisbeten daha yaygındır ve genel popülasyonda BRCA1 ve BRCA2 gibi yüksek penetranslı kanser yatkınlık genlerindeki mutasyonlardan daha niteleyici bir riske sahiptirler. Bu yüzden meme kanserlerinde, düşük penetranslı genlerdeki varyantlar, Amerika'da

%3'den az olduğu tahmin edilen BRCA1 ve BRCA2 germline mutasyonlardan daha fazla orandadır (Tablo 5) (Newman ve ark., 1998).

Tablo 5: Yüksek ve düşük penetranslı genlere bağlı populasyonu niteleyici risklerin karşılaştırılması (Katherina ve ark., 2001)

Gen	Riskli allel sıklığı	Etki büyüklüğü	Populasyon niteleyici risk
Yüksek penetrans	1/1000	RR = 8.5	2
Düşük penetrans	560/1000	RR = 1.5	22

RR: göreceli risk

Polimorfizmler (populasyonda %1'den fazla sıklıkla görülen iki veya daha fazla allelin bulunması durumudur) biyolojik önemlerinden dolayı çalışılmaktadır. Bazı polimorfizmler, kadınların replasman östrojenleri kullanımı gibi bazı çevresel faktörlere duyarlılıklarındaki farklılıktan sorumludur (Jong ve ark., 2002). Düşük penetranslı gen mutasyonları, bireylerin çevresel faktörlerden daha çok etkilenmesine sebep olarak meme kanseri risklerini artırabilir. Bir kişi diğerinden 10-200 kat daha duyarlı olup bu yüzden kanser gözlenirken aynı etkiye maruz kalan diğerlerinde gözlenmeyebilir. Düşük penetranslı gen mutasyonlarının çevresel faktörlerle olan ilişkileriyle birlikte tanımlanmasıyla özgül önlemler almak mümkün hale gelebilir.

Meme kanseriyle ilişkili olabilecek düşük penetranslı genler belirlendi, fakat bu genler ile ilgili çalışmalar henüz başlangıç aşamasında olduğu için meme kanseriyle ilişkileri tam olarak anlaşılmadı. Çalışmalar, bu genlerdeki polimorfizm olarak adlandırılan değişik formlara (varyantlara) odaklandı. Polimorfizmlerin, değişen düzeylerde biyolojik aktivitelerinin olduğu gösterilmiştir. Polimorfizmlerin farklı düzeydeki biyolojik aktiviteleri, farklı meme kanseri riskleriyle ilişkilendirilebilir. Ürünleri, eşeyssel hormon fonksiyonunda, gen mutasyonlarının tamirinde, kansere sebep olan kimyasalların zararsız hale getirilmesinde veya kanseri kendi başına önleyen veya arttıran genlerde görülen polimorfizmler değerlendirilmektedir. Bu araştırma sahası,

meme kanseri yatkınlığı yüksek olan diğer grup kadınların tanımlanmasını sağlayabilir (<http://envirocancer.cornell.edu/FactSheet/General/fs48.inheritance.cfm?navigation=no>)

Polimorfizm çeşitlerinden olan tek nükleotid dizi değişiklikleri (değişme, delesyon veya insersiyon), 1000 baz çiftinde bir sıklık değeriyle, insan DNA çeşitliliğinin en büyük kaynağıdır. Dizi değişikliklerinin bir çoğu, tek gen hastalıklarının nedeni olarak tanımlanmıştır veya kanser, kardiyovasküler ve infeksiyonel hastalıkları içeren multifaktoriyel hastalıklara olan kalıtsal yatkınlıkla ilişkilendirilmiştir. Dizi değişiklikleri, aynı zamanda, obezite ve bireyin ilaçlara cevabı gibi hastalıkla ilgili olmayan yolların da genetik temelini oluşturur. Dahası, single nükleotid polimorfizmler (SNPs) gen keşfi, popülasyon çalışmaları ve bireysel tanımlanma için önemli genetik markırlardır

(<http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/P/Polymorphisms.html>).

Meme kanseri, İngiltere’de 1/12 ve Amerika’da 1/8’lik sıklık ile Batı dünyasında yaygın bir hastalıktır (Pharoah ve Mackay, 1998). Meme kanser olgularının %10-15’inde hastalık aile öyküsü olmasına rağmen sadece %5’i BRCA1 ve BRCA2 gibi genlerdeki ender gözlenen yüksek penetranslı mutasyonlarca açıklanabilmektedir. Meme kanser hastalarının birinci derece akrabaları, genel popülasyona oranla 2 kat risk artışına sahiptir ki bunların çoğunluğu BRCA1/2 tarafından oluşturulmaz. Ailesel riskin bir kısmı ortak çevreye bağlı olsa da, meme kanserine yatkınlığı değiştiren diğer, yaygın olan düşük penetranslı genetik varyantlar da olabilir (Couglin ve Piper, 1999).

Yaygın olarak bulunan düşük penetranslı allellerin tanımlanmasında sıklıkla kullanılan deneysel model, ilişkilendirme çalışmalarıdır. Bu modelde, polimorfik bölgelerin sıklıkları, farklı fenotiplerdeki gruplar arasında karşılaştırılır. Amaç hastalık riski ile nedensel olarak ilişkili kurulabilecek polimorfizmleri çalışmaktır. Fenotip araştırmalar, serum lipit düzeyi gibi değişken veya vaka-kontrol çalışmaları gibi açık olabilir. Kullanılan en basit polimorfizmler, çoğunlukla SNP’lerden kaynaklanan bialleliklerdir ve üç farklı genetik sınıf oluşturur: yaygın homozigot alleli, heterozigot ve ender homozigot alleli. CYP19’daki (Cytochrome P450) (TTTA)_n polimorfizmi gibi multiallelik, tekrar uzunluk polimorfizmleri (mikrosatellitler) de kullanılabilir, fakat bunlar genellikle çok sayıda genotip oluştururlar. Genotipler, analizi kolaylaştırmak için sıklıkla gruplandırılırlar, fakat gruplandırmanın ırksal bir stratejisi uygulanarak yapılması en doğrudur. Dahası, polimorfizmin kendisi fonksiyonel olmadıkça,

mikrosatellitlerdeki daha yüksek mutasyon oranı, daha zayıf ilişkileri gösterir (örn: androjen reseptör poliglutamin yolu ve meme kanseri riski). Düşük penetranslı allellerin tanımlanmasında popülasyonların kullanıldığı genetik ilişkilendirme çalışmaları, bağlantı çalışmalarına göre daha güçlüdür (Risch ve Merikangas, 1996). Ancak, şu an ilişkilendirme çalışmaları sadece aday genlerde gerçekleştirilmektedir (Dunning ve ark., 1999).

İlişkilendirme çalışmaları ile tanımlanan ilk düşük penetranslı meme kanseri yatkınlık lokusu HRSA1 (c-Ha-Ras-1) minisatellitidir (Krontitiris ve ark., 1993). Bunun 30 alleli vardır ve dördü yaygındır. Geri kalanının toplam 0.006'lık frekansı vardır ve ender olarak kabul edilirler. Bu ender allellerin meme kanserinin nisbi riskinde 1.9 katlık bir artışla ilişkili olduğu bulunmuş (ve diğer kanserlerde de artan risk) ve bütün meme kanseri insidansının % 9'undan sorumlu olduğu gösterilmiştir. Fakat, bu ilişki altında yatan moleküler mekanizma belirsizliğini korumaktadır (Dunning ve ark., 1999).

Meme kanserine yatkınlık ile ilişkili olduğu düşünülen diğer genlerle de ilişkilendirme çalışmaları uygulanmıştır. Bunun için çalışılan aday genler 3 büyük gruba ayrılmıştır; steroid hormon metabolizmasında rol oynayan proteinleri kodlayan genler, karsinogen metabolizması proteinlerini kodlayan genler ve aile çalışmalarından elde edilen TP53 ve BRCA1 gibi genler (Dunning ve ark., 1999).

2.5.1. Düşük penetranslı meme kanseri yatkınlık genleri

Proto-onkogenler, metabolik yol genleri, östrojen yolu genleri ve immunomodülatör yol genleri gibi çok sayıda potansiyel olan düşük penetranslı meme kanseri yatkınlık genleri bulunmaktadır (Jong ve ark., 2002). Düşük penetranslı genlerin meme kanseriyle ilişkisini araştıran polimorfik çalışmalar Tablo 6'da gösterilmiştir.

Proto-onkogenler

Proto-onkogenler, normal hücre büyümesi ve farklılaşmasının kontrolünde görev alırlar. Proto-onkogenlerdeki mutasyonlar, hücre döngüsünde bozulmalara neden olur ve abnormal büyüme ve farklılaşma sonucunu doğurabilir. Bilinen proto-onkogenler RAS genleri (HRSA1), HER2 (hairy-related 2) geni ve myc (myelocytomatosis) genleridir (Jong ve ark., 2002).

Karsinojen Metabolizma Genleri

Metabolik yol enzimleri, kimyasal bileşenlerin detoksifikasyonundaki olası rollerinden dolayı ilgi çekmektedir. Sitokrom p450 ailesi, GST (glutathione S-transferase) ailesi ve NAT1 (N-Acetyltransferase 1) ve NAT2 (N-Acetyltransferase 2) genleri, karsinojenler gibi toksinlere cevap veren metabolik yol genleridir. Sitokrom p450 ailesi proteinleri, CYP1A1 (P4501A1), CYP1B1 (P4501B1), CYP2D6, CYP2E1, faz I enzimleri olarak bilinirler. CYP1A1 ve CYP2D6 enzimleri sigara dumanında bulunan karsinojenlerce aktifleşirler. CYP2E1 enzimi etanolü metabolize eder. Genel olarak, bu enzimler metabolik olarak karsinojenleri aktive ederler (Jong ve ark., 2002). Faz I enzim aktivitesinin artışıyla ilişkili bir genotip meme kanseri riskini artırabilir (Jong ve ark., 2002). NAT (NAT1, NAT2) ve GST (GSTM1, GSTT1, GSTP1) ailesi proteinleri faz II enzimleri olarak bilinirler. Bu enzimler metabolik yolla karsinojenleri inaktive ederler. Bu yüzden azalan faz II aktivitesiyle ilişkili bir genotip meme kanseri riskini artırır (Jong ve ark., 2002).

