

T.C  
ŞİFA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**MEME KANSERİNDE *ROS1* GENİNDEKİ  
DEĞİŞİKLİKLERİN FISH TEKNİĞİ İLE  
İNCELENMESİ**

Sümeyye ERTUĞRUL  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN  
Yrd. Doç. Dr. Işın KAYA

İKİNCİ DANIŞMAN  
Prof. Dr. Mehmet KORKMAZ

2016 - İZMİR

**ŞİFA ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**MEME KANSERİNDE *ROS1* GENİNDEKİ**  
**DEĞİŞİKLİKLERİN FISH TEKNİĞİ İLE**  
**İNCELENMESİ**

**Sümeyye ERTUĞRUL**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Yrd. Doç. Dr. Işın KAYA**

**İKİNCİ DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Mehmet KORKMAZ**

**Tez No: 2016 - 514**

**Bu tez Şifa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü**  
**tarafından 213 - 72 Proje numarası ile desteklenmiştir.**

**2016 - İZMİR**

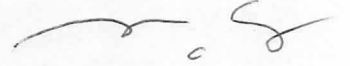
**KABUL ve ONAY**

Şifa Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

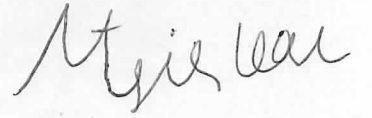
Şifa Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Ortak Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 26/05/2016

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Işın KAYA – Şifa Üniversitesi



Üye : Yrd. Doç. Dr. Uğur TÜRKAN – Gediz Üniversitesi

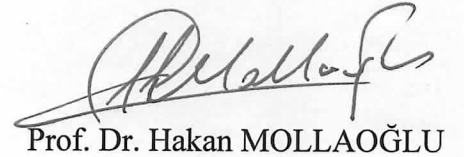


Üye : Doç. Dr. Hüseyin SARIBAŞAK– Şifa Üniversitesi



**ONAY :**

Bu “Meme Kanserinde Ros1 Genindeki Değişiklerin FISH Tekniği ile İncelenmesi” yüksek lisans tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Hakan MOLLAOĞLU

Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

Yüksek Lisans eğitimim boyunca tez çalışmam, laboratuvar çalışmaları ve her türlü konuda benden yardımlarını esirgemeyen sevgili hocam **Sayın Yrd. Doç. Dr. Işın KAYA**'ya sonsuz saygı ve sevgilerimi sunarım.

Benim manevi danışman hocam olan, bana maddi manevi her türlü desteği veren, beni gerçek bir biliminsanı olarak yetiştirmeye çalışan sevgili hocam **Sayın Doç. Dr. Hüseyin Sarıbaşak**'a katkılarından dolayı çok teşekkür ederim.

Her türlü laboratuvar desteğinde bulunan, fikirleriyle beni aydınlatan, maddi manevi hiçbir yardımı esirgemeyen değerli arkadaşlarım **Öğr. Gör. Yağmur DİLBER**, **Arş. Gör. Öznur SAYILIR**, **Öğr. Gör. Fatma KARAKUŞ** ve **Şeyda ONAT**'a teşekkürlerimi sunarım.

Öğrenim hayatım boyunca her zaman yanımda duran, yüksek lisans eğitimim boyunca her derdimi can kulağıyla dinleyip sabır gösteren canım **Aileme** çok teşekkür ederim.

Son olarak tanıdığım ilk günden beri yanımda olan, bana her konuda destek veren canım arkadaşım **Biyolog Betül Melike Oğan**'a çok teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY .....	i
Önsöz .....	ii
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini .....	v
Şekiller Dizini .....	vi
Resimler Dizini .....	vii
Tablolar Dizini .....	viii
<b>1.GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2.GENEL BİLGİ .....</b>	<b>3</b>
2.1.Meme .....	3
2.1.1.Meme Anatomisi .....	3
2.2.Meme Kanseri .....	6
2.2.1.Meme Kanserinin Epidemiyolojisi .....	6
2.2.2.Meme Kanserinde Risk Faktörleri .....	7
2.2.3.Meme Kanserinin Belirtileri .....	9
2.2.4.Meme Kanserinin Patolojisi .....	10
2.2.5.Meme Kanseri Tipleri .....	11
2.2.6.Meme Kanserinde Evreleme .....	13
2.3.Meme Kanseri Genetiği .....	14
2.3.1.Kromozomal Değişiklikler .....	16
2.3.2. <i>ROS1</i> Geni .....	17
2.4.FISH .....	20
<b>3.GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>	<b>21</b>
3.1.Gereçler .....	21
3.1.1.Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	21
3.1.2.Çözeltiler .....	21
3.1.3.Laboratuar malzemeleri .....	22
3.1.4.Kullanılan aletler ve cihazlar .....	22
3.2.Yöntem .....	22

3.2.1.FISH Ön Hazırlık Aşaması .....	23
3.2.1.1.Doku Kesitlerinde Deparafinizasyon Uygulaması ve Ön Hazırlık .....	23
3.2.2.Denatürasyon / Hibridizasyon ve Hibridizasyon sonrası yıkama .....	24
3.2.3.Tarama ve Analiz .....	25
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>26</b>
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	<b>28</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>31</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>32</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>33</b>
<b>EKLER</b> .....	<b>44</b>
EK 1: Etik Kurul Kararı .....	44
EK 2: Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu.....	45
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>47</b>

## Simgeler ve Kısaltmalar Dizini

<b>ABL1</b>	: Abelson Murine Leukemia viral oncogene homolog 1
<b>ALK</b>	: Anaplastik Lenfom Kinazı
<b>AJCC</b>	: Amerikan Kanser Komitesi
<b>BCR</b>	: Breakpoint Cluster Region protein
<b>BRCA1</b>	: Breast Cancer type 1 susceptibility protein
<b>BRCA2</b>	: Breast Cancer type 2 susceptibility protein
<b>Cc</b>	: Cubic centimetre(s) = cm <sup>3</sup>
<b>CC</b>	: Conventional Cytogenetic – Geleneksel Sitogenetik
<b>dH<sub>2</sub>O</b>	: Distile su
<b>DAPI</b>	: 4',6, - diamidino – 2 - Phenylindole
<b>DNA</b>	: Deoksiribo Nükleik asit
<b>FISH</b>	: Floresan in situ hibridizasyon
<b>HER2 (Her2)</b>	: Human Epidermal Growth Factor Receptor 2
<b>HCl</b>	: Hidroklorikasit
<b>IDC</b>	: Invaziv duktal karsinoma
<b>Ki-67 (MKI67)</b>	: Antigen identified by monoclonal antibody
<b>M</b>	: Molarite
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>mm</b>	: Milimetre
<b>NP 40</b>	: Mild non-ionic detergent
<b>PCR</b>	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>pH</b>	: Power of Hydrogen
<b>p53</b>	: Protein 53
<b>ROS1</b>	: Proto-onkogen tirozin protein kinaz
<b>SSC</b>	: Standart Sodyum Sitrat
<b>UICC</b>	: Uluslararası Kanser Kontrol Örgütü
<b>Vs</b>	: Vesaire
<b>µl</b>	: Mikrolitre

## Şekiller Dizini

Şekil 1: Meme glandı, anterolateral kesit .....	4
Şekil 2: Meme glandı, sagital kesit.....	4
Şekil 3: Meme Kanseri Belirtileri.....	9
Şekil 4: Kromozomal Mutasyonlar.....	16
Şekil 5: Hücre yüzeyi Reseptör Trozin Kinaz proteini- <i>ROS1</i> .....	18
Şekil 6: <i>ROS1</i> gen lokasyonu .....	19
Şekil 7: FISH yönteminin çalışma prensibi .....	20
Şekil 8: Normal hücrenin floresan mikroskoptaki görüntüsü (X100).....	27
Şekil 9: Monozominin floresan mikroskoptaki görüntüsü (X100).....	28



## Resimler Dizini

<b>Resim 1:</b> Dokunun deparafinizasyon sonrası inverted mikroskop ile alınan görüntüsü (X100) .....	27
---	----



## Tablolar Dizini

<b>Tablo1:</b> Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Meme Tümörlerinin Histolojik Sınıflandırması .....	<b>11</b>
<b>Tablo 2:</b> Meme Kanserinde Evreleme.....	<b>14</b>
<b>Tablo 3:</b> FISH Probu Kit içeriği.....	<b>23</b>
<b>Tablo 4:</b> Depamiks doku FISH Deparafinizasyon ve Hazırlık Kiti içeriği.....	<b>23</b>
<b>Tablo 5:</b> Denatürasyon solüsyonu içeriği.....	<b>24</b>
<b>Tablo 6:</b> Yıkama Solüsyonu 1 ve 2'nin içeriği .....	<b>25</b>

## 1. GİRİŞ

Meme kanseri kadınlar arasında en sık görülen kanser türüdür ve tüm kanserlerin %23'ünü oluşturur (Escalona et al., 2010; Salimi et al., 2012). Amerikan kanser derneği verilerine göre 2015 yılında, 231.840 kişinin yeni vaka olarak teşhis edileceği ve yaklaşık 40.290 kişinin de ölebileceği bildirilmiştir. Dikkat çekici tedavi stratejilerine rağmen, meme kanseri hala birçok ülkede başta gelen ölüm nedenleri arasında yer almaktadır (Siegel et al., 2015). Şu ana kadar, yapılan geniş çaplı araştırmalar meme kanseri patogeneğinde rol oynayan moleküler mekanizmaları ortaya çıkarmıştır. Ancak meme kanserinin en şaşırtıcı yönü hala gün yüzüne çıkarılmayı beklemektedir (Hedieh Fardmanesh et al., 2016).

Meme kanseri oluşumunda tek bir neden yoktur ve genetik, epigenetik ve transkriptomik değişikliklerin kanser gelişiminde rol oynadığı gösterilmiştir (C. Curtis et al., 2012; F. Correa Geyer, J.S. Reis-Filho, 2009). Heterojen bir hastalık olan meme kanseri farklı morfolojik özelliklere sahiptir ve bu nedenle farklı tümör alt tipleri vardır (O. Yersal, S. Barutca, 2014; K.M. Cornejo, D. Kandil, A. Khan, E.F. Cosar, 2014). Bu tiplerden biri olan, invaziv meme kanseri en sık görülen meme kanseridir ve invaziv duktal karsinom (IDC) en sık görülen patolojik tipidir (Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A., 2014; Lebeau A, Kriegsmann M, Burandt E, Sinn HP, 2014).

Tümör yatkınlık genleri olan BRCA1 ve BRCA2, ailesel meme kanseri vakalarının yaklaşık %80'inde etkili olduğu bulunmuştur (Antoniou AC, Easton DF, 2006; Rosen EM et. al, 2003 ). Bu genler hücre genomunun bütünlüğünün sürdürülmesinde önemlidirler (Venkitaraman AR, 2002; Macdonald F, Ford CHJ, Casson AG, 2004) ve hücre döngüsü ve DNA onarımı sırasında bir arada çalıştığı düşünülmektedir (Macdonald F, Ford CHJ, Casson AG, 2004).

Reseptör tirozin kinazları (RTK'ler) içeren kromozomal yeniden düzenlemeler küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (NSCLC), kolorektal kanser ve meme kanserinde dahil olmak üzere birçok epitel malignitelerde tespit edilmiştir (Lee J, 2013). Transforme özelliği ile birlikte genetik yeniden düzenlemelerde rol aldığı

gösterilen bir reseptör tirozin kinaz olan *ROS1*, antikanser ilaçlar için de potansiyel bir hedefdir. (Birchmeier C, Sharma S, Wigler M., 1987; Charest A et al., 2003). Bu çalışmada, Şifa Üniversitesi Bornova Eğitim ve Araştırma Hastanesinde 2015-2016 yılı arasında invaziv duktal karsinoma tanısı konmuş meme kanseri hasta dokuları kullanılarak, FISH yöntemiyle *ROS1* geni amplifikasyonu incelenmiştir.



## 2. GENEL BİLGİ

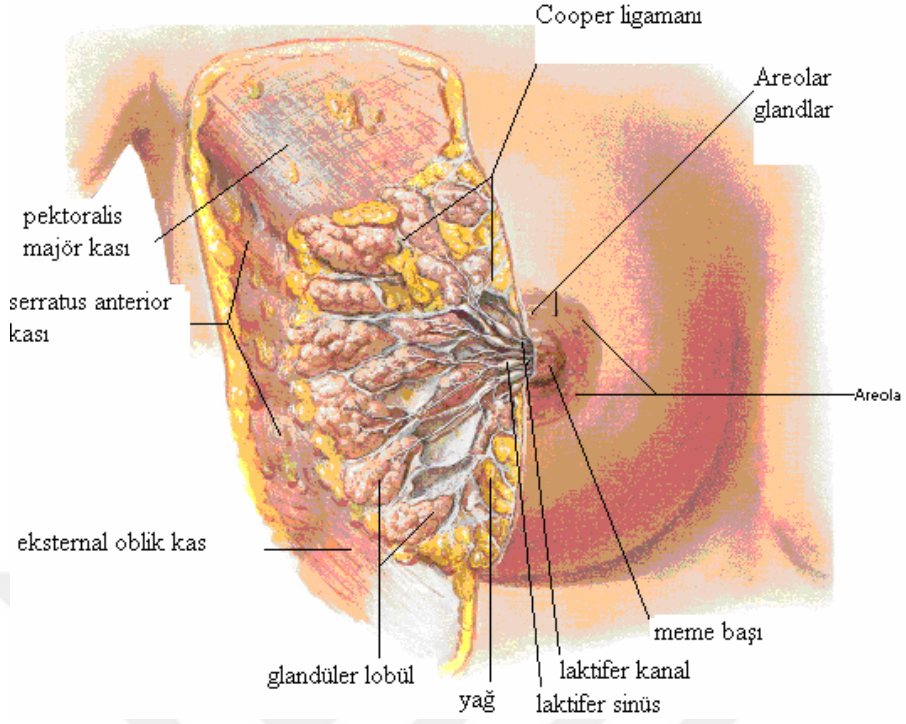
### 2.1. Meme

#### 2.1.1. Meme Anatomisi

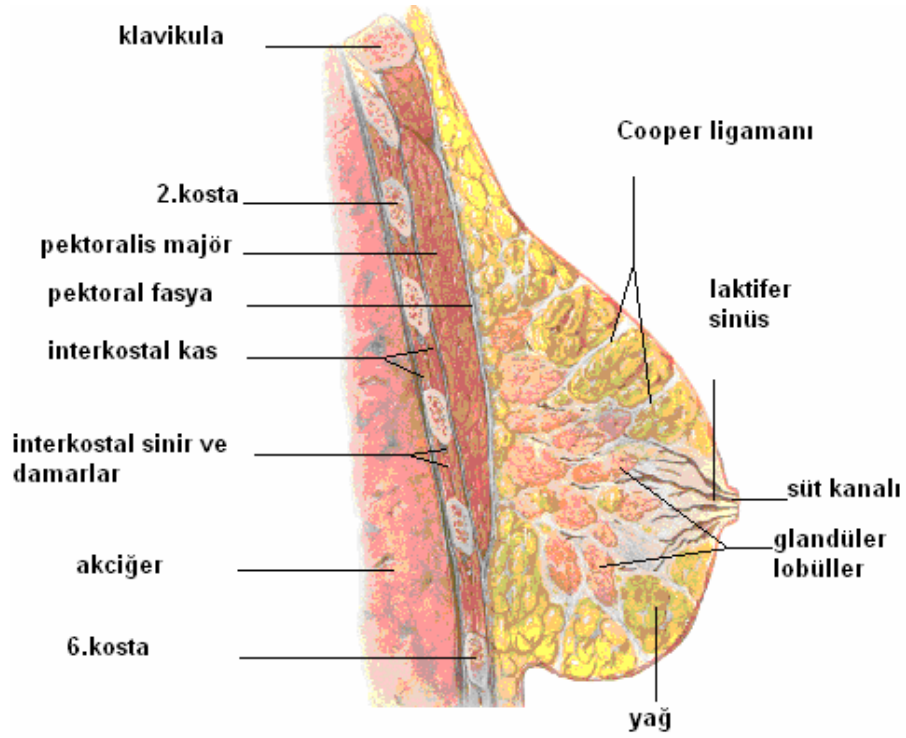
Meme bezleri embriyolojik hayatta, aksiler bölgeden inguinal bölgeye uzanan süt çizgileri üzerinde yerleşir. Bu gelişim döneminden sonra postnatal dönemde erkekte çok az ek gelişim görülür ve meme bezleri rudimenter kalır. Kadınlarda ise hormonlar tarafından regüle edilen meme gelişimi devam eder (Spratt JS, Tabin GR, 1995 ).

Memeler, göğüs ön duvarında, 2-6. kaburgalar arasında yer alan, ektodermal kaynaklı, süt oluşturabilme yeteneğine sahip, spesialize, aksesuar deri bezlerinden meydana gelmiş yapılardır. Süt çocuğunun beslenmesinde ve sekonder cinsel organ olarak rolü vardır (Yıldırım M, 2012). Memeler *m.pectoralis* major fasyası üzerinde uzanır ve bu kasa gevşek bağ dokusu ile tutunurlar. Cooper ligamenti olarak bilinen fibröz bağ doku bantları ile deriye tutunur. Her meme yaklaşık 15-20 lobdan oluşan bez dokusundan meydana gelir (Şekil 1-2). Bu lobların kanalları, *ductus lactiferi* ismiyle, 15-20 kanal halinde papillaya (*papilla mammae*) açılırlar. Papillanın etrafındaki koyu renkli sahaya, areola (*areola mammae*) adı verilir.

Puberte döneminde östrojen ve progesteron hormonları, meme bezlerinin, duktusların ve yağ dokusunun gelişimini uyararak, karakteristik bir yetişkin memesini oluşturur (Sarsılmaz M ark, 2012).



Şekil 1. Meme glandı, anterolateral kesit (Netter FH, 1998)



Şekil 2. Meme glandı, sagittal kesit (Netter FH, 1998).

### 2.1.2. Meme Fizyolojisi

Memenin gelişimi ve fonksiyonu değişik hormonların etkisi ile olur. Bu hormonların bazıları hipotalamus, hipofiz ve overler tarafından salgılanan; östrojen, progesteron, oksitosin, prolaktin, kortizol, tiroid hormonları ve büyüme hormonlarıdır (Sivenberg E, Lubera J, 1987).

Meme için oldukça önemli olan bu hormonların etkileri in vitro olarak gösterilmiştir. Tam olarak östrojenin, duktus gelişimini başlattığı; prolaktin ve progesteronun lobül ve asinüs gelişimini kontrol ettiği ve prolaktinin süt salgısını oluşturduğu kanıtlanmıştır (Greenlee RT, Murray T, Bolden S, 2000).

**Östrojen**, memelerde yağ birikmesine, stromal dokunun ve kanal sisteminin yaygın şekilde gelişmesine neden olur. Memedeki lobüller ve alveoller, östrojen sayesinde bir miktar gelişme gösterir ancak asıl gelişmeleri, progesteron ve prolaktin ile olur. Ayrıca erişkin kadınlardaki göğüs yapısının bilinen şeklini alması, yine östrojenin etkisi ile meydana gelir. Ancak östrojen tek başına, memeleri süt veren organ haline getiremez (Guyton CA, 1976). Laktasyon için ise, prolaktin gereklidir. Hamilelik sırasında yüksek oranda bulunan östrojen ve progesteron, prolaktin salınımını baskılar. Doğum sonrası plasenta çıktıktan sonra ise, progesteron ve östrojenin ani düşüşü laktasyonu başlatır (Spratt JS, Spratt SW, 1990).

**Progesteron**, memelerdeki lobulus ve alveolus'ların gelişmesinin sağlar. Alveol hücreleri progesteron etkisi ile çoğalır, büyür ve yapı olarak sekretuar özellik kazanır. Aynı zamanda, kısmen deri altı dokusunun sıvı miktarı bakımından zenginleşmiş olması ve alveolus'lardaki sekretuar değişikliklerden dolayı; progesteronun, memenin şişmesinde de görev aldığı bilinmektedir (Guyton CA, 1976).

Hipofizden salgılanan **prolaktin**, hamileliğin son döneminde ve doğumdan hemen sonrayükselir ve lohusalık döneminde yüksek kalır. Memenin hücre yüzeyinde bulunan reseptörlere bağlanarak etkisini gösterir. Aynı zamanda, memedeki östrojen reseptörlerinin sayısını artırır, süt sekresyonunu ve süt proteinlerinin sentezini kontrol eder (Spratt JS, Donegan W, 1971).

## 2.2. Meme Kanseri

### 2.2.1. Meme Kanserinin Epidemiyolojisi

Kanser, hem dünyada hem de ülkemizde ölüm nedeni olarak %22 oranında kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırada gelmektedir. Son yılların verilerine göre kanser, bir toplum sağlığı sorunu olarak ortaya çıkmaktadır. 2005 yılında 12 milyon kişi kansere yakalanmış ve 7 milyon insan kanser nedeni ile hayatını kaybetmiştir. 2030 yılında ise bu rakamın 24 milyon insana ulaşacağı öngörülmektedir. Bu artışın en önemli nedeninin kansere neden olan risk faktörlerindeki ve maruziyetin artış olduğu düşünülmektedir (Tuncer ark., 2009).

Dünyanın birçok farklı bölgesinde olduğu gibi ülkemizde de meme kanseri kadınlarda en çok görülen kanser türüdür. 2006 yılındaki, kadınlarda en sık görülen 10 kanser türünün insidansına göre; meme kanseri yüz bin nüfusta 41,7 oranı ile ilk sırada yer almaktadır. Kanser çeşitlerine göre ölüm oranlarına bakıldığında kadınlarda, meme kanserinin en yüksek değere sahip olduğu görülmektedir (Tuncer ark., 2009).

Meme kanserinin erken evrelerde tanısı, diğer kanser türlerine göre daha kolay olduğundan; kullanılan cerrahi daha etkili olabilmekte ve daha az kemoterapik uygulama ile hastalıkta iyileşme görülebilmektedir. Erken tanı ve tedavi yöntemleri ile gelişmiş ülkelerde meme kanseri teşhisi konulan hastalarda 5 yıllık sağ kalım yaklaşık ortalama %80 iken, bu oran geliştirmekte olan ülkelere %40-60 civarındadır. Hastalara erken evrede (lokalize) meme kanseri tanısı ile sağ kalım, 1950'lerdeki % 80 oranından günümüzde %98'lere çıkmıştır (Tuncer ark., 2009).

Aynı zamanda, meme kanseri sıklığı önemli derecede coğrafi bölgelere bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Örneğin, Türkiye'nin Batısında meme kanseri sıklığı 50/100.000 oranında iken, Doğusunda 20/100.000 şeklindedir. Batıdaki bu artış, " Yaşamın Batılılaşması yani; Westernizing Life" ile (erken menarş,geç doğum (>30 yaş), daha kısa laktasyon, geç menapoz vs.) açıklanabilir (Tuncer M, 2008; Özmen V, 2008).

Bu kanser türü kadınlarda görülme sıklığı olarak birinci sırada yer alması nedeniyle erken tanı ve tedaviye yönelik çalışmalar önem taşımaktadır.



Epidemiyolojik çalışmalar yapılarak risk faktörleri belirlenmeye çalışılmakta ve tarama yöntemleri uygulanarak erken dönemde meme kanseri tanısı konulmaya çalışılmaktadır. Tüm dünyada genel olarak yaşa bağımlı olarak çevresel faktörler, aile hikayesi, genetik yatkınlık, hormon kullanımı, yaşam stili, ve menarş yaşı, meme kanseri riskini belirleyen en önemli faktörler olarak tanımlanmaktadır (Tuncer ark., 2009).

### 2.2.2. Meme Kanserinde Risk Faktörleri

Meme kanserinde etkili olan birçok risk faktörü vardır ancak bu faktörlerin hangi nedenle ortaya çıktığı tam olarak bilinmemektedir (Göcen E., 2008; Somunoğlu S, 2007). Çevresel faktörler, genetik yatkınlık, hormon kullanımı, psikolojik ve biyolojik faktörler, yaşam stili gibi birçok faktör, meme kanserinin oluşumunda rol oynamaktadır (Kaplan B, 1996).

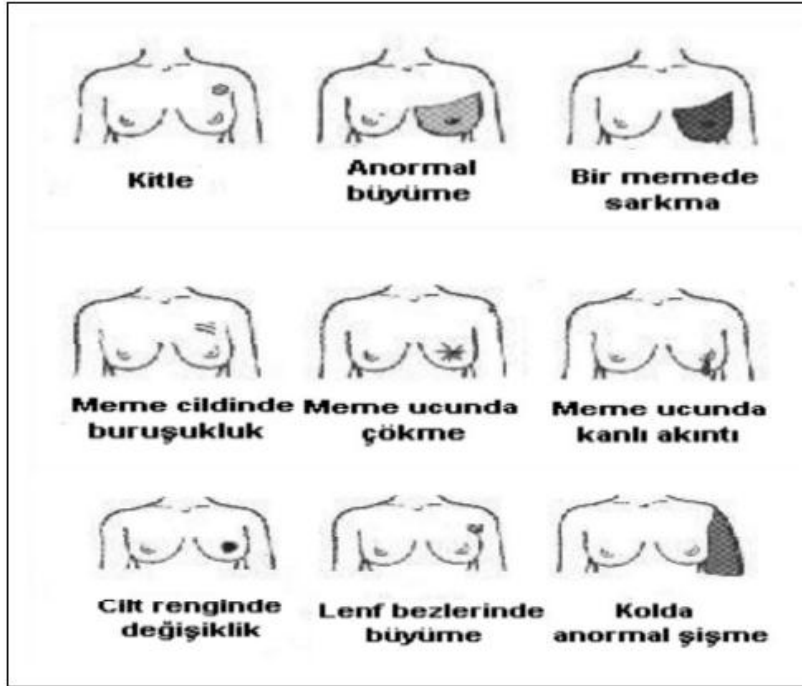
- Yaş; Meme kanseri yaş ile birlikte artış göstermektedir. Tüm meme kanserli hastaların yaklaşık % 75'ine menopoz sonrası dönemde tanı konulmaktadır (Box BA, 2004).
- Cinsiyet; Meme kanseri erkelerde çok nadir görülmekte olup; sıklıkla kadınlarda meydana gelmektedir (Akyolcu N, 1985).
- Aile Öyküsü; Bir bireyin birinci dereceden akrabasında bu kanserin bulunması, riski 2 kat artırırken; ikiden fazla kişide bu kanserin bulunması, riski 4-6 kat artırır (Garber J, 2005).
- Genetik Yatkınlık; Meme kanseri duyarlılık genlerinden olan BRCA1 ve BRCA2'deki kalıtsal genetik mutasyonlar tüm vakaların % 5-10'nunu oluşturur (Natalia, Sonja H, Thilo D, 2013). 35 yaş altındaki meme kanserli hastalarda bu mutasyonlar daha sık görülür. BRCA1 taşıyıcılarının meme kanserine yakalanma riski % 40-80 iken, bu oran BRCA2 taşıyıcıları için % 40-70'dir (Garber J, 2005).
- Doğurganlık ve menstruasyon döngüsü; Östrojen, progesteron, menarş, menopoz ve doğum yaşı gibi faktörler meme kanseri riski ile yakından ilişkilidir (MacMahon B, Cole P, Brown J, 1973; Box BA, Russel CA, 2004). İlk adet 12

yaşından önce görülmesi ve menopozun 55 yaşından sonra gerçekleşmesi meme kanseri için risk taşımaktadır. Ayrıca, ilk doğumunu 30 yaşından sonra yapan kadınlarda meme kanseri riski, 18 yaşından önce doğum yapan kadınlara göre çok daha fazladır (Box BA, Russel CA, 2004).