Steroid Hormon Metabolizma Genleri

DeneySEL, klinik ve epidemiyolojik çalışmalar, östrojen ve progesteronun normal meme dokusunun farklılaşması ve büyümesinde rol oynadığını göstermiştir (Weber ve ark., 2000). Uzun süre veya artan östrojene maruz kalmak meme kanseri riskini arttırmaktadır. Endojen ve eksojen hormonlar, hücre proliferasyonunu ve böylece seyrek olarak genetik hataların birikme olasılığını artırır. Meme kanserinde östrojen dozu ile ilişkilendirilen risk faktörleri menarş, ilk hamilelik ve menapoz yaşı, gebelik sayısı ve emzirmedir. Aktif östrojen olan östrodiolün üretimini, cinsiyet hormonu biyosentez yolunda olan genler etkilerler. Çoğu östrojen metabolitleri, direkt veya indirekt olarak oksidatif DNA hasarına sebep olabilir (Zhu ve Conney, 1998). Bu yoldaki genler sitokrom p450 ailesinden olan CYP17 (östrojen, progesteron ve androjenleri dengeler), CYP19 (androjenlerin östrojenlere dönüşmesini katalizler, lokal östrojen seviyesini belirler), ve ayrıca EDH17B2'dir (17 β -hidroksisteroid dehidrogenaz tip 2) (östrojen ve östrodiol arasındaki reaksiyonu katalizler) (Dunning ve ark., 1999).

Hormonların varlığı kısmen katabolizma ile kontrol edilir ve katekol östrojenler (2 hidroksi-östrojenler), östrojenlerin en büyük yıkım ürünüdür. COMT (Catechol-O-metiltransferaz), konjugasyon ve inaktivasyonları sırasında katekol-östrojenleri

metilleyen bir enzimdir. Bunun iki formu vardır: biri membrana bağlanan ve diğeri de sitozolik; her ikisi de meme dokusunda eksprese olur ve metilasyon aktivitesindeki farklılıklarla ilişkili bir polimorfizmi paylaşır (Couglin ve Piper, 1999).

Cinsiyet hormonları, ilk önce özel reseptörlere bağlanarak ve hormona cevap veren (responsive) genlerin downsteam'deki promoter dizilerine sırasıyla bağlanan kompleksler oluşturarak, hormona cevap veren genlerin aktivasyonunu kontrol eder. Bu yüzden steroid hormon reseptör genlerinin ER (estrogen receptor) (çok sayıda büyüme faktörünün transkripsiyonunu düzenler), PR (progesteron receptor) ve AR (androgen receptor) meme kanseri yatkınlık genleri olabileceği öne sürülmektedir.

UGT1A1 (Uridine diphospho-glucuronosyltransferase 1A1) geninin promoter bölgesindeki TA tekrar polimorfizminin enzim aktivitesinde azalmaya neden olduğu görülmüştür (Jong ve ark., 2002). Yüksek derecede polimorfik HLA antijenlerinin esas görevi, peptid parçalarına bağlanmaktır; böylece sitotoksit T lenfositlerinde ve doğal katil hücrelerde optimum olarak bulunabilir. HLA antijenleri, bağışıklıkta, kendini tanımada, hücre ve doku farklılaşmasında başlıca rol oynarlar (Jong ve ark., 2002). TNF α (Tumour necrosis factor α) geni, iltihabi cevaplarda ve tümör hücrelerine karşı bağışıklık aktivitelerinde merkezi bir araçtır. HSP70 (heat shock protein 70), tümör hücrelerine karşı bağışıklık mekanizmasında karar verici faktör olup, antikorlar ve T hücreleri ile anti-tümör immün tanımada görev alırlar (Jong ve ark., 2002).

Demir Metabolizması Genleri

DeneySEL, klinik ve epidemiyolojik çalışmalar, demirin, karsinogenezi etkileyebileceğini göstermiştir (Weinberg ve ark., 1996). Artan vücut demir stokları meme kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir. Haemochromatosis geni (HFE) ve transferin reseptör (TFR) geni dahil olmak üzere çok sayıda gen demir metabolizmasında görevlidir.

Diğer Genler

Vitamin D reseptör (VDR) geni (hücre farklılaşması), APC (adenomatous polyposis coli) geni (hücrelerin G1 fazından S fazına geçiş yolunu inhibe eder) ile DNA tamir genleri olan ATM, BRCA1, BRCA2 ve TP53 genlerindeki polimorfizmler de meme kanseriyle ilişkileri bakımından incelenmiştir. Yine DNA tamir yoluna katılan

XRCC1, XRCC2 ve XRCC5 (X-ray complementing defective repair in Chinese hamster cells) genleri de çalışılmıştır (Katherina ve ark.,2001).

Tablo 6: Meme kanserinde görülen polimorfizmlerle ilgili çalışmalar (Dunning ve ark., 1999)

KAYNAK	GEN	POLİMORFİZM	HASTA SAYISI VE YAŞI	KONTROL SAYISI VE YAŞI	RİSK GRUBU	OR	%95 CI
Ladero ve ark. 1991 İspanya	CYP2D6*		98 Ort*. 59	446 Belirsiz	Zayıf metabolizer	2.09	0.97-4.48
Andersen ve ark. 1994 Norveç	ER*	Intron 1/exon 2 XbaI site	191 27-94	204 Belirsiz	Homo-zigot	2.02	0.96-4.31
Peller ve ark. 1995 İsrail	TP53*	Intron 6 G →A	20 Belirsiz	38 Belirsiz	W*/V*	2.17	0.62-7.66
Taioli ve ark. 1995 USA	CYP1A1*	3' UTR*T →C (T6235C)	51 20-69	269 29-70	V/V	9.7	2.0-47.9
Agundez ve ark. 1995 İspanya	NAT2*		160 26-87	132 19-81		2.23	0.96-5.16
Ambrosone ve ark. 1995 USA	CYP1A1	Exon 7 A →G (A4889G)	177 Postmenapoz	233 Postmenapoz	V/V	2.85	0.49-16.56
Iwase ve ark. 1996 UK	ER	CCC325CCG	70 Belirsiz	30 Belirsiz	V taşıyıcıları	2.91	1.05-8.28
Chouchane ve ark. 1997 Tunus	TNF-α*	-308 G →A	40 Ort. 43	106 Ort. 39	V taşıyıcıları	3.53	1.55-8.11

Feigelson ve ark. 1997 USA	<i>CYP17*</i>	Promoter T →C (T1931C)	174 45-75	285 45-75	V taşıyıcıları	2.52	1.07- 5.94
Helzlsouer ve ark. 1998 USA	<i>GSTM1*</i>	Gen delesyonu	110 Ort. 60 Postmen apoz	113 Ort. 60	Null Null	2.10 2.50	1.22- 3.64 1.34- 4.65
Kristensen ve ark. 1998 Norveç/ İsveç	<i>CYP19*</i>	Intron 4 (TTTA) _n microsatellite	366 27-93	252 1-85	(TTTA) ₁₂ taşıyıcıları	2.42	1.03- 5.90
Thompson ve ark. 1998 USA	<i>COMT*</i>	Exon 4 G →A	141 Premen apoz	134 Premen apoz	W/V V taşıyıcıları	2.5 2.2	1.4-4.6 1.3-3.7
Wang-Gohrke ve ark. 1998 Almanya	<i>TP53</i>	intron 3'de 16-bp'lik insersiyon	107	305	W/V	2.01	1.02- 3.94
Charrier ve ark. 1999 Fransa	<i>GSTM1</i>	Gen delesyonu	361 >50	437 18-101	Null	1.99	1.19- 3.32
Haiman ve ark. 1999 USA	<i>CYP19</i>	Intron 4 (TTTA) _n microsatellite	464 Belirsiz	619	(TTTA) ₁₀ taşıyıcıları	4.84	1.87- 14.8
Huang ve ark. 1999 Taiwan	<i>CYP11A1</i>	3' UTR T →C (T6235C)	75	78	V/V	3.00	1.03- 8.89
	<i>COMT</i>	Exon 4 G →A	65	72	V/V	6.43	0.72- 146
Huang ve ark. 1999 Taiwan	<i>CYP11A1</i>	3' UTR T →C (T5639C)	150	150	V/V	1.98	1.01- 3.99

Bergman- Jungestrom ve ark. 1999	<i>CYP17</i>	Promoter T →C (T1931C)	<37		V taşıyıcıları V/V	2.0 2.8	1.1-3.5
Guillemette ve ark. 2000 USA	<i>UGT1A1*</i>	Promoter (TA) _n	200 Premen apoz	200 Premen apoz	(TA) ₇₋₈	1.8	1.0-3.1
Zheng ve ark. 2000 China	<i>CYP1B1*</i>	Exon 3 G→C	186 25-64 64 Postmen apoz	200 25-64 79 Postmen apoz	V/V V/V	2.3 3.1	1.2-4.3 1.0-9.1
Jupe ve ark. 2001 USA	<i>PHB*</i>	3'UTR C→T	205 19 <50	1046 147 <50	V taşıyıcıları V taşıyıcıları	1.3 4.8	0.9-1.7 1.7- 13.3
Spurdle ve ark. 2002 Australia	<i>PHB</i>	3'UTR C→T	1446	786	V taşıyıcıları	0.96	0.80- 1.16
Lee ve ark. 2003 Korea	<i>NAT1*</i> <i>NAT2</i>		254	301	Hızlı asilatör Hızlı asilatör	1.2 1.2	0.8-1.9 0.8-1.7

(* Ort=ortalama, UTR=Transle edilmeyen bölge, W=Wild allel, V=Varyant allel, CYP17=Cytochrome P450c17, CYP19=Cytochrome P450c19, ER=estrogen receptor, COMT=catechol O-methyl transferase, CYP1A1=Cytochrome P450-1A1, CYP1B1=Cytochrome P450-1B1, CYP2D6=Cytochrome P450-2D6, NAT1=N-acetyltransferase-1, NAT2=N-cetyltransferase-2, GSTM1=glutathione S-transferase mu-1, UGT1A1=uridine diphospho-glucuronosyltransferase 1A1, PHB=Prohibitin, TP53=tumor protein-53, TNF-α=Tumour necrosis factor α)

2.6. Prohibitin Geni

Prohibitin, 272 aminaasitten oluşan ve 30 kD ağırlığında intraselüler, 7 ekzondan oluşan, antiproliferatif bir proteindir (Şekil 2). Bu gen, rat cDNA klonlarını kullanan bir kütüphaneden izole edilen insan prohibitin DNA'sı genomik fragmenti kullanılarak oluşturulan insan-fare somatik hibrit hücre dizilerinin analizleriyle kromozom 17'de haritalanmıştır. Daha sonra insan 17. kromozom parçalarını içeren hücre dizilerinin çalışılmasıyla, prohibitin (PHB) geninin 17q11.2-q23 bölgesinde yer aldığına karar verilmiştir. Bunu takiben in situ hibridizasyon ile genin 17q21'de lokalize olduğu belirlenmiştir (White ve ark., 1991). İnsandakinin. homoloğu olan fare prohibitin geni izole edilmiş ve in situ hibridizasyon ile 17q12-q21'de haritalanmıştır (Sato ve ark., 1992).

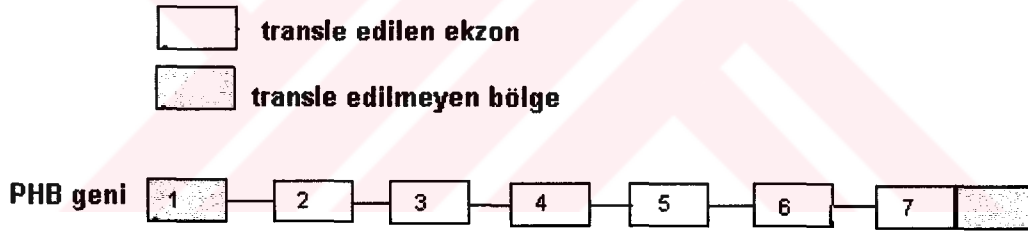
Sentetik prohibitin mRNA'sının normal fibroblastlara ve HeLa hücrelerine mikroenjeksiyonu sonucunda her iki hücrede de S fazına (DNA sentezi) geçişe engel olduğu görülmüştür (Nuell ve ark., 1991). Daha sonra prohibitin ve hücre döngüsü arasındaki etkileşimin daha iyi anlaşılması için hücre siklusunun farklı safhalarında mikroenjeksiyonla prohibitin mRNA'sı verilmiş ve antiproliferatif aktivitenin G₀/G₁'de yükseldiği, hücre S fazına yaklaştıkça düştüğü gözlenmiştir. Prohibitin mRNA ve protein miktarının G₁'de yükseldiği, S fazında düştüğü, G₂'de tekrar yükseldiği ve M'de düştüğü görülmüştür (Roskams ve ark., 1993).

Prohibitin geninin, insan meme kanseri oluşumundaki potansiyel rolü değerlendirilmiştir. Kromozom 17q'da heterozigotluk kaybı gösteren 23 sporadik meme kanserinin ve bu hastalığa 35 yaşında veya daha erken yakalananların prohibitin geninin 2 ekzonunda (exon 4 ve 5) DNA dizi analizleriyle 4 çeşit somatik mutasyon tesbit edilmiştir: Bunların 2'si yanlış anlamlı mutasyon, biri (üçüncüsü) çerçeve kaymasına bağlı olarak kısaltılmış bir gen ürünüyle sonuçlanan 2 bp'lik delesyon ve diğer (dördüncüsü) intron-ekzon sınırına bitişik olan introndaki C'nin T'e değişimi. Ovaryum, karaciğer, akciğer gibi tümör çeşitlerinde PHB geninde hiçbir mutasyon bulunamamıştır (Sato ve ark., 1992).

İnsan prohibitin gen ailesi, 17q21'de fonksiyonel bir PHB geni ile her biri farklı kromozomda bulunan 4 pseudogenden oluşmaktadır. Bunlar; PHBP1 6q25'te, PHBP2 11p11.3'te, PHBP3 1p31.3'te ve PHBP4 2q21'de yerleşmiştir (Sato ve ark., 1993).

Prohibitin proteini, memeli hücre döngüsünü düzenlemesinin yanında normal hücre yaşlanmada da rol oynamaktadır. Mayanın proliferatif hayat süresini sınırlayan da yine bu proteindir. Prohibitinin rat ve insanın analiz edilen bütün dokularında eksprese olduğu tesbit edilmiştir (McClung ve ark., 1995). Prohibitin proteininin, tümör hücrelerinin DNA sentezine başlamasına da engel olduğu belirtilmektedir (Jupe ve ark., 1995).

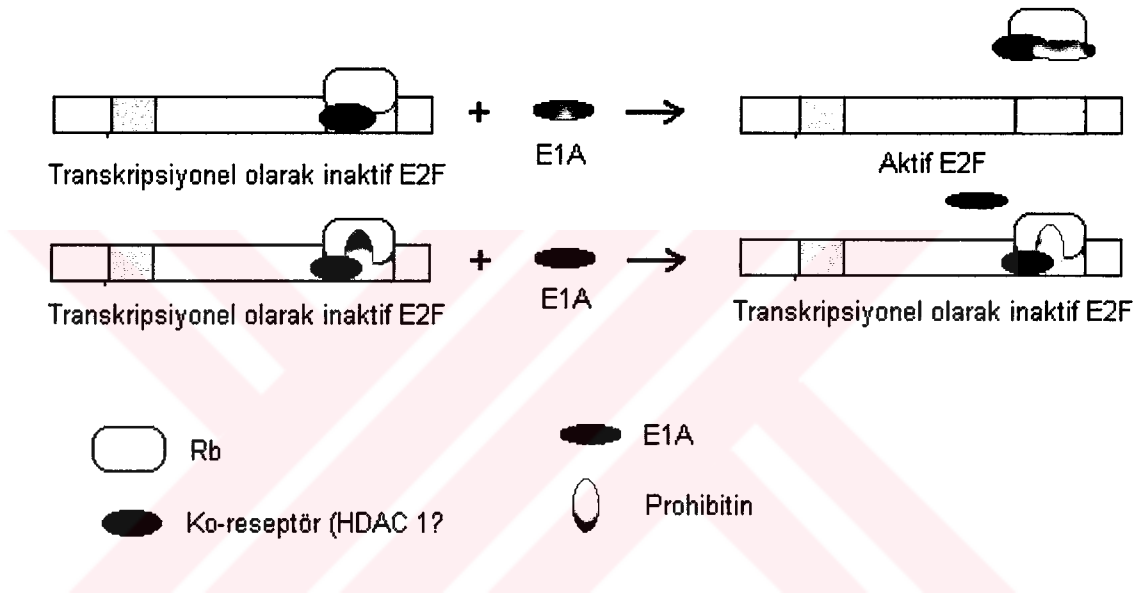
Ovaryum tümörlerinde, özellikle 17q12-21 bölgesindeki heterozigotluk kaybının (LOH) çok sık olduğu bilinmektedir. Prohibitin geninin bu bölgede bulunması ve antiproliferatif etkiye sahip oluşu nedeniyle ovaryum kanserlerindeki rolü de çalışılmıştır. Daha önce mutasyon tesbit edilmiş olan exon 4 ve 5 bölgelerindeki diziler, transkripsiyon dizileme ile genomik amplifikasyon tekniği kullanılarak tesbit edilmiş ve taranan 20 tümör vakasında sadece normal exon 4 ve 5 dizileri gözlenmiştir. Bu sonuçlar, epitelial ovaryum kanserlerinde prohibitin geninin bu bölgesinin mutasyona uğramadığını ve ovaryum karsinogenezine neden olmadığını göstermiştir (Cliby ve ark., 1993).



Şekil 2: Yedi ekzonlu Prohibitin geni (Cliby ve ark., 1993)

Prohibitin, Retinoblastoma (Rb) ailesi proteinleriyle etkileşim halindedir ve E2F aracılığıyla oluşan transkripsiyonu baskılar. Rb tümör baskılayıcı proteini, p107 ve p130 proteinleri memeli hücre döngüsünün başlıca düzenleyicileridirler. Bu proteinler, çoğalmayı baskılayıcı etkilerinin en azından bir kısmını, transkripsiyon faktörlerinden E2F ailesine bağlanarak ve onların transkripsiyonel aktivitesini baskılayarak gösterirler. Hücre döngüsünde rol alan genlerin çoğu E2F'ye ihtiyaç duyar ve E2F1'in fazla ekspresyonu S fazına girişi indüklemektedir. Rb ailesi proteinleri ve E2F arasındaki ilişkiyi bozan ajanlar hücre çoğalmasını artırır. Rb ailesi proteinleri ile tümör baskılayıcı bir protein olan prohibitin arasındaki fonksiyonel ilişki araştırılmıştır. Prohibitin, her üç

Rb ailesi proteinleriyle in vitro ve in vivo olarak etkileşebilir ve E2F-aracılığıyla oluşan transkripsiyonu baskılamada çok etkilidir. Prohibitin, E2F'lerin (E2F1, 2, 3, 4, 5) aktivitesini inhibe edebilir, fakat E2F bölgesi olmayan promoterlerin aktivitesine etkisi yoktur. Prohibitin-aracılı E2F baskılanmasının adenovirüs E1A proteini ile geri döndürülememesine rağmen Rb-aracılı E2F baskılanması bu yolla geri döndürülebilmektedir. Rb'ye bağlanamayan bir prohibitin mutanlığı, E2F aktivitesini baskılama yeteneğini kaybeder ve hücre proliferasyonuna sebep olur (Şekil 3) (Wang ve ark., 1999).