- Laktasyon öyküsü;Yapılan çalışmalarda emzirmenin meme kanseri riskini azalttığı (Lipworth L, Bailey LR, Trichopoulos D, 2000); ayrıca emzirmeyen kadınlarda meme kanseri görülme riskinin oldukça yüksek olduğu da bildirilmektedir (Lee SY, Kim MT, Kim SW, Song MS, Yoon SJ, 2003).
- Ekzojen östrojenler; Dışarıdan alınan östrojenin meme kanseri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Östrojen, meme dokusunda normal ve kanserli hücrelerin büyümesini uyardığı için; uzun süreli kullanımlarda meme kanseri riskinin çok az miktarda artmasına neden olmaktadır (Kelsey J. L., Gammon M. D, 1991; Gençay T, 2007). Menopoz sonrası alınan hormon tedavisinin de meme kanseri riskini artırdığı gösterilmiştir (Collaborative Group, 1997).
- Alkol; Yüksek oranda alkol alımının kadınlarda meme kanseri riskini artırdığı bildirilmiştir. Bu aşırı alkol tüketiminin menopoz öncesi ve sonrası dönemlerde total östrojen seviyesini etkilediği gösterilmiştir. Yapılan çalışmalar ile, alkole bağlı meme kanseri riskinin folat alımı ile azaltılabileceği gösterilmiştir (Margolese RG, Fisher B, Hortobagyi GN, Bloomer WD, 2000).
- Radyasyon; Yüksek ve iyonize radyasyona maruz kalan kişilerde meme kanseri riski oldukça yüksektir(Margolese RG, Fisher B, Hortobagyi GN, Bloomer WD, 2000).
- Beslenme; Meme kanseri ile beslenme arasındaki ilişki, bu kanserin farklı ülkelerde değişik sıklıklarla görülmesi ve sadece genetik faktörlerle açıklanamaması nedeniyle daha çok araştırılmaya başlanmıştır (Topuz E, Aydın A, Dinçer M, 2003). Örneğin, lifli besinlerin meme kanseri riskini azalttığı tespit edilmiş (Ünver S, 1998); fazla yağ kullanımının da meme kanseri riskini artırdığı gözlenmiştir (Sertöz Ö. Ö, 2002).

### 2.2.3. Meme Kanserinin Belirtileri

Meme kanserinin belirtileri, kişiden kişiye değişiklikler göstermektedir. Teşhisin konulmasında ilk bulgu %70 oranında meme de bir kitle varlığının tespit edilmesidir. Bu kitle genellikle ağrısız bir şekilde ilerlese de, daha sonraki aşamalarda ağrı belirtiler arasına girmektedir (Somunoğlu S., 2009; Serdar S, 2000). Memede birçok değişiklik meydana gelebilir ve bu değişikliklerin nedeni meme kanserine işaret edebilir (Somunoğlu S., 2009). Kitle, ağrı, akıntı, portakal kabuğu görünümü, meme başı retraksiyonu, lenf bezlerinde şişlik, memede büyüme veya küçülme, enflamasyon gibi belirtiler meme kanserinde saptanan bulgulardandır (Gençay T, 2007; Akyolcu N, 1985).



**Şekil 3.** Meme Kanseri Belirtileri([www.ism.gov.tr/indir/acsap/meme\\_muayenesi\\_erken\\_tani.ppt](http://www.ism.gov.tr/indir/acsap/meme_muayenesi_erken_tani.ppt), Erişim Tarihi: 13 Nisan 2013).

#### 2.2.4. Meme Kanserinin Patolojisi

Memede, her biri meme başından başlayan, giderek daha ince dallara ayrılan ve terminal duktus lobul birimlerini oluşturarak sonlanan 6-10 adet kanallar sistemi bulunur. Bu duktus lobul birimleri, tek bir duktusa açılan üzüm salkımı şeklinde keseciklerden oluşur. Her bir kesecik, bazal membran üzerinde miyoepitelyal hücreler ve bunlar üzerinde lümene bakan epitel hücrelerinden oluşur. Meme kanserlerinin %90'ı invaziv duktal ya da invaziv lobuler karsinomdan oluşur (Yoder BJ, Wilkinson EJ, Massoll NA, 2007).

Duktal tip karsinomlar, meme kanserlerinin %80'ini oluşturur ve tubuler, mikropapiller, medüllergibi alt tiplere ayrılır. Ayrıca, duktal karsinomların %80'i başka şekilde tarif edilmeyen (NOS = not otherwise specified) karsinomlar olup, daha önce sikröz ve komedokarsinoma olarak tanımlanan tipleri de içerir.

Meduller karsinomlar, infiltratif kanserlerin %5'ini oluşturup invaziv karsinomlara göre daha az agresiftirler ve geç metastaz yaparlar (Sherman CD ark, 1990). Lobular karsinomlar ise, meme kanserlerinin %10-15'ini oluşturur ve duktal karsinomadan farklı olarak duktus yapısı oluşturmazlar (Yoder BJ, Wilkinson EJ, Massoll NA, 2007).

Paget karsinoması, infiltratif olmayan bir intraduktal karsinomun özel epidermotropik gelişimini gösterir. Meme başı epidermisinde areolada ve çevre deride çok yavaş yayılır. Daha ileri evrede tümör invazif hale gelip tipik meme kanseri ortaya çıkar (Sherman CD ark, 1990).

Diğer bir tümör türü olan “İnflamatuvar Karsinom” veya “Karsinomatöz Mastit”, lenf yolları ile hızlı ve erken bir şekilde yayılım yapar (Sherman CD ark, 1990).

Mezenkimal tümörler ise, karsinomlardan çok daha nadir görülür. Malign “phyllodes” ve anjiyosarkomlar ve malign lenfomalara (özellikle non-Hodgkin) bağlı meme lezyonları da unutulmamalıdır (Sherman CD ark, 1990).

## 2.2.5. Meme Kanseri Tipleri

Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün sınıflandırmasına göre, değişik meme kanseri tipleri Tablo 1'de gösterilmiştir (Tavasolli FA, Devilee P, 2003).

**Tablo 1.** Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Meme Tümörlerinin Histolojik Sınıflandırması (Tavasolli FA, Devilee P, 2003)

<b>Epitelyal tümörler</b>	<b>Miyoepitelyal lezyonlar</b>
İnvaziv duktal karsinom (Aksi belirtilmediyse)	Miyoepteliyos
Karışik tip karsinom	Adenomiyeptelyal adenozis
Pleomorfik karsinom	Adenomiyepteliyoma
Osteoklastik dev hücreleri ile karsinom	Malign miyoepteliyoma
Koryokarsinomatöz özelliklere sahip karsinom	
Melanotik özelliklere sahip karsinom	
İnvaziv lobüler karsinom	<b>Mezenkimal tümörler</b>
Tübüler karsinom	Hemanjiyom
İnvaziv kribriform karsinom	Anjiyomatosis
Medüller karsinom	Hemanjioperisitomlar
Müsinöz karsinom ve bol müsin ile diğer tümörler	Psödoanjiyomatöz stromal hiperplazi
Müsinöz karsinom	Myofibroblastoma
Kistadenokarsinom ve kolumnar hücreli müsinöz karsinom	Fibromatozis (agresif)
Taşlı halka hücreli karsinom	İnflamatuvar miyofibroblastik tümör
Nöroendokrin tümörler	Lipom
Katkı nöroendokrin karsinom	Anjiyolipom
Atipik karsinoid tümörü	Granüler hücreli tümör
Küçük hücreli / yulaf hücreli karsinom	Nörofibroma
Büyük hücreli nöroendokrin karsinom	Schwannoma
İnvaziv papiller karsinom	Anjiyosarkomu
İnvaziv mikropapiller karsinom	Liposarkom
Apokrin karsinom	Rabdomiyosarkom
Metaplastik karsinomlar	Osteosarkom
Saf epitel metaplastik karsinom	Leyomiyom
Skvamöz hücre karsinoması	Leyomiyosarkoma
İğsi hücreli metaplazi ile Adenokarsinom	
Aenoskuamöz karsinom	<b>Fibroepitelyal tümörler</b>
Mukoepidermoid karsinom	Fibroadenom
Karışik epitel / mezenkimal metaplastik karsinom	Fillodes tümörü
Lipidden zengin karsinom	İyi huylu
Salgı karsinom	Sınır
Onkositik karsinom	Habis
	Periduktal sarkomu, düşük dereceli

**Tablo 1.** (Devamı) Dünya Sağlık Örgütü (WHO),  
Meme Tümörlerinin Histolojik Sınıflandırması

Adenoid kistik karsinom	Meme hamartom
Asinik hücre karsinomu	
Glikojen zengin berrak hücreli karsinom	<b>Meme ucu tümörleri</b>
Sebasöz karsinom	Uç adenom
İnflamatuvar karsinom	Siringomatöz adenom
Lobüler neoplazi	Meme Paget hastalığı
İn situ lobüler karsinom	
İntraduktal proliferatif lezyonlar	
Klasik duktal hiperplazi	
Düz epitel atipi	
Atipik duktal hiperplazi	
Duktal karsinoma in situ	
Mikroinvaziv karsinom	
İntraduktal papiller tümörleri	
Merkez papilloma	
Periferik papilloma	
Atipik papilloma	
İntraduktal papiller karsinom	
İntrakistik papiller karsinom	
Benign epitelyal proliferasyon	
Adenozis (varyantları da dahil olmak üzere)	
Sklerozan adenozis	
Apokrin adenozis	
Kör kanal adenozis	
Mikroglandular adenozis	
Adenomiypepitelyal adenozis	
Radyal skar / kompleks sklerozan lezyon	
Adenomlar	
Tübüler adenoma	
Lactating adenom	
Apokrin adenom	
Pleomorfik adenom	
Duktal adenom	

Meme kanserinin histolojik tipleri, iyi veya kötü prognoz gösterebilir. İnvaziv lobüler, tübüler, medüller, kribriform, müsinoz, ve papiller kanser iyi prognozu; metaplastik (sarkomatoid) inflamatuvar ve lipidden zengin kanser ise kötü prognozu göstermektedir (Tavasolli FA, Devilee P, 2003).

## 2.2.6. Meme Kanserinde Evreleme

Evreleme, kanserin nerede yerleştiğinin, nerelere yayıldığıının veya diğer organların etkilenip etkilenmediğinin tanımlanmasıdır. Bu tanımlamanın yapılması, uygulanacak tedavinin ve prognozun belirlenmesinde çok önemlidir (Atılgan H, 1999). Dünyada ve ülkemizde en çok kullanılan sınıflandırma, (1987) UICC (Uluslar arası Kanser Kontrol Örgütü) ve (1988) AJCC (Amerikan Kanser Komitesi)'nin oluşturduğu TNM sistemidir (İtilli Ö, 2009). Bu sınıflandırmaya göre;

Tümör büyüklüğü = T,

Koltukaltı lenf gangliyonu = N,

Uzak metastazlar = M ile gösterilir (Şahan B, 2004).

### Primer Tümör (T)

Tx: Primer tümör değerlendirilemeyebilir.

To: Primer tümör bulgusu yok

Tis: Tümör bulgusu olmayan Paget hastalığı, insitu tümör

T1: Tümör 2 cm veya daha küçük

T1a: Tümör 0.5 cm veya daha küçük

T1b: Tümör 0.5 cm'den büyük, ancak 1 cm'yi aşmamış

T1c: Tümör 1 cm den büyük, ancak 2 cm'yi aşmamış

T2: Tümör 2 cm den büyük ancak 5 cm'yi aşmamış

T3: Tümör 5 cm'yi aşmış

T4a: Toraks duvarına ulaşmış

T4b: Meme derisinde ödem (Peau d'orange dahil), ülserleşme, tümörlü memede yandaş deri lezyonları

T4c: T4a ve T4b beraber

T4d: İnflamatuar kanser

### Bölgesel lenf gangliyonları (N)

Nx: Bölgesel lenf gangliyonları değerlendirilemeyebilir (daha önce çıkarılmış olabilir).

N0:Bölgesel lenf bezi metastazı yoktur.

N1:Aynı taraf koltukaltında bir ya da fazla mobil lenf gangliyonuna metastaz

N2: Aynı taraf koltukaltında bir yada fazla lenf gangliyonunda metastaza; fakat bu lenfgangliyonları birbirlerine ya da dokulara yapışık

N3:Tümörün bulunduğu taraftaki iç mamaria lenf ganglion grubuna metastaz

### Uzak metastazlar (M)

Mx: Uzak metastazların varlığı belirlenemeyebilir

M0:Uzak metastaz yok

M1: Uzak metastazlar mevcut

AJCC, Amerikan Kanser Komitesi, 2003 yılında aşağıdaki (Tablo 2) sınıflandırmayı oluşturmuştur:

**Tablo 2.** Meme Kanseri Evreleme(Fisher B, Bauer M, Wickherman DL, 1983).

Evre 0	Tis N0 M0
Evre I	T1 N0 M0
Evre IIA	T0 N1 M0, T1 N1 M0, T2 N0 M0
Evre IIB	T2 N1 M0, T3 N0 M0
Evre IIIA	T0 N2 M0, T1 N2 M0, T3 N1 M0, T3 N2 M0
Evre IIIB	T4, Herhangi N, M0, Herhangi T, N3 M0
Evre IV	T ve N ne olursa olsun M1 içeren tüm hastalar

### **2.3. Meme Kanseri Genetiği**

Tüm kanserler, DNA dizisindeki birtakım anormalliklerle oluşmaktadır ve kanserlerin %10-15'inin kalıtsal olduğu, geriye kalan %85-90'lık kısmını ise yaşam boyunca canlı hücrelerdeki DNA'nın mutajenlere maruz kalması, hücre DNA'sındaki değişiklikler ve replikasyonda hatalar oluşması ile şekillendiği düşünülmektedir. Meme kanserinin de, genellikle çevresel nedenlerden dolayı oluştuğu düşünülse de, yapılan çok sayıda çalışma ile kanser hastalarının aileleri arasındaki vakalardan bir kısmında genetik faktörün olası rolü gösterilmiştir



(Feremans W, 1987). Yapılan bazı çalışmalarda da, meme kanseri riski yüksek bulunan kadınlarınannelerinde de meme kanseri varlığı saptanmıştır (Anderson D. E, 1974).