Şekil 3: Prohibitin-aracılı E2F aktivitesinin baskılanmasına ait bir model (Wang ve ark., 1999)

Prohibitin proteininin ilk 33 aminoasitinin kaybı Rb'ye bağlanmasını etkilememektedir. Aynı şekilde ilk 74 aminoasitlik azalma da Rb'ye bağlanmayı bozmamaktadır. Ama bu sayı 116'ya çıkarıldığında Rb'ye bağlanma etkilenmektedir. Dolayısıyla Rb bağlanma bölgesi 74.-116. aminoasitler arasındadır. 116.-275. aminoasitler arasındaki mutasyonlar da aynı sonucu yaratmaktadır. Prohibitin proteininin hücre proliferasyonunu engellemesi için Rb ailesi proteinleriyle birlikte hareket etmesi gerekmektedir (Wang ve ark., 1999).

Prohibitin, mayadan insana kadar çeşitli türlerde tesbit edilmiş ve evrimsel olarak korunmuş bir genidir. Rat ve insan prohibitin genleri karşılaştırıldığı zaman tsp'nin (transcription start point) 5' promoter bölgesinde %70 benzerlik vardır. Her

ikisinde de TATA kutusu eksiktir ve intron yerleşimi ve exon uzunluğu aynıdır (Altus ve ark., 1995).

Bazı hücrelerde 3' transle edilmeyen bölgede 1,9 kb'lık transkriptin son 200 bazında özel bir mutasyon vardır. Mutasyonlu hücre hatlarına uygulanan fonksiyonel haritalama deneyleri, yabancı tip 3' UTR'nin tek başına hücre döngü yolunu inhibe etmek için yeterli olduğunu ve dolayısıyla, prohibitin transkriptinin antiproliferatif aktivitesinin bu bölgede yerleşmiş olduğunu göstermektedir (Jupe ve ark., 1996).

Meme kanserli hücre dizilerinde prohibitinin 3' transle edilmeyen bölgesinin 729. bazında bir nokta mutasyonu olduğu belirlenmiştir (Jupe ve ark., 1996). Bu mutasyon tek nükleotit polimorfizmi (SNP) olarak tanımlanmıştır. 729. nükleotid olan sitozinin (C) Timine (T) değişiminde, varyant T allel, fonksiyonel C allelinin antiproliferatif etkisini ortadan kaldırır. Yapılan çalışmalar, prohibitin geninde T allelini taşıyan kadınların, meme kanseri olma riskini artıran bir yatkınlığa sahip olduğuna işaret etmiştir. Prohibitin genotipi ile ilişkili olarak 205 meme kanserli kadın ile 1046 sağlıklı kontrol üzerinde vaka-kontrol çalışması yapılmıştır (Jupe ve ark., 2001). Sonuçlar, birinci dereceden akrabasında kanser bulunan meme kanserli kadınlar ile T alleli arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir (OR=2.5, p=0.005). Daha güçlü bir ilişki ise 50 yaş ve altında hastalığa yakalananlar ve birinci dereceden akrabasında meme kanseri görülenlerde bulunmuştur (OR=4.8, p=0.003). Prohibitin 3'UTR C→T genotipleniminin, hastalıklı en az bir tane birinci dereceden akrabası olan 50 yaş veya daha genç meme kanserli kadınların riskini belirlemede değeri olduğu gösterilmiştir (Jupe ve ark., 2001).

Prohibitin 3'UTR'nin iki allelik formu vardır ve daha az yaygın olan T allelini taşıyanlarda, meme kanseri aile öyküsü de varsa, meme kanseri için artan bir risk gösterirler. Sitomegalovirus promoteri kontrolü altında ya C allel ya da T allel RNA'sı oluşturan MCF7 hücre klonları izole edilmiş ve boş vektör klonlarıyla karşılaştırılmıştır. T alleli oluşturan klonlar veya boş vektör klonlarıyla karşılaştırıldığı zaman, C allel RNA'sı (UTR/C) oluşturan klonlar, anlamlı bir şekilde hücre proliferasyon deneylerinde baskılanma, yumuşak agar deneylerinde koloni formasyonunun inhibisyonu ve nude mice'ya implante edildiği zaman ksenograft tümör büyümesinin baskılanmış olduğu gözlemlenmiştir. Ki67 boyama ile immunohistokimyasal analizlerde, UTR/C içeren tümörlerin, proliferasyonlarında anlamlı derecede bir azalma

olduğu görülmüştür. Bu yüzden, Prohibitin 3'UTR'nin C alleli fonksiyonel bir RNA üretirken, bir single nükleotit polimorfizm, RNA ürün aktivitesini kaybetmiş bir "null allele" (T alleli) oluşturur (Manjeshwar ve ark., 2003).

Ovaryum tümörlerinde, özellikle 17q12-21 bölgesinde heterozigotluk kayıplarının (LOH) çok sık olduğu bilinmektedir. Prohibitin geninin bu bölgede bulunması ve antiproliferatif etkisi olması nedeniyle ovaryum kanserinde etkisi çalışılmıştır. Avustralya'da yapılan bir popülasyon çalışmasında Prohibitin geni 3'UTR bölgesindeki C→T polimorfizminin ovaryum kanseri ile ilişkisi araştırılmıştır. İlk önce prohibitin genotipinin spesifik ovaryum tümör özellikleriyle ilişkisi olup olmadığı incelenmiştir. Prohibitin geni 3'UTR C→T polimorfizminin , hücre çoğalması üzerine olan fonksiyonel etkisinin p53 genindeki somatik mutasyonlarla ilişkili olup olmayacağı araştırılmıştır. Sonra da CT veya TT genotiplerinin bütün ovaryum kanserlerinde mi yoksa ovaryum kanserinin bazı özel alt gruplarında mı risk artışına neden olduğu araştırılmıştır. 543 ovaryum kanserli hasta ve 291 kontrolün kullanıldığı bu çalışma sonucunda CT/TT genotipleri ile ovaryum kanseri arasında OR=0.99 (0.72-1.35) olasılık oranı ile anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Spurdle ve ark., 2003).

2.7. Meme Kanserinin Tedavisi

Meme kanserini önlemek için belirgin bir yol yoktur. Meme kanseri riski olan kadınlar için en iyi yöntem, mümkün olduğu kadar risk faktörlerini azaltmaktır. Erken teşhis meme kanserini önlemez ama onun tedavinin en başarılı olacağı zamanda bulunmasını sağlar.

Tamoxifen ve Raloxifen ile Meme Kanseri Riskinin Azaltılması: Tamoksifen, uzun yıllardan beri lokalize meme kanserlerinin tekrarlama riskini azaltmak ve ilerlemiş meme kanserlerinde tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Tamoxifen, antiöstrojen bir ilaçtır. Yüksek meme kanseri riskine sahip kadınların, 4 yıl boyunca tamoxifen kullandıktan sonra meme kanseri riskinin, kullanmayan aynı risk faktörlü kadınlara oranla % 45 azaldığı bulunmuştur. Tamoxifen gibi raloxifen de meme dokusunda östrojenin etkisini bloke eder.

Yüksek meme kanseri riski olan kadınlar için profilaktik mastektomi: Genellikle meme kanseri için çok fazla risk altındaki kadınlar profilaktik mastektomi yaptırmayı

sececektir. Bu cerrahinin amacı, meme kanseri belirmeden önce memeyi çıkararak riski azaltmaktır. Bu tip cerrahiye düşündüren sebepler aşağıdaki risk faktörlerini içerir.

-Genetik test ile bulunan BRCA genleri mutasyonu

-Daha önce bir memedeki kanser, güçlü aile öyküsü (birçok yakın akrabada meme kanseri)

-Lobuler karsinoma (LCIS) gösteren biopsi örnekleri

Operasyonda hemen hemen bütün meme dokusunu çıkarırken küçük bir miktar kalır. Bu yüzden operasyon meme kanseri riskini önemli derecede düşürmesine rağmen cerrahiden sonra kalan küçük miktardaki meme dokusunda kanser gelişmeyeceğini garanti etmemektedir (<http://www.cancer.org/eprise/main/docroot/CRI/content>).



III. MATERYAL VE METOT

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Genel Cerrahi Servisi'nde tedavi gören ve histopatolojik tanıları konan, yaşları 28 ile 50 arasında değişen toplam 58 meme kanserli hasta ve hasta grubuyla aynı yaş aralığında bulunan ve ailesinde Meme Kanseri öyküsü bulunmayan toplam 52 sağlıklı kadın kontrollerden 5'er ml kan alındı. DNA'lar standart yöntemle (salting out) saflaştırıldıktan sonra, PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) yapıldı. PCR ürünleri restriksiyon enzimi (AflIII) ile kesilerek PHB 3' UTR C→T polimorfizmi değerlendirildi. Çalışmamız OMÜ etik kurulun yönergeleri doğrultusunda yapıldı.

3.1 DNA İzolasyonu

Her hastadan EDTA içeren vakumlu tüplere 5 ml tam kan alındı. Kandan DNA izolasyonu 'Salting out' yöntemi kullanılarak yapıldı (Miller ve ark., 1988).

3.1.1. Solüsyonlar

Lizis Tamponu: 320 mM Sucrose (Merck)
10 mM Tris (Merck) pH 7.5
4 mM MgCl₂ (Merck)
% 1 Triton X 100 (Sigma)
1000 ml distile suya tamamlanır.

Solüsyon hazırlandıktan sonra otoklavlanır.

Ten Tamponu: 10 mM Tris (Merck) pH:8
2 mM EDTA (Merck)
400 mM NaCl (Merck)

Solüsyon hazırlandıktan sonra otoklavlanır.

Proteinaz K (Sigma) Solüsyonu:

10 ml 500 mM'lık Tris (pH:8) solüsyonu içine 100 mM 'lık CaCl₂'den 0.1 ml katılır ve 100 mg proteinaz K solüsyona eklenir. Bu şekilde 10 mg/ml proteinaz K solüsyonu hazırlanmış olur.

%10 SDS (Sodyum Dodesil Sülfat) (Merck)

10 gr SDS alınır 100 ml distile su içinde çözülür.

Doymuş NaCl Solüsyonu (6M): (Doymuş tuz çözeltisi)

7 gr NaCl 20 ml distile suya tamamlanır.

TE Solüsyonu: 10 mM Tris pH 7.5

1 mM EDTA

Bunu hazırlamak için 500 mM Tris pH: 7.5 stok solüsyonundan 1 ml, 100mM EDTA stok solüsyonundan 0.5 ml alınır ve distile su ile 50 ml'ye tamamlanır.

3.1.2. DNA İzolasyon Yöntemi**I. Gün:**

1. EDTA'lı tüpteki 5 ml tüm kan 50 ml'lik polipropilen tüpe alındı.
2. Kan örneğinin 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 18 saat) 37°C'de etüvde hafif çalkalamayla inkübe edildi.

II. Gün:

7. Ertesi sabah örneklerin üzerine 1 ml 6 M'lık NaCl solüsyonundan konuldu ve kısa bir süre vortekslendi.
8. 3300 rpm'de 20 dakika oda ısısında santrifüj yapıldı.
9. Üstteki süpernatant 15 ml'lik santrifüj tüpüne alındı ve tekrar 3300 rpm'de oda ısısında 30 dakika santrifüj edildi.

10. Süpernatant başka bir 15 ml'lik santrifüj tüpüne alındı (dipteki çökeltinin süpernatanta karışmamasına dikkat edildi). Çökelti atıldı.
11. Süpernatantın üzerine iki katı hacimde absolü etil alkol ilave edildi. Tüp ağzı kapatılarak hafif şekilde alt üst edilerek DNA çöktürüldü.
12. Pipet ucu ile DNA 15 ml'lik santrifüj tüpünden alındı ve içinde 1 ml % 70'lik etil alkol bulunan Eppendorf tüpüne konuldu.
13. Tüpler 14000 rpm'de 10 dakika oda ısısında santrifüj yapıldıktan sonra üstteki alkol su trombu ile çekilerek atıldı. Dipte çöktürülen DNA, tüplerin ağzı açık bırakılarak, 37°C'de etüvde 1 saat kadar bekletildi.
14. DNA örneği üzerine 150 µl TE tamponu katıldı ve tüplerin ağzı kapatılarak 37°C'de etüvde hafif çalkalanarak birkaç saat çözünmeye bırakıldı.
15. DNA örnekleri çözündükten sonra stok DNA örnekleri -20°C'de saklandı.

3.1.3. DNA Miktarının Tayini

950 µl steril su koyduğumu bir ependorf tüp içine stok DNA'dan 10 µl eklendi. UV spektrofotometrede (Vilber Lourmat), 260 nm dalga boyunda okundu. 260 nm dalga boyunda okunan değer (OD_{260}) TE solüsyonu içindeki DNA miktarını göstermektedir.

DNA konsantrasyonu=

$$OD_{260} \times \text{Sulandırma Katsayısı (100)} \times 50 \mu\text{g/ml (çift zincirli, ds DNA'lar için OD değeridir)}$$

3.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Polimeraz zincir reaksiyonu 58 meme kanserli hasta ile 52 sağlıklı kişiden oluşan kontrol grubu olmak üzere toplam 100 kişiye uygulandı. Prohibitin geninin 3' transle edilmeyen bölgesi (3'UTR) (Şekil 4) PCR ile çoğaltıldı. Kullanılan primer dizisi Jupe ve ark. (2001)'nin kullandıklarının aynıydı. Ancak reaksiyon şartları ve PCR programı bizim tarafımızdan optimize edilmiştir.



Şekil 4: PHB geni 3'UTR bölgesinin nükleotit dizisi

3.2.1. PHB Geninin 3' UTR Bölgesi PCR Koşulları

PCR ile çoğaltılan bölgenin nükleotid dizisi ve primerlerin hibridizasyon bölgeleri şekilde görülmektedir. Bu bölge 5'- TTC CAC CGA AAG ACC ACT - 3' (forward) ve 5' – GGA AGG TCT GGG TTG TCA TTT - 3' (reverse) primerleri kullanılarak çoğaltıldı. PCR, 25 µl'lik reaksiyon hacminde, 1xPCR reaksiyon tamponu, 2 mM MgCl₂, 200 µM deoksiriboanükleosid trifosfatlar, her primerden 25 pmol, , 200 ng genomik DNA ve 1.25 U Taq DNA (Fisher) polimeraz kullanılarak termosaykilda

(Techne) yapıldı. Taq DNA polimeraz “Hot Start” (enzimin başlangıç denatürasyonundan sonra ilave edilmesi) olarak ilave edildi.

Reaksiyon şartları:

95°C'de 5 dakika başlangıç denatürasyonu

94°C'de 45 saniye denatürasyon

60°C'de 30 saniye hibridizasyon 35 döngü

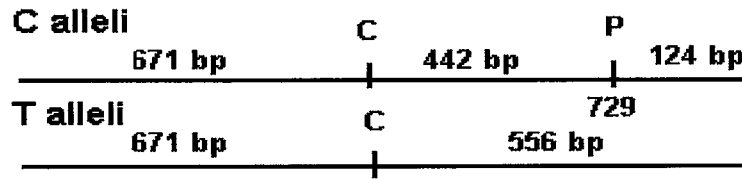
72°C'de 1,2 dakika ekstensiyon

72°C'de 10 dakika son ekstensiyon şeklinde idi.

PCR ürünleri %2'lik agarozda (Prona) ayrıştırılıp görüntülendi. Kullanılan primerler ile 1237 bp'lik bir ürün oluşturuldu.

RFLP (Restriksiyon Fragment Length Polymorphism):

AflIII restriksiyon enzimi kesimi: PCR ürünlerini tanıma bölgesi 5'... A/CP_uP_yGT ... 3' ve 3' ... TGP_yP_uC/A ... 5' olan *AflIII* restriksiyon enzimi ile kesildi. 10 µl PCR ürünü, 2 ünite *AflIII* restriksiyon enzimi ile BSA içeren 1xNE Buffer ve su içerisinde 37°C'de 16 saat kesildi ve % 2'lik agaroz jelde incelendi.



Şekil 5: C her iki allelde de sabit olan kesim bölgesidir. P ise T allelinde kaybolan polimorfik bölgedir.

Homozigot CC → 671 bp, 442 bp, 124 bp

Heterozigot CT → 671 bp, 556 bp, 442 bp, 124 bp

Homozigot TT → 671 bp, 556 bp olan parçalar oluşturur (Şekil 5).

3.3. Agaroz Jel Elektroforezi

3.3.1. Solüsyonlar

5×TBE tamponu: 54 gr Tris bazı (Merck)
27.5 gr Borik asit (Merck)
20 ml 0.5 M EDTA (pH 8.0) (Merck)

Distile su ile 1 litreye tamamlanır.

Ethidium Bromid (EtBr) (sigma): Stok solusyonu 10mg/ml, çalışma solüsyonu 0.5mg/ml olarak hazırlandı.

Jel yükleme tamponu (sigma): 6× konsantrasyon [%0.25 w/v Bromfenol blue, %0.25 w/v Xylene cyanolFF, %40 sükröz]. Hazır olarak satın alındı.

“Size Markers” (Moleküler Standartlar):

- a. **pBR322 DNA/AluI Marker** (Fermentas): 90, 100, 226, 257, 281, 403, 521, 656, 659 ve 1000 bp olmak üzere toplam 10 fragment içermektedir.
- b. **ØX174 DNA/BsuRI (HaeIII) Marker** : 72, 118, 194, 234, 271, 281, 310, 603, 872, 1078 ve 1353 bp olmak üzere 11 fragment içermektedir.

3.3.2. Jelin Hazırlanışı

% 2'lik agaroz jeller hazırlandı (Prona). Tampon solüsyon olarak 1X TBE kullanıldı. % 2'lik jel için 2 gr agaroz tartıldı ve 100 ml 1X TBE içinde kaynatıldı. 80 °C'ye kadar soğutulup 100µl EtBr eklendikten sonra tarağı yerleştirilen jel kabına döküldü. En az 1 saat bekledikten sonra PCR ürünleri jele yüklendi.

3.3.3. Agaroz Jel Elektroforezi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

15 µl PCR ürünü veya RFLP ürünü, 3 µl 6X jel yükleme tamponu ile karıştırılarak jele yüklendi. Elektroforez 125 volt'da 1 saat süreyle yapıldı. Elektroforez sonunda, jel >320 nm boyunda transillüminatörde (Vilbert Lourmart) incelenerek

markır ve DNA'ların gittikleri mesafelerden yararlanarak, DNA fragmanlarının uzunluğu hesaplandı. Jel fotoğrafları, UVI görüntü analiz sisteminde (Biolab) çekildi.

İstatistiksel analizler için EpiInfo-6 Stalcalc programı kullanılarak OR ve Ki-kare testleri yapıldı.



IV. BULGULAR

Bu çalışmada Prohibitin geni 729'cu nükleotitteki C→T değişim sıklığını belirlemek amacıyla yaşları 28 ile 50 arasında değişen 58 meme kanserli hasta ile aynı yaş grubundan 52 sağlıklı kontrolün DNA'ları analiz edildi. Samsun ve çevresinden OMÜ Tıp Fakültesi Hastahanesi Genel Cerrahi bölümüne gelen Meme Kanserli hastaların ailesel olan ve olmayan her iki grubu da erken yaş (≤ 50) olmak kaydıyla çalışmaya alınmıştır. Kontrol grubu ise hasta grubuyla aynı yaş aralığında bulunan, ailesinde Meme Kanseri öyküsü bulunmayan sağlıklı kadınlardan oluşmaktadır.