Normal insangenomunun DNA dizisinin saptanması ile kanser genomlarına yönelik daha ayrıntılıbir analize girilmiştir; başlangıçta araştırmalar tirozin kinazlar (TK) üzerineyöneltilmiş ve sonrasında tüm genomları içine alacak şekilde genişletilmiştir. Eniyi çalışılan ve açığa çıkarılan 21.000 insan geninin ayrıntılı sekans analizi sonuçları 2006'da yayınlanmıştır (Prat A, Parker JS, Karginova O, Fan C, Livasy C, Herschkowitz JI, et al., 2010) ve bunların içinde 11 kolon kanseri ve 11 meme kanseriörneği de bulunmaktadır. Bu tarama ile hem daha önceden meme kanseriyle ilişkiliolduğu bilinen kanser genleri (p53 ve BRCA1 gibi) analiz edilmiş, hem deönceden tespit edilmemiş kanser genleri keşfedilmiştir. Bu araştırma memekanserinin ortalama 90 mutant gen taşıdığını, ancak bu genlerin küçük bir kısmının(yaklaşık 12 tanesinin) neoplastik sürece yol açtığını göstermiştir. Aynı zamanda genler, fonksiyonel gruplar halindeincelendiğinde neredeyse tüm meme tümörü örneklerinde sinyal ileti yollarında vetranskripsiyon faktör genlerinde mutasyonlar bulunmuştur (Abeloff MD, Antonio CW, Weber BL, Tal ZZ, Sacchini V, McCormick B., 2008).

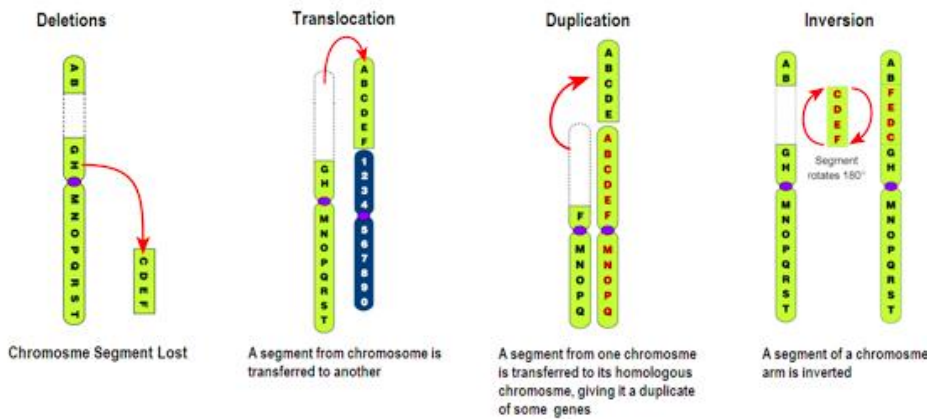
Meme kanseri oluşumuna birçok gen etki etmektedir ancak kalıtsal meme kanserlerinden sorumlu olarak, özellikle genom devamlılığının koruyuculuğunda iş gören proteinleri üreten bazı genlerin germ hücrelerindeki mutasyonları gösterilmiştir. Kalıtsal meme kanserinde gözlenen yüksek penetransa sahip meme kanserine yatkınlık genleri olarak BRCA1 ve BRCA2 genleri bulunmuştur (Cannazik Y, 2012). Normalde her insanda genetik yapının bir parçası olarak bulunan bu genler, risk altındaki kişilerde mutasyonludur (Güveloğlu E, 2006). BRCA1, DNA tamirinde, transkripsiyonel regülasyonda, hücre büyüme kontrolünde ve genomik bütünlüğün sağlanmasında rol oynar. Ayrıca, endokrin dokularda eksprese edilir, fakat özellikle erken gelişim sırasında diğer hücrelerde de mevcuttur (Güveloğlu E, 2006). BRCA2 ise, yapısal olarak BRCA1 ile benzerdir ancak yapısal alanları BRCA1 kadar iyi tanımlanmış değildir (Nathanson KL, Wooster R, Weber BL,

2001) ve BRCA1 ile, hücre döngüsü ve DNA tamiri sırasında birlikte görev aldığı düşünülmektedir (Macdonald F, Ford CHJ, Casson AG, 2004).

### 2.3.1. Kromozomal Değişiklikler

Kanser genomundaki genetik aberasyonların (delesyonlar, mutasyonlar ve amplifikasyonlar) açığa çıkarılması kanser patofizyolojisinin daha iyi anlaşılmasını, böylece tedaviye yönelik uygun hedeflerin saptanmasını sağlayacaktır (Sjöblom T. et.al, 2006).

Genetik materyalin yapısında meydana gelen spontan veya indüklenebilir değişikliklere mutasyon denilmektedir. DNA molekülünün histon ve non histon proteinlerle paketlenmemiş olduğu evresinde meydana gelen mutasyonlar gen mutasyonları olarak tanımlanırken, DNA molekülünün kondensasyonu (yoğunlaşması) ile oluşan evresinde meydana gelen mutasyonlar ise kromozom mutasyonları olarak tanımlanmaktadır. Kromozomun veya nükleotidin kaybı ile sonuçlanan mutasyonlara delesyon, artmış gen ekspresyonuna ise amplifikasyon denmektedir. Homolog olmayan kromozomlar arasında kırılan parçaların karşılıklı olarak yer değişimini tanımlayan yapısal kromozom mutasyon türüne ise, translokasyon denilmektedir (Şekil 4) (Lüleyap H. U, 2008).



Şekil 4. Kromozomal Mutasyonlar

(<https://www.pathwayz.org/Tree/Plain/CHROMOSOMAL+MUTATIONS>, Erişim Tarihi: 2016).

Anöploidi belirli kromozomların ikiden fazla veya az olmaları şeklindeki sayısal kromozom mutasyon türüdür. Bu düzensizlikler, otozomal kromozomlarda olabildiği gibi, gonozomal olarak tanımlanan cinsiyet kromozomlarında da meydana gelebilir (Lüleyap H. U, 2008).

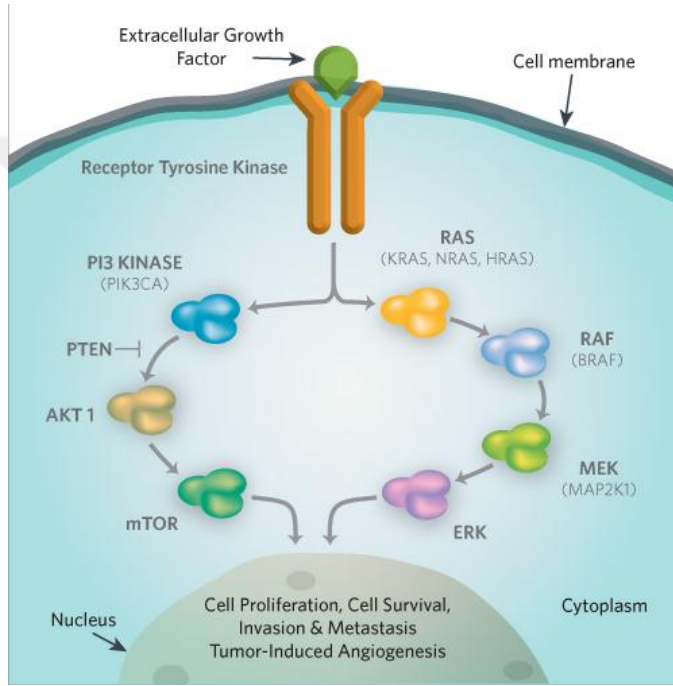
Uniparental Dizomi bir çiftteki kromozomun iki üyesinin tümünün veya bir parçasının sadece anneden ya da babadan gelmesi durumudur. Eğer böyle bir durumda kromozomun tamamı bir çiftin iki eşi olarak bulunuyorsa isodizomi, bir ebeveyndeki iki homologda kalıtılmış ise heterodizomi terimleri kullanılır. İsoizomide anneden ya da babadan gelen tek kromozom kendini duplike etmiş ve bu sayede de homolog kromozomun iki çiftinin de tek bir ebeveynden kaynak alması sağlanmıştır. Heterodizomide iki farklı homolog kromozomun direk olarak parental üyelerden birinden alınması ile homolog kromozomun iki çiftinin de tek bir ebeveynden gelmesi sağlanmıştır (<https://ghr.nlm.nih.gov/primer/inheritance/updimpri>, Erişim Tarihi: 17 Mayıs 2016).

Anöploid bireylerin büyük bir çoğunluğunda, trizomi veya monozomi mevcuttur. Trizomilerde, belirli kromozomların iki yerine üç tane olmasından kaynaklanır. Monozomilerde ise, belirli kromozomların (otozom ve gonozom olabilir) normal sayı olan iki yerine bir tane olmasından kaynaklanan bir anöploid mutasyon türüdür (Lüleyap H. U, 2008).

### **2.3.2. *ROS1* Geni**

Tam adı, “ROS proto-onkogen 1, reseptör trozin kinaz” olan bu gen sembolik olarak “*ROS1*” şeklinde gösterilir. Aynı zamanda, ROS veya MCF3 şeklinde de adlandırılır (Birchmeier C, Birnbaum D, Waitches G, Fasano O, Wigler M, 1986; Matsushime H, Wang LH, Shibuya M, 1986). Endojen *ROS1* yeniden düzenlemeleri, ilk kez insan glioblastoma hücre hattı olan U118MG’de gözlenmiştir (Charest A, Lane K, McMahon K, Park J, Preisinger E, Conroy H, et al, 2003; Birchmeier C, Sharma S, Wigler M, 1987). Bu proto-onkogen, çeşitli hücre hatlarında da ifade edilir ve insülin reseptör genlerinin alt familyası ile ilişkilidir. Bu

protein, protein tirozin kinaz etkinliği olan tip I integral membran proteini'nin geni tarafından kodlanır ve bir büyüme veya farklılaşma faktörü reseptörü olarak işlev görür (<http://ghr.nlm.nih.gov/gene/ROS1>, Erişim tarihi: 17 Mayıs 2016). Aynı zamanda birçok sinyal yolağını aktive eder (Şekil 5) (<https://targetedcancercare.massgeneral.org/MyTrialGuide/Diseases/LungCancer/ROS1.aspx>, Erişim Tarihi: 2013).



**Şekil 5.** Hücre yüzeyi Reseptör Trozin Kinaz proteini *ROS1*

(<https://targetedcancercare.massgeneral.org/MyTrialGuide/Diseases/LungCancer/ROS1.aspx>, Erişim Tarihi: 2013).

Kromozomal aberasyon içeren *ROS1*'e, bir glioblastoma multiformunda rastlanmıştır. Bu gendeki delesyon, 6. kromozomda, del(6)(q21q21) GOPC-ROS1 kimerik protein oluşumuna sebep olmaktadır. Ki bu da; golgi'de lokalize olmuştur ve bir kurucu reseptör tirozin kinaz aktivitesine sahiptir. Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücrelerinde üretilen bir SLC34A2-ros1 kimerik proteini de aynı zamanda, kinaz aktivitesini oluşturabilmektedir. Kimerik bir protein olan CD74-ros1,

bu hücrelerin üçüncü türü olarak tespit edilmiştir (<http://ghr.nlm.nih.gov/gene/ROS1>, Erişim tarihi: 17 Mayıs 2016).

Satoh (1987) ve arkadaşları, *ROS1* genini, in situ hibridizasyon ile 6q22 olarak tespit etmişlerdir. Aynı zamanda, 6q11-q31 bölgesinde meydana gelen kromozomal yeniden düzenlenmeler; akut lenfoblastik lösemi, malign melanom ve yumurtalık kanserinde gözlenmiştir (<http://omim.org/entry/165020>, Erişim tarihi: 14 Aralık 2007).

*ROS1* geni, kromozom 6'nın uzun kolunda lokalize olmuştur (Şekil 6).



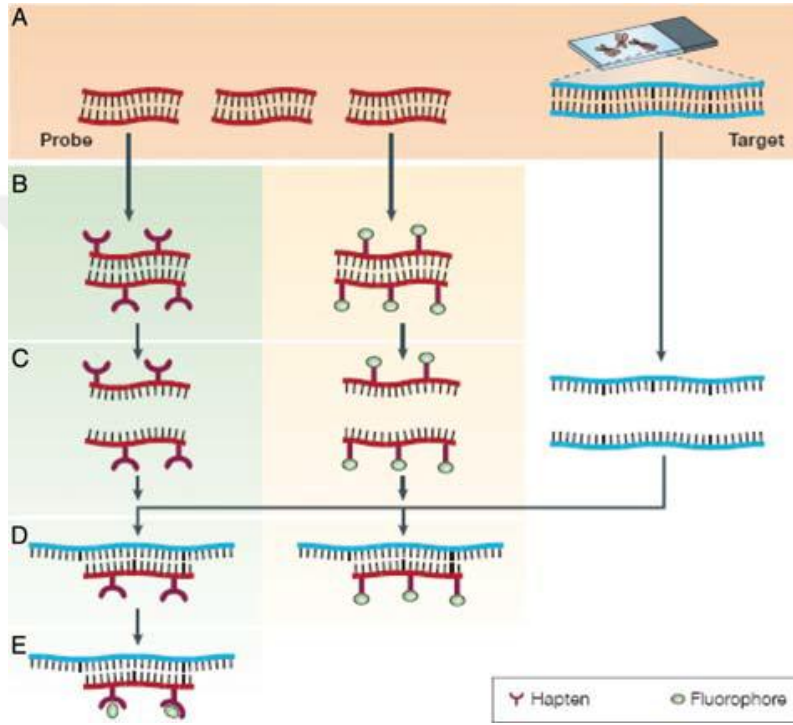
Şekil 6. *ROS1* gen lokasyonu (<http://ghr.nlm.nih.gov/gene/ROS1>, Erişim tarihi: Mayıs 2016).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar ile, reseptör tirozin kinazları (RTK'ler) içeren kromozomal yeniden düzenlemeler küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (NSCLC), kolorektal kanser ve meme kanserinde dahil olmak üzere birçok epitel malignitelerde tespit edilmiştir (Lee J, 2013).