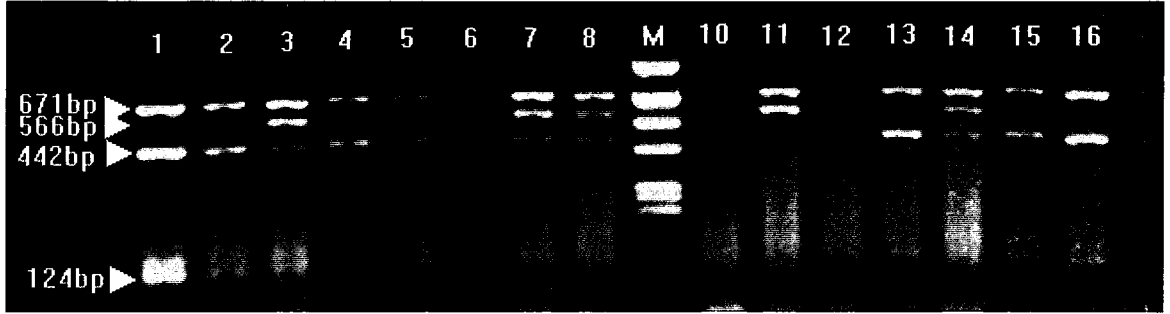
Meme kanserli hasta ve sağlıklı kontrol DNA'larına uygulanan PCR şartları ve programı tamamen bizim tarafımızdan optimize edilerek başarılı PCR ürünleri elde edildi. PCR sonucunda 1237 bp'lik bir bölge çoğaltılıp elde edilen ürünler görüntülendi (Şekil 6). PCR ürünlerinin *AflIII* restriksiyon endonükleazı ile kesilmesi sonucunda homozigot dominant CC, heterozigot CT ve homozigot resesif TT olmak üzere üç farklı genotip olduğu görüldü (Şekil 7).

Çalışmalarımız sonucunda elde ettiğimiz genotip frekansları şu şekildedir. Toplam 58 meme kanserli hastadan 37'si homozigot dominant CC, 20'si heterozigot CT ve 1'i homozigot resesif TT ; toplam 52 kontrolden de 33'ü homozigot dominant CC, 17'si heterozigot CT ve 2'si homozigot resesif TT. Allel frekanslarına baktığımızda hastalarda toplam 116 allelden 94'ü C alleli, 22'si T alleli ve kontrollerde toplam 102 allelden 83'ü C alleli, 19'u T alleli şeklindeydi. T varyantı allel sıklığı hasta grubu ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ($p > 0.05$) anlamlı bir ilişki bulunamadı (Tablo 7). Meme kanserli hasta grubu ile kontrol grubu arasında T varyantı karşılaştırıldığında heterozigot CT ve homozigot resesif TT için saptanan OR= 0.98 (0.517 – 2.020) olasılık oranının istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlendi.

Hasta ve kontrol grubundaki CC, CT ve TT genotip sıklıkları ve C ve T allel sıklıkları arasındaki farklar bir histogram ile gösterilerek daha anlaşılır hale getirildi (Şekil 8, Şekil 9).



Şekil 6: Prohibitin geni 3' UTR bölgesinin PCR sonuçları



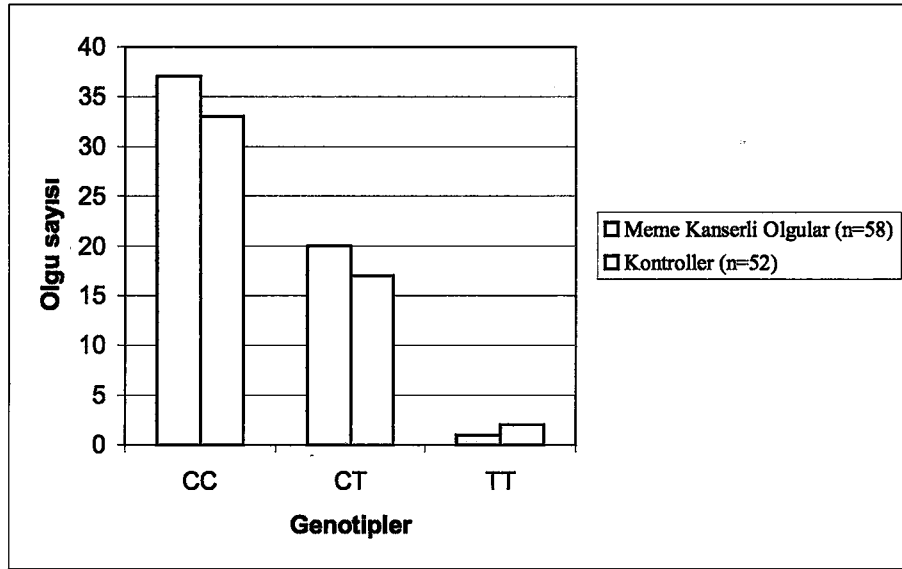
Şekil 7: Prohibitin geni 3' UTR içinde *AflIII* restriksiyon endonükleazı ile tanımlanan polimorfik alleller. Örneklerden 1, 2, 4, 5, 6, 10, 13, 15, 16 homozigot dominant (C/C); 3, 7, 8, 12, 14 heterozigot (C/T); 11 homozigot resesif (T/T)

Tablo 7: Meme kanserli hasta ve sağlıklı kontrollerde 729'cu nükleotitteki C/T polimorfizminin genotip ve allel frekansları

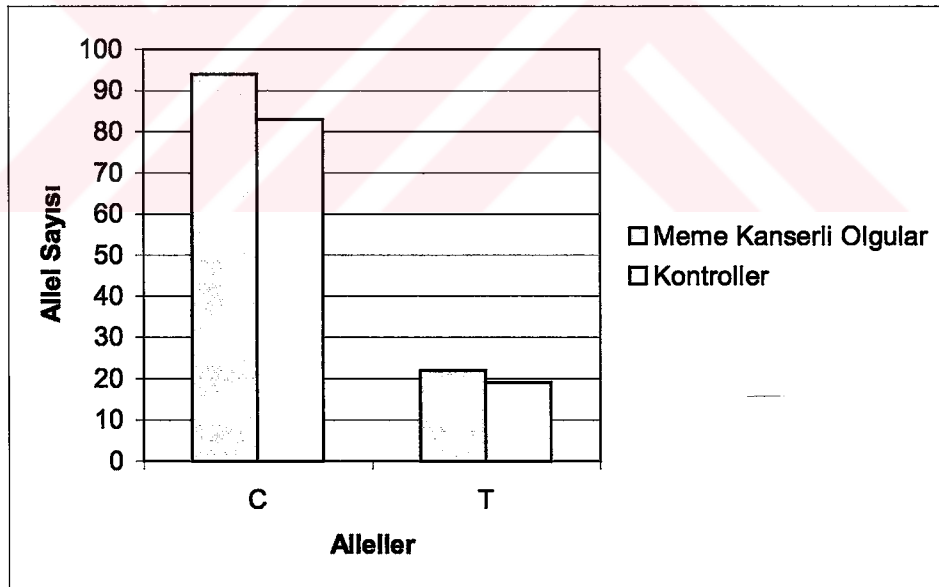
	C/C (%)	C/T (%)	T/T (%)	Total	C (%)	T (%)	Total
Hastalar	37(63.8)	20 (34.5)	1 (1.7)	58	94(81)	22(19)	116
Kontroller	33 (63.5)	17 (32.7)	2 (3.8)	52	83(81.4)	19(18.6)	102

OR= 0.98 (0.517 - 2.020)

Genotip frekansı için; $X^2= 0.03$, $P= 0.9$ Allel frekansı için; $X^2= 0.01$, $P= 0.9$



Şekil 8: Meme Kanserli Hastalar ve Kontrollerde Genotip Frekanslarının Karşılaştırılması



Şekil 9: Meme Kanserli Hastalar ve Kontrollerde Allel Frekanslarının Karşılaştırılması

V. TARTIŞMA

Bu çalışma, Prohibitin geni 3'UTR bölgesindeki C→T polimorfizmi ile erken yaş meme kanseri arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla yapıldı.

Prohibitin, meme kanserlerinde sıklıkla heterozigotluk kaybı gösteren bir bölge olan 17q21'de lokalize tümör baskılayıcı bir gendir. Prohibitin proteini, hücre döngüsü sırasında G1 safhasından S safhasına geçişe engel olarak hücre proliferasyonunu bloke eder. Prohibitin transkriptinin antiproliferatif aktivitesi bu genin 3' transle edilmeyen bölgesinde (UTR) lokalizedir (Jupe ve ark.,1996). Bu bölge içindeki 729. nükleotidde (bütün transkriptin 1630. bazı) görülen Sitozin (C) → Timin (T) değişimi şeklindeki bir tek nükleotit polimorfizmi antiproliferatif etkisi olmayan bir varyant oluşturması nedeniyle meme kanseri ile ilişkilendirilmiştir. Prohibitin 3'UTR'nin iki allelik formu bulunmaktadır ve bunlardan düşük sıklıktaki T alleli, meme kanseri aile öyküsü olanlarda meme kanseri riskini artırmaktadır. Prohibitin 3'UTR'nin C alleli fonksiyonel bir RNA üretirken, bir tek nükleotit polimorfizminin her iki allelde de ortaya çıkışı sonucunda RNA ürün aktivitesi kaybolur ve buna "null allel" (T alleli) denir (Manjeshwar ve ark., 2003).

Çalışmamızdaki PCR ve RFLP tekniklerinde kullandığımız primerler ve restriksiyon enzimi, Jupe ve ark.'nın (2001) çalışmalarında kullandıklarının aynısıdır. Fakat literatürlerde belirtilmemiş olan PCR şartları ve programı bizim tarafımızdan denemeler yapılarak optimize edilmiş olup başarılı PCR ürünleri elde edilmiştir.