*ROS1*, yapılan çalışmalarla transforme özelliği ile genetik yeniden düzenlemelere dahil olduğü gösterilmiş bir reseptör tirozin kinaz olduğundan; antikanser ilaçlar için kullanılabilir yeni bir potansiyel hedefdir (Charest A, Lane K, McMahon K, Park J, Preisinger E, Conroy H, et al, 2003; Birchmeier C, Sharma S, Wigler M, 1987).

## 2.4. FISH

Floresan in situ hibridizasyon (FISH), 1980'lerin başında geliştirilen bir sitogenetik tekniktir. FISH tekniğinde, renkli sinyallerle sonuçlanan çekirdek içinde özel kromozom yerlerini hedefleyen floresan DNA probu kullanılır ve bu sinyaller floresan mikroskop kullanılarak tespit edilir (Şekil 7).



Şekil 7. FISH yönteminin çalışma prensibi (Bishop R, 2010).

Geleneksel sitogenetik (CC) metafaz karyotipleme ile karşılaştırıldığında, FISH tekniğinde, hücre kültürüne gerek yoktur ve doğrudan hızlı bir değerlendirme için taze veya parafine gömülmüş interfaz çekirdekleri kullanılarak yöntem gerçekleştirilir. Son yıllarda çok sayıda hastalıkla ilgili genlerin keşfi ile, FISH uygulamaları daha fazla genetik hastalık, hematolojik maligniteler ve solid tümörleri kapsayacak şekilde genişlemiştir. Örneğin, BCR / ABL1 translokasyonu, HER2 amplifikasyonu ve ALK yeniden düzenlenmesinin FISH ile tespiti, sırasıyla kronik miyeloid lösemi (Jiang H et. al, 2012), meme kanseri (Pathmanathan N, Bilous AM,

2012; Kim HR et. al, 2013) ve akciğer adenokarsinomunun (Casaluca F et. al, 2013; Gandhi L, Janne PA, 2012) hedeflenen tedavisine rehberlik için kritik öneme sahiptir. Bu nedenle, FISH testleri kişiselleştirilmiş tıbbın hayati bileşenleri olarak kabul edilmiştir (Linping Hu et al, 2014).

FISH analizinde en önemli hususlardan birisi prob seçimidir. Bütün genomdan, küçük klonlanmış problara kadar birçok farklı (1-10 kb) prob kullanılabilir. Genel olarak her biri farklı uygulama yelpazesine sahipüç farklı prob tipi bulunmaktadır: Tüm kromozom boyama probu, tekrarlayan dizi problemleri ve lokus spesifik problemler (Kearney L, 2001).Lokus spesifik problemler, spesifik kromozomal translokasyonlar, inversiyonlar ve metafaz ve interfazda gerçekleşen delesiyonlar gibi yapısal yeniden düzenlemelerin tespit edilmesi için kullanışlıdır (Kearney L, 2001; Gozzetti A, Le Beau MM, 2000).

Bugüne kadar, solid tümörler için hedefe yönelik tedavi seçilmesinde bir tamamlayıcı tanı testi olan FISH yönteminin en başarılı uygulaması, meme kanseri için Her2 amplifikasyonunun değerlendirilmesi sayılabilir(van de Vijver M et. al, 1987; Menard S, Fortis S, Castiglioni F, Agresti R, Balsari A, 2001).

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1.Gereçler**

##### **3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler**

Prob (6q22-*ROSI*(Kırmızı), DNA *split* FISH probu) (miksish), DAPI (Medimiks), 20XSSC, Ksilol (Sigma), Formamid (Merck), % 100 Etanol (Merck), HCl (Merck), NaCl (Sigma), Na-citrate (Merck), NP 40 (Merck),Rubber Cement-Fixo Gum (Marabu), Distile su.

##### **3.1.2. Çözeltiler**

###### **%70 Etil alkol çözeltisi**

70 ml %100 Etil alkol distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

### **%85 Etil alkol çözeltisi**

85 ml %100 Etil alkol distile su ile 100 ml ye tamamlandı.

### **%100 Etil alkol**

### **2XSSC ( pH=7.0) tampon çözeltisi**

NaCl 17.5 gr

Na- citrate 8.8 gr

1 lt distile suda çözüldü ve pH HCl ile 7.0'a ayarlandı

### **3.1.3. Laboratuvar malzemeleri**

Şale, Beher, Pasteur pipeti, Lam( Pozitif yüklü, Isotherm), Lamel (24x50 Isotherm), Pipet ucu, Mikropipet (20-100-1000 µl, Eppendorf),

### **3.1.4. Kullanılan aletler ve cihazlar**

Olympus İverted Mikroskop-Model:CKX41, Dual (M/K-DAPI/TRITC) filtreler, Olympus floresans ataçmanlı mikroskop-Model:BX51, Applied imaging system görüntü analiz sistemi, Heraus Etüv, ThermoBrite hibridizasyon cihazı, Memmert su banyosu, Herausantrifüj, Yellow LineMagnetik ısıtıcı karıştırıcı, Bosch +4<sup>0</sup>C / +8<sup>0</sup>C buzdolabı, Bosch mini derin dondurucu (-20<sup>0</sup>C).

## **3.2. Yöntem**

Çalışma süresince, Şifa Üniversitesi Bornova Eğitim ve Araştırma Hastanesinde 2015-2016 yılı arasında invaziv duktal karsinoma tanısı konmuş meme kanseri hasta dokuları kullanıldı. Patoloji Anabilim dalı tarafından hastalara ait parafin bloklardan 4 mikrometre kalınlığında kesitler alınarak çalışma gerçekleştirildi.

Bu çalışma için, miksişh 6q22-ROS1 (Kırmızı) DNA *split* FISH Probu ve Depamiks doku FISH Deparafinizasyon ve Hazırlık Kiti kullanıldı.



Miksish 6q22-ROS1 (Kırmızı) DNA *split* FISH Probu Kit içeriği (Tablo 3)  
(Katalog no: MI-135);

**Tablo 3.** FISH Probu Kit içeriği.

1. 6q22 (ROS1) DNA <i>split</i> FISH probu	1 adet
2. Miksish Hibridizasyon Tamponu	1 adet

Depamiks doku FISH Deparafinizasyon ve Hazırlık Kiti içeriği (Tablo 4) (DM-001, Medimiks);

**Tablo 4.** Depamiks doku FISH Deparafinizasyon ve Hazırlık Kiti içeriği.

1. Enzim Reaktifi (Toz)	4 adet
2. Deparafinizasyon Ön Yıkama Solüsyonu (Toz)	1 şişe
3. Kapaklı şale	1 adet
4. Lam kutusu	1 adet

### 3.2.1. FISH Ön Hazırlık Aşaması

#### 3.2.1.1. Doku Kesitlerinde Deparafinizasyon Uygulaması ve Ön Hazırlık

- Çalışılacak olan lamalar 56<sup>0</sup>C'lik etüvde 1 gece bekletildi.
- Ertesi gün, her 5 lam için, bir lam kutusunun içine 15 cc distile su ve 150µl 1 M HCl eklenerek içi su dolu beherin içine yerleştirildi ve 37<sup>0</sup>C etüve kaldırıldı.
- Su banyosu 80<sup>0</sup>C'ye ayarlandı ve ısıya dayanıklı kapaklı şale içine deparafinizasyon ön yıkama solüsyonu konuldu. Kullanım aşamasında solüsyonun ısısının 80<sup>0</sup>C'a ulaşması sağlandı.
- 56<sup>0</sup>C'lik etüvden çıkarılan lamalar, Ksilol içeren 3 ayrı şalede 10'er dakika bekletildi.
- Süre sonunda lamalar şaleden çıkartıldı ve %100 etanol içeren 2 ayrı şalede 5'er dakika bekletildi. Ardından, lamalar oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı.

- Lamlar 80<sup>0</sup>C'taki deparafinizasyon ön yıkama solüsyonunda 30 dakika bekletildi. Süre sonunda lamlar oda sıcaklığındaki distile suda 10-15 saniye çalkalandı.
- Lamlar lam kutusuna yerleştirilmeden hemen önce 150µl distile su ile sulandırılan enzim reaktifi, daha önceden 37<sup>0</sup>C etüvde bekletilen lam kutusu içindeki distile su + 1 M HCl karışımı içine ilave edildi.
- Lamlar 37<sup>0</sup>C'lik etüvdeki lam kutusu içerisindeki enzim çalışma solüsyonunda 30 dakika bekletildi. Süre sonunda lamlar oda ısısındaki distile suda 10-15 saniye çalkalandı.
- Lamlar, oda sıcaklığındaki 2x SSC solüsyonunda 3 dakika bekletildi.
- Aynı işlem tekrar edildi (2x SSC'de solüsyonunda 3 dakika bekletildi).
- 3'er dakika süreyle %70, %85, %100'lük alkol serisinden geçirilerek kurumaya bırakıldı.

### 3.2.2. Denatürasyon / Hibridizasyon ve Hibridizasyon sonrası yıkama

- Denatürasyon öncesi uygulamaları tamamlanmış lamlar, önceden 73<sup>0</sup>C'ye getirilmiş su banyosundaki denatürasyon solüsyonu (Tablo 5) içerisinde 5 dakika denatüre edildi.

**Tablo 5.** Denatürasyon solüsyonu içeriği.

<b>Denatürasyon Solüsyonu</b>	<b>Formamid</b>	<b>20X SSC</b>	<b>dH<sub>2</sub>O</b>
100 ml	70 ml	10 ml	20 ml

- -20<sup>0</sup>C'de soğutulmuş %70'lik etanolde lamlar 3 dakika bekletildi.
- Lamlar, oda sıcaklığındaki %85 ve %100'lük etanolde 3'er dakika tutularak oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Bu aşamadan sonra tüm işlemlere karanlık ortamda devam edildi.
- Lamlar kururken, kullanılacak prob solüsyonu hazırlandı. Her bir lam için;  
1 µl prob  
4 µl hibridizasyon tamponu

bir tüp içerisine alınarak 73<sup>0</sup>C'lık su banyosunda 5 dakika süreyle denatüre edildi.

- Denatürasyonun ardından prob, kısa süreli vorteks ve santrifüjde spin atılarak oda sıcaklığında kurutulmuş olan lama damlatıldı, 22x22 mm lamelle kapatıldı ve lamelin çevresi rubber cement ile kaplandı.
- Lamlar ışık ve hava geçirmeyen nemli bir kutuya yerleştirilerek, hibridizasyon için 37<sup>0</sup>C etüvde gece boyu inkübasyona bırakıldı.
- Ertesi gün; Yıkama Solüsyonu 1 ve Yıkama Solüsyonu 2 hazırlandı (Tablo 6).

**Tablo 6.** Yıkama Solüsyonu 1 ve 2'nin içeriği.

	<b>dH<sub>2</sub>O</b>	<b>20 X SSC</b>	<b>NP40</b>
<b>Yıkama Solüsyonu 1</b>	98 ml	2 ml	300 µl
<b>Yıkama Solüsyonu 2</b>	90 ml	10 ml	100 µl

- Yıkama Solüsyonu 1 su banyosu içinde 73<sup>0</sup>C'ye getirildi.
- Tüm işlemler karanlık ortamda yapıldı. Bir gün önce hibridizasyona bırakılan lamlar; 37<sup>0</sup>C etüvden çıkarıldı, lamel uzaklaştırıldı ve önceden 73<sup>0</sup>C'ye ayarlanmış su banyosundaki Yıkama Solüsyonu 1'de 2 dakika bekletildi.
- Süre sonunda oda sıcaklığındaki Yıkama Solüsyonu 2'de 10-15 saniye çalkalanıp, oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı.
- Kuruyan lamlara örneği kaplayacak şekilde 5 µl DAPI damlatılarak, 24x50 mm lamelle kapatıldı ve analiz için -20<sup>0</sup>C'de 15 dakika bekletildi.

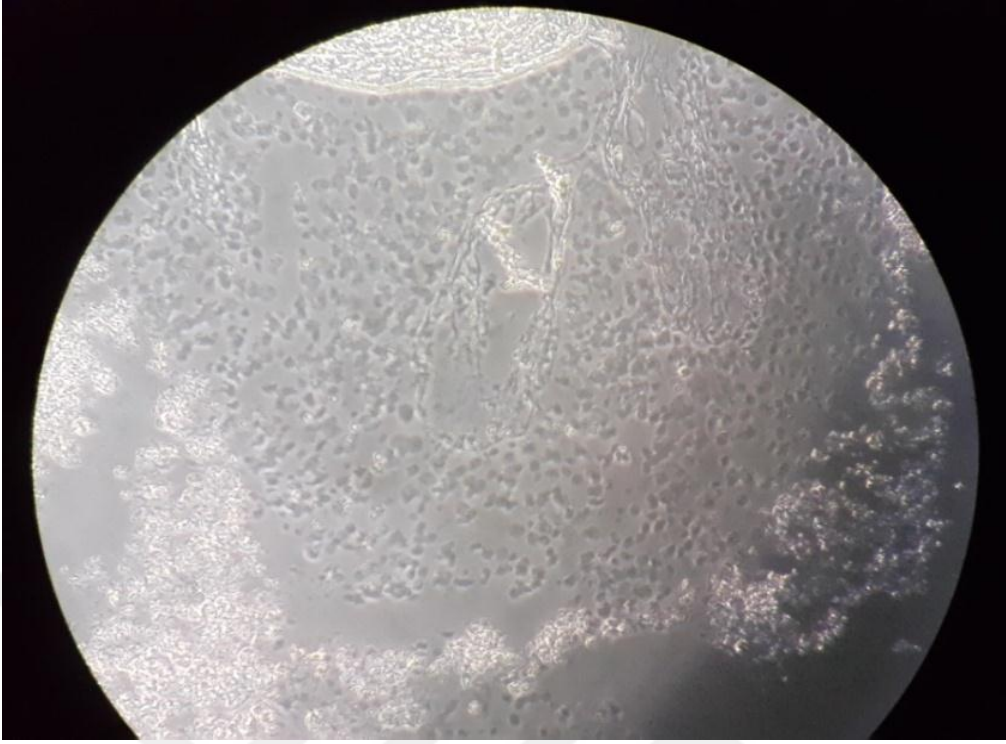
### **3.2.3. Tarama ve Analiz**

- Yıkaması yapılan ve DAPI uygulanan lamlar, probun içerdiği işaretli florokroma uygun filtreyi taşıyan Floresan Mikroskopta analiz edildi.

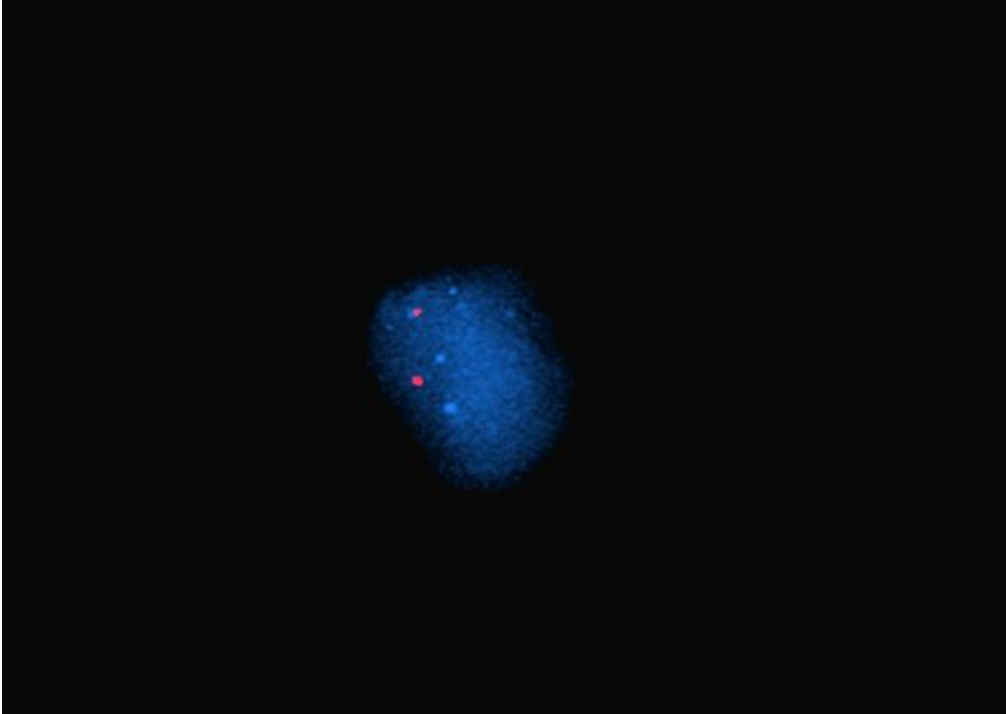
#### 4. BULGULAR

Çalışmamızda Şifa Üniversitesi Bornova Eğitim ve Araştırma Hastanesinde 2015-2016 yılı arasında invaziv duktal karsinoma tanısı konmuş 30 meme kanseri hastanın parafin blok dokuları kullanıldı. Her deparafinizasyon işleminden sonra, her hastaya ait dokuların deparafinize olduğunu görmek için inverted mikroskop ile görüntü alındı (Resim 1). Hasta dokularından hazırlanan her bir preparat için *ROSI* probu ile hibridizasyonu takiben yapılan FISH analizinde ortalama 50 hücre sayıldı. Hastalara ait 30 preparat hazırlanmış olup, 17 tanesinde analiz gerçekleştirilebilmiş; 13 tanesinde sinyal gözlenmemiştir. Sinyal gözlenmeyen 13 örnek için, yeterli deparafinizasyon olmaması, deparafinizasyon işlemi sırasında hücrelerin slayt üzerinden uzaklaşması ve probun yeterli hibridizasyonu sağlamadığı düşünülmüştür. Analiz edilen 17 örneğin 14 tanesinde *ROSI* gen lokusuna ait 2 adet sinyal (dizomi) (Şekil 8) gözlenmiştir; 3 örnekte *ROSI* gen lokusuna ait hem 2 adet (Dizomi) sinyal hem de lokusa ait 1 adet (Monozomi) (Şekil 9) sinyal gözlenmiştir. Monozomi gözlenen birinci preparatta, 41 hücrede dizomi, 9 hücrede monozomi (%18 oranında) gözlenmiştir. İkinci preparatta, 36 hücrede dizomi, 14 hücrede monozomi (%28 oranında) gözlenmiştir. Üçüncü preparatta ise; 38 hücrede dizomi, 12 hücrede monozomi (%24 oranında) gözlenmiştir.

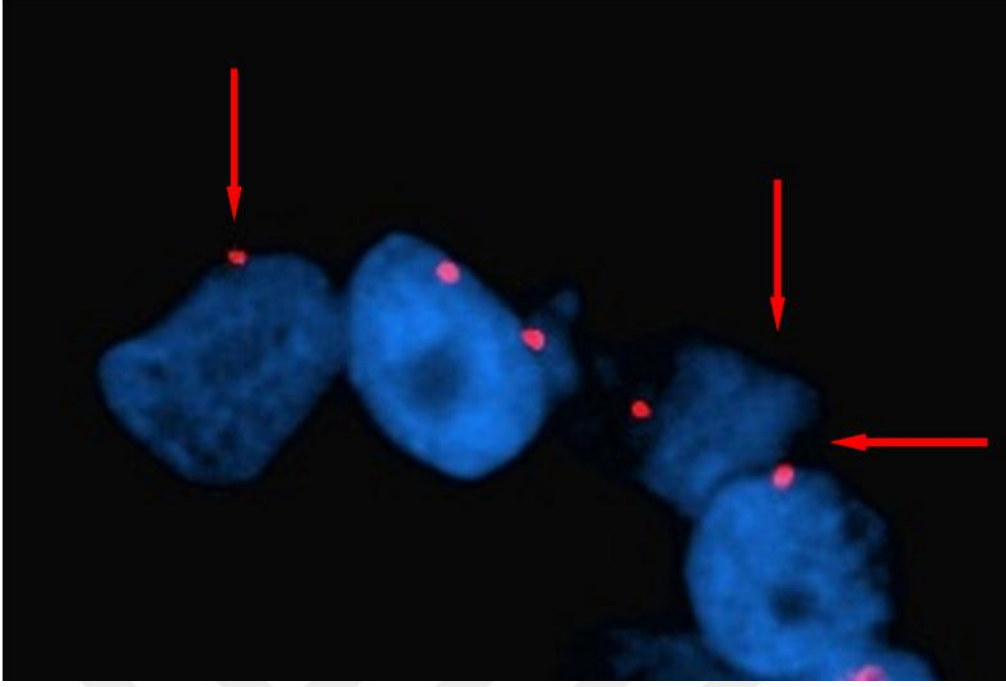
Çalışmamızda 17 hastaya ait preparat örneğinde *ROSI* gen lokusuna ait sinyallerde herhangi bir artış (gen kopya sayısında artış, amplifikasyon) gözlenmemiştir.



**Resim 1:** Dokunun deparafinizasyon sonrası inverted mikroskop ile alınan görüntüsü (X100).



**Şekil 8.** Normal hücrenin floresan mikroskoptaki görüntüsü (X100).



**Şekil 9.** Monozominin floresan mikroskoftaki görüntüsü (X100).

## 5. TARTIŞMA

Önemli tedavi stratejilerine rağmen, meme kanseri hala birçok ülkede başta gelen ölüm nedenleri arasında yer almaktadır (Siegel et al, 2015). Şu ana kadar, yapılan geniş çaplı araştırmalar meme kanseri patogenezinde rol oynayan moleküler mekanizmaları ortaya çıkarmıştır. Ancak hala gün yüzüne çıkarılmayı bekleyen birçok mekanizmanın da olduğu düşünülmektedir (Hedieh Fardmanesh et al, 2016). Bu mekanizmaların anlaşılması, hem prognozun tespitinde hem de uygulanacak tedavinin türünün belirlenmesinde büyük önem taşımaktadır.

Gen amplifikasyonu tümör hücrelerinde yaygın olup, normal hücrelere göre 1000 kat daha fazla sıklıkla meydana gelmektedir. Nitekim onkogen amplifikasyonunun birçok tümörün daha hızlı büyümesinde rol oynadığı saptanmıştır (Lüleyap H. U, 2008). Protein trozin kinaz ve proto-onkogen etkinliği olan

*ROS1*'in genetik değişiklikleri, farklı epitelyal tümörlerde (füzyon kinazlar olarak) görülmektedir (Gu TL et. al, 2011).

*ROS1* genine ait değişiklikler çoğunlukla akciğer kanserinde çalışılmıştır. Meme kanserinde *ROS1* genine ait değişiklikler sınırlı sayıda çalışmada mevcuttur (<http://ghr.nlm.nih.gov/gene/ROS1>, Erişim tarihi: Mayıs 2016; <http://omim.org/entry/165020>, Erişim tarihi: 14 Aralık 2007). *ROS1* geninin, büyüme ve farklılaşmada görev alan proteinleri kodladığı bilindiği üzere (<http://ghr.nlm.nih.gov/gene/ROS1>, Erişim tarihi: Mayıs 2016), bu genin meme kanseriyle de ilişkili olabileceği düşünölmüştür. Ülkemizde meme kanserinde *ROS1* gen değişiklikleri ile ilgili çalışmaya rastlanmamıştır.

2013 yılında yayınlanan bir çalışmada (Minseob E, Sayamaa L, Sung S, Airi H, Kwang H, 2013); memenin invaziv duktal karsinomunda (IDC) protein ve gen seviyesinde *ROS1* ekspresyonu araştırılmıştır. Bu çalışmada, 203 hastadan alınan doku örneği ile, immüno histokimyasal boyama ve gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak; *ROS1* ekspresyonunun anlamlı sağkalım oranı ile ilişkili olmadığı bulunmuştur. Ancak yüksek histolojik düzey, yüksek mitoz sayısı, düşük östrojen reseptör ekspresyonu ve yüksek Ki-67 proliferasyon indeksi ile orantılı olarak ekspresyon düzeyi anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Gerçek zamanlı PCR sonucu istatistiksel olarak anlamlı çıkmamasına karşın, benzer eğilimler saptanmıştır. Ayrıca, yüksek *ROS1* ekspresyonunun IDC'nin prognostik faktörleriyle ilişkili olabileceği ve IDC ifadesinin tümör hücrelerinin çoğalması ile ilgili olabileceği sonucuna varmışlardır. *ROS1* gen değişiklikleri ile ilgili 2016 yılında yayınlanan küçük hücreli olmayan akciğer kanserleri ile ilgili bir çalışmada (Sergi C et al., 2016), hem *ROS1* genindeki yeniden düzenlenmelere, hem gen amplifikasyonlara ve delesyonlara hem de 6.kromozom polizomisine ve monozomisine rastlanmıştır. Bu çalışmaya göre, aynı kanser tipinde *ROS1* genine ait heterojenite saptanmıştır. Cinsiyet, histopatolojik tip, çevresel etkenlere maruziyet (sigara vs/miktar-süre bağımlı) farklı genetik değişikliklerle birliktelik göstermiştir. Yine bu çalışmaya göre, gen kopya sayısı değişiklikleri kromozomal polizomi ve monozomiler sağkalıma etkili bulunmamıştır.

FISH yöntemi, her türlü *ROS1* yeniden düzenlenmesinin algılanmasını sağlar (Rimkunas et al., 2012). Bu yöntemde değişik amaçlarla farklı problar kullanılmaktadır. Çalışmamızda, invaziv duktal karsinomda *ROS1* gen amplifikasyonları FISH analizi ile araştırıldı. Analiz için sadece *ROS1* gen gölgesini gösteren lokus spesifik (6q22) FISH probu kullanıldı. Bu prob, gene ait yeniden düzenlenmeleri göstermemektedir. Analiz edilen 17 hastaya ait invaziv duktal karsinom doku örneklerinde *ROS1* gen amplifikasyonlarına rastlanmamıştır. Sadece 3 hastaya ait örnekte monozomik hücrelere rastlanılmıştır. Çalışmada kullanılan lokus spesifik prob, sadece *ROS1* geni bölgesini göstermekte olup; 6.kromozomla ilgili sentromer bölgesini işaretlememektedir. Bu nedenle, 3 hastaya ait saptadığımız monozomik hücrelerde, bu durumun sadece gen delesyonu mu yoksa kromozomal kayıpla mı ilişkili olduğunun ayırımına varılamamıştır. Daha sonraki çalışmalar için daha çok hasta sayısı ve farklı problarla çalışılması ve farklı tipteki meme kanserleri ile çalışmaların desteklenmesi önerilmektedir. Ayrıca, tespit edilen monozominin invaziv duktal karsinoma tanısı alan hastalarda sağkalım süresini etkileyip etkilemediği yine daha fazla sayıda hasta çalışması ile ortaya konabilir.