Kuzey Amerika'da, 205 meme kanserli hasta ve 1046 sağlıklı kontrol grubunda aynı gen üzerinde bir populasyon çalışması yapılmıştır. Bu çalışmada birinci dereceden meme kanseri aile öyküsü bulunan 239 kontrol ile 47 hastadan oluşan alt grupta CT/TT genotip sıklığının 2.5 kat arttığı görülmüştür. Daha anlamlı bir artış 4.8 kat ile 19 hasta ile 147 kontrolün bulunduğu 50 yaş altındaki grupta olmuştur. Bu gruptaki genotip sıklıklarının hastaların %32'sinde CC, %68'inde CT/TT; kontrollerin %69'unda CC, %31'inde CT/TT şeklinde olduğu gözlenmiştir. 50 yaşından daha büyük hastalar ve kontroller arasında T allelini taşıma sıklığı anlamlı bir fark göstermemiştir. Meme kanseri hastaları arasında T alleli taşıma sıklığı en fazla 50 yaş altı ve en az bir meme kanserli birinci dereceden akrabası bulunanlarda görülmüştür. Dolayısıyla meme kanserini oluşturma riski ile T alleli arasında özellikle 50 yaş altı kadınlarda OR=4,8 (1.7-13.3) değerinde bulunan olasılık oranının anlamlı olduğu rapor edilmiştir (Jupe ve

ark.,2001). Bizim çalışmamızda ise sporadik olanlar ve birinci dereceden meme kanserli akrabası bulunan kadınlar 50 yaş altında olmak koşuluyla birlikte incelenmiştir. Çalıştığımız toplam 58 meme kanserli hasta ve 52 sağlıklı kontrol DNA'sının RFLP analizi ve istatistiksel değerlendirmeleri sonucunda Prohibitin geni 3'UTR bölgesi polimorfizmi ile erken yaş meme kanseri arasında OR= 0.98 (0.517 - 2.020) olasılık oranı ile istatistiksel olarak bir ilişki bulunamamıştır. Hastaların %68.3'ünde CC, %34.5'inde CT, %1.7'sinde TT, %36.2'sinde CT/TT genotipleri; kontrollerin ise %63.5'inde CC, %32.7'sinde CT, %3.87'inde TT, %36.5'inde CT/TT genotipleri olduğu bulunmuştur. İki çalışma karşılaştırıldığında, kontrol grubunda benzerlik olmasına rağmen, hasta grubunda tamamen zıt olarak 4.8 katlık büyük bir fark olduğu gözlenmektedir.

Avustralya'da yapılan bir populasyon çalışmasında ise 1146 meme kanserli hasta ve 786 kontrol kullanılmıştır. Bu çalışmada örnek sayısı diğerinden daha fazla olmasına rağmen Avustralyalı kadınlarda T alleli ile artan meme kanseri riski arasında gerek tüm örneklerde OR=0,96(0.80-1.16), gerekse yaş veya aile öyküsü diye ayrılan alt gruplarda OR= 1.00(0.82-1.21) olasılık oranı ile anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Tüm örnekler değerlendirildiğinde genotip sıklıklarının hastalarda %69 CC, %29 CT, %3 TT, %31 CT/TT; kontrollerde %68 CC, %30 CT, %2 TT, %32 CT/TT şeklinde olduğu gözlenmiştir. Hasta ve kontrollerden elde edilen bu genotip sıklık değerleri, Jupe ve arkadaşlarının bulmuş olduğu sonuçlarla çelişmesine rağmen bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir (Spurdle ve ark., 2002).

Bizim çalışmamız, prohibitin 3'UTR polimorfizmi ile meme kanseri arasındaki ilişkisi ile ilgili olarak yapılan şu ana kadarki üçüncü çalışma olmaktadır. Bu çalışmada incelediğimiz hasta ve kontrol sayısı daha önce Spurdle ve Jupe'un yapmış olduğu araştırmalardan çok az olmasına rağmen elde ettiğimiz sonuçlar prohibitin geni 3'UTR'deki C→T polimorfizminin meme kanseri ile ilişkisi olmadığını göstermiştir.

VI. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmaya 2002-2003 yılları arasında OMÜ Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda meme kanseri tanısı konan hastalar dahil edildi. Yaş ortalaması 42 olan 58 meme kanserli hasta çalışıldı. Kontrol grubu da aynı yaş grubunda olan 52 kişiden oluşturuldu. Prohibitin geninin sadece bir polimorfik bölgesi değerlendirildi.

- Meme kanserli hasta grubu ile kontrol grubu arasında T varyantı karşılaştırıldığında heterozigot CT ve homozigot resesif TT için OR= 0.98 (0.517 - 2.020) olasılık oranı istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki göstermedi.
- Meme kanserine yatkınlık genleri ile mutasyonlarının bulunması, meme kanserinin gelişiminde kalıtımın önemli bir rol oynadığını göstermektedir.
- Aile öyküsü bulunan kadınlarda genetik riskin tanımlanması, mammografi taramasına başlama yaşının belirlenmesinde yol gösterici olacaktır.
- Erken tanı ve tedavi, meme kanserli bir kadının yaşama şansını artırmaktadır.
- Sonuç olarak, bu gen üzerinde yapılan popülasyon çalışmalarının sayısı artırıldığında, meme kanseri ile prohibitin geni polimorfizminin ilişkisi daha kesin bir şekilde ortaya konacaktır.

VII. KAYNAKLAR

- Altus, M. S., Wood, C. M., Stewart, D. A., Roskams, A. J., Friedman, V., Henderson, T., Owens, G. A., Danner, D. B., Jupe, E. R., Dell'Orco, R. T., et al. (1995). Regions of evolutionary conservation between the rat and human prohibitin-encoding genes. *Gene*, **158**(2), 291-4
- Andersen, T. I., Heimdal, K. R., Skrede, M., Tveit, K., Berg, K., Borresen, A. L. (1994). Oestrogen receptor (ESR) polymorphisms and breast cancer susceptibility. *Hum Genet.*, **94**(6), 665-70.
- Ambrosone, C. B., Freudenheim, J. L., Graham, S., Marshall, J. R., Vena, J. E., Brasure, J. R., Laughlin, R., Nemoto, T., Michalek, A. M., Harrington, A., et al. (1995). Cytochrome P4501A1 and glutathione S-transferase (M1) genetic polymorphisms and postmenopausal breast cancer risk. *Cancer Res.*, **55**(16), 3483-5.
- Bergman-Jungstrom, M., Gentile, M., Lundin, A. C., Wingren, S. (1999). Association between CYP17 gene polymorphism and risk of breast cancer in young women. *Int J Cancer.*, **84**(4), 350-3
- Charrier, J., Maugard, C.M., Le Mevel, B., Bignon, Y.J. (1999). Allelotype influence at glutathione S-transferase M1 locus on breast cancer susceptibility. *Br. J. Cancer*, **79**(2), 346-53
- Cliby, W., Sarkar, G., Ritland, S. R., Hartmann, L., Podratz, K. C., Jenkins, R. B. (1993). Absence of prohibitin gene mutations in human epithelial ovarian tumors. *Gynecolo. Oncology*, **50**, 34-37
- Coughlin, S. S., Piper, M. (1999). Genetic Polymorphisms and Risk of Breast Cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, **8**, 1023-1032
- Dunning, A. M., Healey C. S., Pharoah, P. D. P., Teare, M. D., Ponder, B. A. J., Easton, D. F. (1999). A Systematic Review Of Genetic Polymorphisms and Breast Cancer Risk. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. **8**, 843-854
- Falkenberry, S. S., Legare, R. D. (2002). Risk factors for breast cancer. *Obs. and Gyn. Cli. of N. America*, **29**, 159-172
- Feigelson, H. S., Coetzee, G. A., Kolonel, L. N., Ross, R. K., Henderson, B. E. (1997). A polymorphism in the CYP17 gene increases the risk of breast cancer. *Cancer Res.*, **57**(6), 1063-5.
- Feuer, E. J., Wun, L. M., Bering, C. C., et al. (1993) *J. Natl. Cancer Inst.*, **85**, 892
- Ford, D., Easton, D. F., Stratton, M., Narod, S., Goldgar, D., Devilee, P., Bishop, D. T., Weber, B., Lenoir, G., Chang-Claude, J. 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

- Guillemette, C., Millikan, R. C., Newman, B., Housman, D. E. (2000). Genetic polymorphisms in uridine diphospho-glucuronosyltransferase 1A1 and association with breast cancer among African Americans. *Cancer Res.*, **60(4)**, 950-6.
- Helzlsouer, K. J., Selmin, O., Huang, H. Y., Strickland, P. T., Hoffman, S., Alberg, A. J., Watson, M., Comstock, G. W., Bell, D. (1998). Association between glutathione S-transferase M1, P1, and T1 genetic polymorphisms and development of breast cancer. *J. Natl. Cancer Inst.*, **90(7)**, 512-8
- Hoskins, K. F., Stopfer, J. E., Calzone, K. A., Merajver, S. D., Rebbeck, T. R., Garber, J. E., Weber, B. L. (1995). Assessment and counseling for women with a family history of breast cancer. A guide for clinicians. *JAMA*, **273**, 577-585
- Huang, C., Chern, H., Chang, K., Cheng, C., Hsu, S., Shen, C. (1999). Breast cancer risk associated with genotype polymorphism of the estrogen-metabolizing genes CYP17, CYP1A1, and COMT: A multigenic study on cancer susceptibility. *Cancer Research*, **59**, 4870-4875
- Huang, C. S., Shen, C. Y., Chang, K. J., Hsu, S. M., Chern, H. D. (1999). Cytochrome P4501A1 polymorphism as a susceptibility factor for breast cancer in postmenopausal Chinese women in Taiwan. *Br J Cancer*, **80(11)**, 1838-43.
- Jong, M. M., Nolte, I. M., Meerman, G. J., Graaf, W. T. A., Oosterwijk, J. C., Kleibeuker, J. K., Schaapveld, M., Vries, E. G. E. (2002). Genes other than BRCA1 and BRCA2 involved in breast cancer susceptibility. *J. Med. Genet.*, **39**, 225-242
- Jupe, E. R., Liu, X. T., Kiehlbauch, J. L., McClung J. K., Dell'Orco R. T. (1995). Prohibitin antiproliferative activity and lack of heterozygosity in immortalized cell lines. *Exp. Cell Res.*, **218(2)**, 577-80
- Jupe, E. R., Liu, X. T., Kiehlbauch, J. L., McClung J. K., Dell'Orco R. T. (1996). The 3' untranslated region of prohibitin and cellular immortalization. *Exp. Cell Res.*, **224(1)**, 128-35
- Jupe, E. R., Liu, X. T., Kiehlbauch, J. L., McClung J. K., Dell'Orco R. T. (1996). Prohibitin in breast cancer cell lines: loss of antiproliferative activity is linked to 3-prime untranslated region mutations. *Cell Growth Diff.*, **7**, 871-878
- Jupe, E. R., Badgett, A. A., Neas, B. R., Craft, M. A., Mitchell, D. S., Resta, R., Mulvihill, J. J., Aston, C. E., Thompson, L. F. (2001). Single nucleotide polymorphism in prohibitin 3-prime untranslated region and breast-cancer susceptibility. *Lancet*, **357**, 1588-1589
- Katherine L. Nathanson and Barbara L. Weber. (2001). 'Other' breast cancer susceptibility genes: searching for more holy grail. *Human Molecular Genetics*, **10(7)**, 715-720