## ÖZET

### **Meme Kanserinde *ROS1* Genindeki Değişikliklerin FISH Tekniği ile İncelenmesi**

Meme kanseri kadınlarda en sık görülen kanser olup, invaziv duktal karsinom en çok görülen patolojik tipidir. Bu kanserin oluşumunda, genetik, epigenetik ve transkriptomik değişikliklerin rol oynadığı bilinmektedir. Meme kanseri yatkınlık genleri olarak bilinen BRCA1 ve BRCA2 genlerinin etkinliği bu kanser türü için bilinse de, moleküler mekanizmanın daha iyi anlaşılması hastalığın tanı ve takibi için önem taşımaktadır. Bu yüzden çalışmamızda, bir proto-onkogen ve trozin kinaz olan *ROS1* geni çalışılmıştır. Bu gen, çeşitli hücre hatlarında ifade edilmektedir ve büyüme veya farklılaşma faktörü reseptörü olarak işlev görmektedir. Kanser gelişiminde önemli olan birçok yolağı da aktive etmektedir. Çalışmamızda, invaziv duktal karsinoma tanısı konmuş meme kanserli 30 hastanın *ROS1* genindeki değişiklikler FISH tekniği ile incelenmiştir. Hastalardan alınan örnekler ile, floresan DNA probunun hedef DNA sekansına bağlanması sağlanıp; floresan işaretli DNA probunun o bölgeye özgü sinyali analiz edilmiştir. 30 hastadan 17 tanesinde analiz gerçekleştirilebilmiş; 13 tanesinde sinyal gözlenmemiştir. Analiz edilen 17 örneğin 14 tanesinde *ROS1* gen lokusuna ait 2 adet sinyal (dizomi) gözlenmiştir; 3 örnekte *ROS1* gen lokusuna ait hem 2 adet (Dizomi) sinyal hem de lokusa ait 1 adet (Monozomi) sinyal gözlenmiştir. Çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde; çalışmada kullanılan lokus spesifik prob, sadece *ROS1* geni bölgesini göstermekte olup; 6.kromozomla ilgili sentromer bölgesini işaretlemediğinden, daha sonraki çalışmalar için, çok hasta sayısı ve farklı problemlerle çalışılması ve farklı tipteki meme kanserleri ile çalışmaların desteklenmesi önerilmektedir.

**Anahtar Sözcükler:** FISH, Meme Kanseri, *ROS1* Geni

## ABSTRACT

### Analysis of *Ros1* Gene Changes in Breast Cancer Using FISH

Breast cancer is the most common cancer in women with invasive ductal carcinoma is the most common pathological type. Genetics, epigenetic and transcriptomic changes are known to play a role in the development of this cancer. The activity of the breast cancer susceptibility genes, BRCA1 and BRCA2 genes, known as may be known for this type of cancer, a better understanding of the molecular mechanisms that are important for the diagnosis and monitoring of disease. So in our study, *ROS1*, which is a proto-oncogene and tyrosine kinase gene, has been studied. This gene is expressed in various cell line and acts as a receptors factors of growth or differentiation. This gene also activate many pathway which is important in cancer development. In our study, *ROS1* gene changes in invasive ductal carcinoma diagnosed with breast cancer were examined with FISH technique in 30 patients. With samples from patients, connecting to the target DNA sequence of fluorescent DNA probes satisfies; fluorescently labeled DNA probe to that of specific signal was analyzed. Analysis were achieved in 17 of 30 patients; signals were not observed in 13 of them. Analyzed 17 samples in 14 of them have 2 signals (Disomy) of *ROS1* gene loci. Also, in 3 samples belonging to the *ROS1* gene locus, 2 signal (Disomy), and belongs to the loci 1 signals (Monosomy) were observed. In conclusion, locus specific probes used in this study and they are only show of *ROS1* gene area; that is not mark the centromeres of related 6th chromosome. For further studies, more number of patients, to work with different probes and support of the study with different types of breast cancer are recommended.

**Key Words:** FISH, Breast Cancer, *ROS1* Gene

## KAYNAKLAR

Abeloff MD, Antonio CW, Weber BL, Tal ZZ, Sacchini V, McCormick B., *Cancer of the Breast*, 4th Ed., *Abeloff's Clinical Oncology* (ed: Abeloff MD), 2008:1876-7.

Akyolcu N, Kadınların Meme Kanseri ve Kendi-Kendine Meme Muayenesi Hakkındaki Sağlık Bilgisi Düzeylerinin Ölçülmesi, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Hastalıkları Anabilim Dalı Doktora Tezi, İstanbul, 1985.

Anderson D. E, Genetic Study Of Breast Cancer: Identification Of A High Risk Group, *Cancer*, 1974, 34(4), 1090-1097.

Antoniou AC, Easton DF, Models of genetic susceptibility to cancer, *Oncogene*, 2006;25:5898–905.

Atılgan H, Meme Kanserlerinde Modifiye Radikal (Subkutan) Mastektomi Ve Eş Zamanlı Meme Rekonstrüksiyonu, T.C. Genelkurmay Başkanlığı Gülhane 51 Askeri Tıp Akademisi Askeri Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Başkanlığı Uzmanlık Tezi, Ankara, 1999.

Birchmeier C, Sharma S, Wigler M, Expression and rearrangement of the ROS1 gene in human glioblastoma cells, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1987;84:9270–4.

Birchmeier C, Birnbaum D, Waitches G, Fasano O, Wigler M, Characterization of an activated human ros gene. *Mol Cell Biol* 1986;6:3109–3116.

Bishop R, Applications of fluorescence in situ hybridization (FISH) in detecting genetic aberrations of medical significance, 10.1093/biohorizons/hzq009, 2010.

Box BA, Russel CA. Breast Cancer. In: Casciato DA (Ed.). *Manual of clinical oncology*. 5th Edition, Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2004. p233-53.

Cannazik Y, Meme Kanseri Olgularında BRCA1 Geni Metilasyon Paterninin MS-HRM Yöntemi İle İncelenmesi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir, 2012.

Casaluce F, Sgambato A, Maione P, Rossi A, Ferrara C, Napolitano A, Palazzolo G, Ciardiello F, Gridelli C, ALK inhibitors: a new targeted therapy in the treatment of advanced NSCLC, *Target Oncol*, 2013, 8(1):55–67.

C. Curtis, S.P. Shah, S.F. Chin, G. Turashvili, O.M. Rueda, M.J. Dunning, et al., The genomic and transcriptomic architecture of 2,000 breast tumours reveals novel subgroups, *Nature*, 486, 2012;346–352.

Charest A, Lane K, McMahon K, Park J, Preisinger E, Conroy H, et al., Fusion of FIG to the receptor tyrosine kinase ROS in a glioblastoma with an interstitial del(6)(q21q21), *Genes Chromosomes Cancer*, 2003;37:58–71.

Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer, Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52,705 women with breast cancer and 108,411 women without breast cancer, *Lancet*, 1997;350(9084):1047-59.

Escalona S, Blasco JA, Reza MM, Andradas E, Gomez N, A systematic review of FDG-PET in breast cancer, *Med. Oncol*, 27, 2010;1, 114–129.

Fisher B, Bauer M, Wickherman DL, Relation of number positive axillary lymph nodes to the prognosis of patients with primary breast cancer: an NSABP update, *Cancer*, 1983;52:1551-8.

F. Correa Geyer, J.S. Reis-Filho. Microarray-based gene expression profiling as a clinical tool for breast cancer management: are we there yet?, *Int. J. Surg. Pathol*, 17, 2009;285–302.

Feremans W, Genetics of Breast Cancer, *Acta Chirurgica Belgica*, 1987; 87(2):115-119.

Gandhi L, Janne PA, Crizotinib for ALK-rearranged non-small cell lung cancer: a new targeted therapy for a new target, *Clin Cancer Res*, 2012;18(14):3737–3742.

Garber J, Risk Factors. in: Silva EO, Zumda S (Eds.). *Breast cancer*, 3rd ed. Oxford: Elsevier Saunders; 2005, p.26-53.

Gençay T, Hasta Ve Sağlık Çalışanlarının Kendi Kendine Meme Muayenesi Ve Meme Kanseri Risk Faktörleri Bilgi Düzeyinin Saptanması, Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği Koordinatörü Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2007.

Gozzetti A, Le Beau MM, Fluorescence in situ hybridization: uses and limitations, *Semin Hematol*, 2000;37: 320–333.

Göcen E, Meme Koruyucu Cerrahi Uygulanmış Meme Kanseri Hastalarda Konvansiyonel Radyoterapi İle Konformal Radyoterapi Tekniğinin Doz Dağılımı Açısından Değerlendirilmesi, Sağlık Bakanlığı Kartal Dr. Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi Radyoloji Kliniği Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2008. 19)

Greenlee RT, Murray T, Bolden S. Cancer Statistics, C.A. *Cancer J Clin*; 50: 7-33, 2000.

Gu TL et al., Survey of tyrosine kinase signaling reveals ROS kinase fusions in human cholangiocarcinoma, *PLoS One*, 2011;6:e15640.

Guyton CA, *Textbook of Medical Physiology*, 5th Edition, Philadelphia, London, Saunders, 1976, p.75-8178,

Güveloğlu E, Meme, Over Ve Tuba Karsinomlarında BRCA1 VE BRCA2 Protein Ekspresyonlarının Prognostik Önemi İmmünohistokimyasal Ve Klinikopatolojik Çalışma, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Adana, 2006.

Hedieh Fardmanesh, Mohammad Shekari, Abolfazl Movafagh, Shohreh Alizadeh Shargh, Ali Akbar Poursadegh Zonouzi, Samira Shakerizadeh, Ahmad Poursadegh Zonouzi, Asghar Hosseinzadeh, Upregulation of the double-stranded RNA binding protein DGCR8 in invasive ductal breast carcinoma, *Gene*, 581, 2016;146–151.

Heim S, Mitelman F, *Cancer Cytogenetics*, *Wiley-Liss*, 1995, 369-375.

<https://www.pathwayz.org/Tree/Plain/CHROMOSOMAL+MUTATIONS>, Erişim Tarihi: 2016.

<http://ghr.nlm.nih.gov/gene/ROS1>, Erişim tarihi: Mayıs 2016.

<https://ghr.nlm.nih.gov/primer/inheritance/updimprinting>, Erişim Tarihi: 17 Mayıs 2016.

<http://omim.org/entry/165020>, Erişim tarihi: 14 Aralık 2007.

<https://targetedcancercare.massgeneral.org/MyTrialGuide/Diseases/LungCancer/ROS1.aspx>, Erişim Tarihi: 2013.

İtilli Ö, Hastanemiz Meme Polikliniğine Başvuran Kadınların Kendi Kendine Meme Muayenesi Uygulama Davranışları ve Mamografi, Meme Ultrasonografi Sonuçlarının Değerlendirilmesi, Sağlık Bakanlığı Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitimve Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2009.

İzmir İl Sağlık Müdürlüğü Meme Kanseri Uyarıcı Belirtileri, 2013  
www.ism.gov.tr/indir/acsap/meme\_muayenesi\_erken\_tani.ppt, Erişim Tarihi: 13  
Nisan 2013.

Jiang H, Xue Y, Wang Q, Pan J, Wu Y, Zhang J, Bai S, Wang Q, He G, Sun A, et al,  
The utility of fluorescence in situ hybridization analysis in diagnosing  
myelodysplastic syndromes is limited to cases with karyotype failure, *Leuk Res*,  
2012;36(4):448–452.

Kaplan B, 1992-1995 Yılları Arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Gevher  
Nesibe Hastanesine Lokal İleri Meme Kanseri Tanısıyla Başvuran Hastaların Tedavi  
ve Takip Sonuçları, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi  
Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Kayseri, 1996.

Kearney L, Molecular cytogenetics. *Best Pract. Res. Clin. Haematol*, 2001;14:645–  
668.

Kelsey JL, Gammon MD, The Epidemiology of Breast Cancer, *Ca-a Cancer Journal  
For Clinicians*, 1991;41(3):146-165.

Kim HR, Lim SM, Kim HJ, Hwang SK, Park JK, Shin E, Bae MK, Ou SH, Wang J,  
Jewell SS, et al, The frequency and impact of ROS1 rearrangement on clinical  
outcomes in never smokers with lung adenocarcinoma, *Ann Oncol*,  
2013;24(9):2364–2370.

K.M. Cornejo, D. Kandil, A. Khan, E.F. Cosar. Theranostic and molecular  
classification of breast cancer, *Arch. Pathol. Lab. Med*, 138, 2014;44–56.

Lebeau A, Kriegsmann M, Burandt E, Sinn HP, Invasive Mammakarzinome: Die  
aktuelle WHO-Klassifikation. (Invasive breast cancer: the current WHO  
classification). *Pathologe*, 2014;35:7–17.

Lee J, Seung Eun Lee, So Young Kang, In-Gu Do, Sujin Lee, Sang Yun Ha, Jeonghee Cho, Won Ki Kang, Jiryeon Jang, Sai-Hong Ignatius Ou, Kyoung-Mee Kim, Identification of ROS1 Rearrangement in Gastric Adenocarcinoma, 10.1002/cncr.27967, 2013.

Lee SY, Kim MT, Kim SW, Song MS, Yoon SJ, Effect of lifetime lactation on breast cancer risk: a Korean women' s cohort study, *Int J Cancer*, 2003;105 (3): 390- 393.

Linping Hu, Kun Ru, Li Zhang, Yuting Huang, Xiaofan Zhu, Hanzhi Liu, Anders Zetterberg, Tao Cheng and Weimin Miao, Fluorescence in situ hybridization (FISH): an increasingly demanded tool for biomarker research and personalized medicine, *Biomarker Research*, 2014;2:3.

Lipworth L, Bailey LR, Trichopoulos D, History of breast- feeding in relation to breast cancer risk: a review of the epidemiologic Literature, *J Natl Cancer Ins* .2000;92 (4):302- 312.

Lüleyap H. U, *Moleküler Genetiğin Esasları*, 1. Baskı, Adana, Nobel Kitabevi, 2008.

Macdonald F, Ford CHJ, Casson AG, *Molecular biology of cancer*, 2nd Edition, London: BIOS Scientific, 2004.

MacMahon B, Cole P, Brown J. Etiology of human breast cancer, A Review. *J Natl Cancer Inst*, 1973; 50:21-42.

Margolese RG, Fisher B, Hortobagyi GN, Bloomer WD, *Neoplasms of The Breast*, In Holland FJ, Frei E (eds): *Cancer Medicine*, 5th Edition. Ontario: B.C.Decker Inc, 2000;1735-1822.

Margolese RG, Fisher B, Hortobagyi GN, Bloomer WD, *Neoplasms of The Breast*. In Holland FJ, Frei E (eds): *Cancer Medicine*, 5th Edition. Ontario: B.C.Decker Inc,2000, 1735-1822.



Matsushime H, Wang LH, Shibuya M, Human c-ros-1 gene homologous to the v-ros sequence of UR2 sarcoma virus encodes for a transmembrane receptorlike molecule, *Mol Cell Biol*, 6:3000–3004, 1986.

Menard S, Fortis S, Castiglioni F, Agresti R, Balsari A, HER2 as a prognostic factor in breast cancer, *Oncology*, 2001;61(Suppl 2):67–72.

Minseob E, Sayama L, Sung S, Airi H, Kwang H, ROS1 Expression in Invasive Ductal Carcinoma of the Breast Related to Proliferation Activity, *Yonsei Med J*, 2013;54(3):650-657.

Natalia B, Sonja H, Thilo D, Hereditary breast cancer: ever more pieces to the polygenic puzzle, *Hered Cancer Clin Pract*, 2013, 11, 12.

Nathanson KL, Wooster R, Weber BL, Breast cancer genetics: what we know and what we need, *Nat Med*, 2001;7:552–6,

Netter FH, *Interactive Atlas of Clinical Anatomy*, California: D&R Development Group; 1998.

Ozmen V, Breast cancer in the World and Turkey, *J Breast Health*, 2008;4:6-12.

Pathmanathan N, Bilous AM, HER2 testing in breast cancer: an overview of current techniques and recent developments, *Pathology*, 2012;44(7):587–595.

Prat A, Parker JS, Karginova O, Fan C, Livasy C, Herschkowitz JI, et al., Phenotypic and molecular characterization of the claudin-low intrinsic subtype of breast cancer, *Breast Cancer Res*, 2010;12:R68.

Rimkunas VM, Crosby KE, Li D, Hu Y, Kelly ME, Gu TL, Mack JS, Silver MR, Zhou X, Haack H, Analysis of receptor tyrosine kinase ROS1-positive tumors in non-small cell lung cancer: identification of a FIG-ROS1 fusion, *Clin Cancer Res*, 2012;18:4449–4457.

Rosen EM, Fan S, Pestell RG, et al., BRCA1 gene in breast cancer, *J Cell Physiol*, 2003;196:19–41.

Salimi M, Mozdarani H, Majidzadeh K, Expression pattern of ATM and cyclin D1 in ductal carcinoma, normal adjacent and normal breast tissues of Iranian breast cancer patients, *Med. Oncol*, 29 (3), 2012;1502–1509.

Sarsılmaz M ark., *Anatomi*, 4. Baskı, Ankara, Nobel Tıp Kitapevi, 2012. S.196-197.

Satoh H, Yoshida M C, Matsushime H, Shibuya M, Sasaki M, Regional localization of the human c-ros-1 on 6q22 and flt on 13q12, *Jpn. J. Cancer Res*, 1987;78: 772-775.

Serdar S., Meme Kanserinde CD44 Ekspresyonunun Prognostik Önemi Ve Diğer Prognostik Faktörlerle İlişkisi, T.C. Genelkurmay Başkanlığı Gülhane Askeri Tıp Akademisi Haydarpaşa Eğitim Hastanesi İç Hastalıkları Servis Şefliği Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2000.

Sergi C et al., *ROS1* copy number alterations are frequent in non-small cell lung cancer, *Onco target*, 2016;7;8019-8028.

Sertöz Ö. Ö, Meme Kanserinde Ameliyat Tipinin, Beden Algısı, Cinsel İşlevler, Benlik Saygısı Ve Eş Uyumuna Etkileri: Kontrollü Bir Çalışma, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Psikiyatri Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, İzmir, 2002.

Shaw AT, Hsu PP, Awad MM, Engelman JA, Tyrosine kinase gene rearrangements in epithelial malignancies, *Nat Rev Cancer*, 2013;13:772–787.

Sherman CD ark., *Klinik Onkoloji*, 4. Baskı, Uluslararası Kanserele Savaş Birliği, Sağlık Bakanlığı Türk Kansere ve Savaş Kurumu, 1990.

Siegel RL, Miller KD, Jemal A, Cancer statistics, *CA Cancer J. Clin*, 65 (1), 2015;5–29.

Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A, Cancer statistics, *CA CancerJ Clin*, 2014;64:9–29.

Sivenberg E, Lubera J. Cancer Statistics. C.A. *Cancer J Clin* 37: 19, 1987.

Somunoğlu S, Meme Kanserinde Risk Faktörleri, *Fırat Sağlık Hizmetleri Dergisi*, 2007;2(5), 2-12. 20.

Sjöblom T et al., The Consensus Coding Sequences of Human Breast and Colorectal Cancers, *Scienceexpress*, 314, 5797, 2006;268-274.

Somunoğlu S, Meme Kanseri: Belirtileri ve Erken Tanıda Kullanılan Tarama Yöntemleri, *Fırat Sağlık Hizmetleri Dergisi*, 2009;4 (10), 103- 122.

Spratt JS, Tabin GR, *Gross anatomy of the breast*, In: Donegan WL, Spratt JS, eds. *Cancer of the breast*, 4th Edition, Philadelphia, London: W.B, Saunders, p.22-42, 1995.

Spratt JS, Donegan W, *Cancer of the breast*, Philadelphia W.B.Saunders 1971;133.

Spratt JS, Spratt SW, Medical and legal implications of screening and follow –up procedures for breast cancer, *Cancer*, 1990;66:1351-1362.

Şahan B, Metastatik Meme Kanserinde Adjuvan Antrasiklin Kullanımının Prognostik Önemi, T.C. Genelkurmay Başkanlığı Gükhane Askeri Tıp Akademisi Haydarpaşa Eğitim Hastanesi İç Hastalıkları Servis Şefliği Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2004.

Tavasolli FA, Devilee P (eds). *Pathology an genetics tumours of the breast and female genital organs WHO Classification of tumours*, IARC Pres Lyon, 2003.

Topuz E, Aydın A, Dinçer M, *Meme Kanseri*, Nobel Tıp Kitapevi, 2003.

Tuncer M, *Significance of cancer in Turkey, The burden of disease, and cancer control policies*. In: Tuncer M (ed), *Cancer Control in Turkey*, Ankara, Onur Press, Health Ministry Publication, 2008;74:5-9.

Tuncer A. Murat, Özgül N, Olcayto E, Gültekin M ark., *Türkiye’de Kanser Kontrolü*, ISBN: 978-975-590-300-2, Yayın numarası:777, Ankara, Koza Matbaacılık, 2009.

Ünver S, *Meme Kanserinde Doku Ferritin Düzeyinin Standart Prognostik Parametrelerle Korelasyonu ve Prognostik Önemi*, T.C. Genelkurmay Başkanlığı Gülhane Askeri Tıp Akademisi Haydarpaşa Eğitim Hastanesi İç Hastalıkları Servis Şefliği Uzmanlık Tezi, İstanbul, 1998.

Weickhardt AJ, Nguyen T, Paskulin D, Le A, Aisner D, Schulte N, Chionh F, Mariadason J, Tebbutt N, Doebele R, ALK and ROS gene rearrangements detected in colorectal cancer (CRC) by fluorescence in situ hybridization (FISH), 2013 ASCO Annual Meeting, Vol 31, No 15 suppl (May 20 Supplement), Abstract N 3545, *J Clin Oncol*, 2013.

Van de Vijver M, van de Bersselaar R, Devilee P, Cornelisse C, Peterse J, Nusse R, Amplification of the neu (c-erbB-2) oncogene in human mammary tumors is relatively frequent and is often accompanied by amplification of the linked c-erbA oncogene, *Mol Cell Biol*, 1987;7(5):2019–2023.

Venkitaraman AR, Cancer susceptibility and the functions of BRCA1 and BRCA2, *Cell*, 2002;108:171–82.

Yersal O, Barutca S, Biological subtypes of breast cancer: prognostic and therapeutic implications, *World J. Clin. Oncol*, 2014;412–424.

Yıldırım M, *Resimli İnsan Anatomisi*, 2. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 2012, s.116-117.

Yoder BJ, Wilkinson EJ, Massoll NA, Molecular and morphologic distinctions between infiltrating ductal and lobular carcinoma of the breast, *Breast J*, 2007; 13(2): 172-9.



## EKLER

### EK 1

#### Etik Kurul Kararı



**ŞİFA ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU**  
**ILAÇ DIŞI KLİNİK ARAŞTIRMALAR İÇİN ETİK KURUL BAŞVURU KARAR FORMU**

1. Araştırmanın Tam Adı / Referans No: 213-72

17.04.2015

Meme kanserinde ROS 1 genindeki değişikliklerin FISH tekniği ile incelenmesi

2. Sorumlu Araştırmacı Öğretim Üyesi / Sorumlu Araştırmacı Öğrenci

Adı Soyadı	Unvanı ve Uzmanlık Alanı	Çalıştığı Kurum	Telefon ve Mail Adresi
Öğretim üyesi	Yrd. Doç. Dr. Işın KAYA/Tıbbi Genetik	Şifa Üniversitesi Tıp Fakültesi	5052724747 isinkaya@yahoo.com
Öğrenci	Sümeyye ERTUĞRUL / Tıbbi Biyoloji ve Genetik Yüksek Lisans	Şifa Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü	5452432406 sumeyyeertugrul09@gmail.com

Sağlık Bakanlığına başvurulmasına gerek var mı? Evet  Hayır

3. Şifa Üniversitesi Etik Kurul Başvurusu Kararı

Üniversitemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 15.04.2015 tarih ve 72 nolu toplantısına sunulan araştırma dosyanız ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup bilimsel ve etik ilkelere uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

4. Şifa Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Üye Listesi

Prof. Dr. Hüseyin VURAL (Etik Kurul Başkanı)	Yrd. Doç. Dr. Nazım İNTEPE (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)
Prof. Dr. E. Alp ALAYUNT Üye	Prof. Dr. Yavuz AKBAS Üye
Prof. Dr. Hakan MOLLAOĞLU Üye	Prof. Dr. Serkan GÜÇLÜ Üye
Prof. Dr. Fahri ÖZGÜNER Üye	Doç. Dr. Mustafa GÖREGEN Üye
Yrd. Doç. Dr. Emre DEMİR Üye	Yrd. Doç. Dr. İbrahim Eren AKÇİÇEK Üye
Yrd. Doç. Dr. Mucit YALÇIN Üye	Avukat İsmail SARI Üye
Alaattin ŞAHİN Üye	Mehmet HÜRELİK Üye

## **EK 2**

### **Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu**

Değerli katılımcı;

Meme kanseri hastalığıyla ilgili yeni bir araştırma yapmaktayız. Araştırmanın amacı, meme kanseri doku örneklerinin patolojik olarak değerlendirilmesinden sonra FISH yöntemi ile gen değişikliklerinin saptanmasıdır.

Bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra eğer araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız. Çalışmaya katılmanız durumunda size herhangi bir ödeme yapılmayacaktır. Sizden onam vermeniz dışında herhangi bir beklentimiz olmayacaktır. Bu çalışmadan doğrudan bir fayda görmeyeceksiniz. Çünkü bugün için elde edilmesi planlanan sonuçlar tedavinizin gidişatını etkilemeyecektir. Çalışma sonuçlarımızın bilime katkısı olacağını aklıda tutmanızı isteriz.

Bu araştırmayı yapmak istememizin nedeni, meme kanseri ile ilgili olarak ROS1 adı verilen bir gende ortaya çıkması muhtemel değişiklikleri gözlemleyebilmek ve bu hastalıkla ilgili literatüre yeni bir destek sağlamaktır. Şifa Üniversitesi Tıp Fakültesi Genetik Tanı Merkezi, Şifa Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Kliniği ve Şifa Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Laboratuvarı'nın ortak katılımı ile gerçekleştirilecek bu çalışmaya katılımınız araştırmanın başarısı için önemlidir.

Biz inceleme için patoloji laboratuvarına gelen dokunuzda çeşitli incelemeler yapmayı planlıyoruz.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahipsiniz.

Size ait doku örneğinin rutin olarak yapılan patolojik değerlendirilmesinde hastalığın tanısı ile uyumlu sonuç elde edilemediğinde çalışmaya katılımınız sona erdirilecektir.

Araştırmamıza çalışmanın amacına uygun tanısı bulunan 30 gönüllü bireyin katılması öngörülmektedir.

Çalışma tamamen kendi üniversite hastanemizde gerçekleştirilecektir.

Çalışmanın sonuçları konusunda size ayrıca bir bilgilendirilmede bulunulmayacaktır. Aklınıza takılan ve sormak istediğiniz soruları Doç. Dr. Ahmet NART'a(Tel: 0232 343 44 45 / 1807)sorabilirsiniz.

Katılımcının beyanı;

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilceğimi biliyorum.

Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.

Araştırmanın Adı: Meme kanserinde ROS 1 genindeki değişikliklerin FISH tekniği ile incelenmesi

Kullanılacak biyolojik materyal: Patolojik tanı için alınan meme dokusu örneği

- Sadece yukarıda bahsi geçen araştırmada kullanılmasına izin veriyorum
- İleride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum
- Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum

Katılımcı

Adı,soyadı:

Adres:

Tel:

İmza

Katılımcı ile görüşen hekim

Adı,soyadı,unvanı:

Adres:

Tel:



## ÖZGEÇMİŞ

1992 yılında Aydın'da doğdu. İlköğretimi, Aydın Cumhuriyet İlköğretim okulunda, Ortaokulu TED Aydın Kolejinde, Lise öğrenimini Aydın Yesevi Kolejinde tamamladı. 2009 yılında İstanbul Fatih Üniversitesi Biyoloji bölümünü kazandı ve 2013 yılında mezun oldu. 2013 yılında İzmir Şifa Üniversitesinde Tıbbi Biyoloji ve Genetik anabilim dalında yüksek lisans öğrenimine başladı. Halen Şifa Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik yüksek lisans programı öğrencisidir. Yabancı dili İngilizce'dir.