- Kristensen, V. N., Andersen, T. I., Lindblom, A., Erikstein, B., Magnus, P., Borresen-Dale, A. L. (1998). A rare CYP19 (aromatase) variant may increase the risk of breast cancer. *Pharmacogenetics*, **8**(1), 43-8.
- Krontiris, T. G., Devlin, B., Karp, D. D., Robert, N. J., Risch, N. (1993). An association between the risk of cancer and mutations in the *HRAS1* minisatellite locus. *N. Engl. J. Med.*, **329**, 517-523
- 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. Engl. J. Med.*, **343**(2), 78-85.
- Manjeshwar, S., Branam, D. E., Lerner, M. R., Brackett, D. J., Jupe, E. R. (2003). Tumor suppression by the prohibitin gene 3'untranslated region RNA in human breast cancer. *Cancer Res.*, **63**(17), 5251-6.
- McClung, J. K., Jupe, E. R., Liu, X. T., Dell'Orco, R. T. (1995). Prohibitin: potential role in senescence, development, and tumor suppression. *Exp. Gerontol.*, **30**(2), 99-124
- Miller, S. A., Dykes, D. D., Polsky, H. F. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucl. Acid. Res.*, **16**, 1215
- Newman, B., Mu, H., Butler, L. M., Millikan, R. C., Moorman, P. G., King, M. C. (1998). Frequency of breast cancer attributable to BRCA1 in a population-based series of American woman. *J. Am. Med. Assoc.*, **279**, 915-921
- Nuell, M. J., Stewart, D. A., Walker, L., Friedman, V., Wood, C. M., Owens, G. A., Smith, J. R., Schneider, E. L., Dell' Orco, R., Lumpkin, C. K., et al. (1991). Prohibitin, an evolutionarily conserved intracellular protein that blocks DNA synthesis in normal fibroblasts and HeLa cells. *Mol. Cell Biol.*, **11**(3), 1372-81
- Parker, S. L., Tong, T., Bolden, S., Wingo, P.A. (1997). Cancer statistics, 1997. *CA* **47**, 5-27.
- Peto, J., Collins, N., Barfoot, R., Seal, S., Warren, W., Rahman, N., Easton, D. F., Evans, C., Deacon, J. and Stratton, M. R. (1999). Prevalence of BRCA1 and BRCA2 gene mutations in patients with early-onset breast cancer. *J. Natl Cancer Inst.*, **91**, 943-949
- Pharoah, P. D. P., Mackay, J. (1998). Absolute risk of breast cancer in women at increased risk: a more useful clinical measure than relative risk? *Breast*, **7**, 255-259
- Rebbeck, T. R., Couch, F. J., Kant, J., Calzone, K., DeShano, M., Peng, Y., Chen, K., Garber, J. E. and Weber, B. L. (1996) Genetic heterogeneity in hereditary breast cancer: role of BRCA1 and BRCA2. *Am. J. Hum. Genet.*, **59**, 547-553.

- Risch, N., Merikangas, K. (1996). The future of genetic studies of complex diseases. *Science* **273**, 1516–1517
- Roskams, A. J. I., Friedman, V., Wood, C. M., Walker, L., Owens, G. A., Stewart, D. A., Altus, M. S., Danner, D. B., Liu, X., McClung, J. K. (1993). Cell cycle activity and expression of Prohibitin mRNA. *J. Cellular Phys.*, **157**, 289-295
- Sato, T., Saito, H., Swensen, J., Olifant, A., Wood, C., Danner, D., Sakamoto, T., Takita, K., Kasumi, F., Miki, Y., Skolnick, M., Nakamura, Y. (1992). The human prohibitin gene located on chromosome 17q21 is mutated in sporadic breast cancer. *Cancer Res.*, **52**, 1643-1646
- Sato, T., Sakamoto, T., Takita, K. I., Saito, H., Okui, K., Nakamura, Y. (1993). The human prohibitin (PHB) gene family and its somatic mutations in human tumors. *Genomics*, **17**, 762-764
- Schubert, E. L., Lee, M. K., Mefford, H. C., Argonza, R. H., Morrow, J. E., Hull, J., Dann, J. L. and King, M. C. (1997). BRCA2 in American families with four or more cases of breast or ovarian cancer: recurrent and novel mutations, variable expression, penetrance and the possibility of families whose cancer is not attributable to BRCA1 or BRCA2. *Am. J. Hum. Genet.*, **60**, 1031–1040
- Serova, O. M., Mazoyer, S., Puget, N., Dubois, V., Tonin, P., Shugart, Y. Y., Goldgar, D., Narod, S. A., Lynch, H. T., Lenoir, G. M. (1997). Mutations in BRCA1 and BRCA2 in breast cancer families: are there more breast cancer-susceptibility genes? *Am. J. Hum. Genet.*, **60**, 486–495
- Siegelmann-Danieli, N., Buetow, K. H. (1999). Constitutional genetic variation at the human aromatase gene (Cyp19) and breast cancer risk. *Br. J. Cancer*, **79(3-4)**, 456-63
- Spurdle, A. B., Hopper, J. L., Xiaoqing, C., McCredie, M. R. E., Giles, D. G., Newman, B., Chenevix, G. (2002). Prohibitin 3' untranslated region polymorphism and breast cancer risk in Australian women. *Lancet*, **360**, 925-6
- Spurdle, A. B., Purdie, D. M., Chen, X., Chenevix-Trench, G. (2003). The prohibitin 3' untranslated region polymorphism is not associated with risk of ovarian cancer. *Gynecol Oncol.*, **90(1)**, 145-9
- Taioli, E., Trachman, J., Chen, X., Toniolo, P., Garte, S. J. (1995). A CYP1A1 restriction fragment length polymorphism is associated with breast cancer in African-American women. *Cancer Res.*, **55(17)**, 3757-8.
- Thompson, P. A., Shields, P. G., Freudenheim, J. L., Stone, A., Vena, J. E., Marshall, J. R., Graham, S., Laughlin, R., Nemoto, T., Kadlubar, F. F., Ambrosone, C. B. (1998). Genetic polymorphisms in catechol-O-methyltransferase, menopausal status, and breast cancer risk. *Cancer Res.*, **58(10)**, 2107-10.

- Vehmanen, P., Friedman, L. S., Eerola, H., McClure, M., Ward, B., Sarantaus, L., Kainu, T., Syrjakoski, K., Pyrhonen, S., Kallioniemi, O. P., Muhonen, T. et al. (1997). Low proportion of BRCA1 and BRCA2 mutations in Finnish breast cancer families: evidence for additional susceptibility genes. *Hum. Mol. Genet.*, **6**, 2309–2315
- Wang-Gohrke, S., Rebbeck, T. R., Besenfelder, W., Kreienberg, R., Runnebaum, I. B. (1998). p53 germline polymorphisms are associated with an increased risk for breast cancer in German women. *Anticancer Res.*, **18**, 2095–2099
- Wang, S., Nath, N., Adlam, M., Chellappan, S. (1999). Prohibitin, a potential tumor suppressor, interacts with RB and regulates E2F function. *Oncogene*, **18**, 3501–3510
- Weber, B. L., Nathanson, K. L. (2000). Low penetrance genes associated with increased risk for breast cancer. *Eur J Cancer*, **36(10)**, 1193-9.
- Weinberg, E. D. (1996). The role of iron in cancer. *Eur. J. Cancer Prev.*, **5**, 19-36
- White, J. J., Ledbetter, D. H., Eddy, R. L., Jr., Shows, T. B., Stewart, D. A., Nuell, M. J., Friedman, V., Wood, C. M., Owens, G. A., McClung, J. K., Danner, D. B., Morton, C. C. (1991). Assignment of the human prohibition (sic) gene (PHB) to chromosome 17 and identification of a DNA polymorphism. *Genomics*, **11**, 228-230
- Zheng, W., Xie, D., Jin, F., Cheng, J., Dai, Q., Wen, W., Shu, X., Gao, Y. (2000). Genetic polymorphism of cytochrome P450-1B1 and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, **9**, 147-150
- Zhu, B. T., Conney, A. H. (1998). Is 2-methoxyestradiol an endogenous estrogen metabolite that inhibits mammary carcinogenesis? *Cancer Res.*, **58(11)**, 2269-77
- <http://envirocancer.cornell.edu/FactSheet/General/fs48.inheritance.cfm?navigation=no>, 2003
- <http://www.breastdiseases.com/genebr2.htm>, 2003 Hereditary Breast Cancer.
- <http://www.cancer.org/eprise/main/docroot/CRI/content>, 2001
- http://www.cancer.org/eprise/main/docroot/CRI/content/CRI_2_4_2X_What_are_the_risk_factors_for_breast_cancer_5, 2001
- http://www.cancer.org/eprise/main/docroot/CRI/content/CRI_2_2_3X_How_is_breast_cancer_found_5, 2001
- <http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/Biologypages/P/Polymorphisms.html>, 2003

<http://www.ndsu.nodak.edu/instruct/mcclean/plsc431/index.htm>, 2001 Breast Cancer
Genes and Inheritance



VIII. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Nevin BALCI

Doğum Yeri: Kumru

Doğum Tarihi: 26.04.1978

Medeni Durumu: Bekar

Yabancı Dil: İngilizce

E-Mail: nevinbalci@hotmail.com

Eğitim Durumu: 1984-1989 İstiklal İlkokulu (SAMSUN)

1989-1996 Samsun Anadolu Lisesi

1996-2000 OMÜ Eğitim Fakültesi Biyoloji Bölümü

Görev Yeri: Erbaa Coşkun Önder Lisesi / TOKAT

Yüksek Lisans: 2000-2004 OMÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji A.B.D.

Yüksek Lisans Tez Konusu: Prohibitin Geni 3' Transle Edilmeyen Bölgedeki C→T Polimorfizmi İle Erken Yaş Meme Kanseri İlişkisi