



**T.C.**  
**HALIÇ ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK**  
**ANABİLİM DALI**

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK PROGRAMI**

**MEME KANSERİNDE SURVIVIN -31G/C**  
**POLİMORFİZMİNİN İNCELENMESİ**

**AYŞEM DİLARA BEKTAŞ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Yrd. Doç.Dr. NAGEHAN ERSOY TUNALI**

**İSTANBUL-2016**



**T.C.**  
**HALIÇ ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK**  
**ANABİLİM DALI**

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK PROGRAMI**

**MEME KANSERİNDE SURVIVIN -31G/C**  
**POLİMORFİZMİNİN İNCELENMESİ**

**AYŞEM DİLARA BEKTAŞ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Yrd. Doç.Dr. NAGEHAN ERSOY TUNALI**

**İSTANBUL-2016**

T.C.  
HALIÇ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Makaleler, Bültenler ve Diğer Anabilim/Anasanat Dalı Makaleler, Bültenler ve Diğer Programı Tezli Yüksek Lisans  
öğrencisi ..... Ayferi Dilek Bektaş ..... tarafından hazırlanan  
“..... Menez Konusunda Sıvının -31.9/6 Polimerizasyonu İncelenmesi.....”

adlı bu çalışma jürimizce Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Sınav Tarihi 12.02.2016

( Jüri Üyesinin Ünvanı, Adı, Soyadı ve Kurumu ) :

İmzası :

Jüri Üyesi: Yrd. Doç. Dr. Nagehan ERSOY DINAÇI  
Danışman: Halic, ..... Üniv. ..... ASD/ ABD Öğr. Üyesi  
Moleküler Biyoloji ve Genetik

Jüri Üyesi: Yrd. Doç. Dr. Ödül KURNAZ GÖMÜKÇÜ  
Halic, ..... Üniv. Tıp Fakültesi ASD/ ABD Öğr. Üyesi  
Tıbbi Biyoloji

Jüri Üyesi: Yrd. Doç. Dr. Mehmet ÖZAN SOY  
Halic, ..... Üniv. Tıp Fakültesi ASD/ ABD Öğr. Üyesi  
Fizyoloji

Jüri Üyesi: .....  
..... Üniv. .... ASD/ ABD Öğr. Üyesi (Yedek)

Jüri Üyesi: .....  
..... Üniv. .... ASD/ ABD Öğr. Üyesi (Yedek)

## ÖNSÖZ

Bu çalışma 2014 – 2015 yılları arasında T.C. Haliç Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nün bilimsel araştırma ve uygulama çalışmalarına verdiği destek ile hazırlanmıştır.

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarımın tamamlanması sürecinde büyük bir özveri, sabır ve hoşgörüsü bana destek olan tez danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Nagehan Ersoy Tunalı'ya ve Özel Osmanoğlu Hastanesi yönetimine çok teşekkür ederim. Bu araştırmanın istatistiksel analizlerinde katkısı olan Arş. Gör. Ozan Tiryakioğlu'na teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca sevgili aileme her zaman yanımda oldukları ve desteklerini esirgemedikleri için çok teşekkür ederim.

Son olarak da yüksek lisans eğitimim boyunca bana desteklerinden dolayı Doğaç Çelik'e teşekkürlerimi sunarım.

İstanbul, 2016

Ayşem Dilara BEKTAŞ

## İÇİNDEKİLER

|   | Sayfa No. |
|---|-----------|
| KISALTMALAR.....  | III       |
| TABLolar .....  | V         |
| ŞEKİLLER .....  | VI        |
| GENEL BİLGİLER .....  | VII       |
| GENERAL INFORMATION .....   | IX        |
| <b>1. GİRİŞ .....</b>   | <b>1</b>  |
| 1.1.Memenin Embriyolojik, Anatomik ve Fizyolojik Özellikleri..... | 2         |
| 1.1.1.Meme Embriyolojisi .....                                    | 2         |
| 1.1.2.Meme Anatomisi.....   | 3         |
| 1.1.3.Memenin Fizyolojisi. ....                                   | 4         |
| 1.2.Meme Karsinomu.....   | 5         |
| 1.2.1.Meme Kanserinin Epidemiyolojisi .....                       | 5         |
| 1.2.2.Meme Kanserinin Risk Faktörleri.....                        | 6         |
| 1.2.3.Meme Karsinomu Histopatolojisi .....                        | 9         |
| 1.2.4.Meme Kanserinde Evreleme .....                              | 10        |
| 1.2.5.Meme Kanserinde Prognostik Faktörler .....                  | 11        |
| 1.3.Meme Kansersinde Survivin Geninin Rolü .....                  | 13        |
| 1.3.1.Apoptoz İnhibitörü Olarak Survivin .....                    | 15        |
| 1.3.2.Mitozda Promotör Olarak Survivin.....                       | 16        |
| 1.3.3.Anjiogenezde Survivin.....                                  | 17        |
| 1.3.4.Survivin Polimorfizmleri .....                              | 18        |
| 1.3.5.Survivin ve Kanser.....                                     | 20        |
| 1.3.5.1.Kanserin Moleküler Tanısında Survivin'nin Önemi .....     | 20        |
| 1.3.5.2.Survivin'in Kanserdeki Ayırıcı İfadesi .....              | 21        |
| 1.3.5.3.Meme Kanseri Tanı ve Tespitinde Survivin'in Rolü .....    | 21        |
| 1.3.5.4.Survivin ve Meme Kanseri Prognozu. ....                   | 22        |
| <b>2.AMAÇ .....</b>   | <b>24</b> |

|  |    |
|--|----|
| <b>3.MATERYAL</b> .....  | 25 |
| 3.1. Araştırmada Kullanılan Örnekler .....                               | 25 |
| 3.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu için Gerekli Enzim ve Kimyasallar ..... | 25 |
| 3.2.1. Oligonukleotid Primerler .....                                    | 26 |
| 3.3. Restriksiyon Enzimleri ve Reaksiyon Tamponları .....                | 26 |
| 3.4. Elektroforez için Kullanılan Tamponlar ve Kimyasallar .....         | 26 |
| 3.5. DNA Buyukluk Markorleri .....                                       | 27 |
| 3.6. Cihazlar .....  | 27 |
| <b>4. METOD</b> .....  | 28 |
| 4.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) .....                             | 28 |
| 4.2. Restriksiyon Fragmenti Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) .....            | 29 |
| 4.3. Agaroz Jel Elektroforezi (AGE) .....                                | 29 |
| 4.4. Meme Kanserinin Molekuler Analizi .....                             | 30 |
| 4.5. Meme Kanserinin İstatiksel Analizi .....                            | 32 |
| <b>5. SONUÇLAR</b> .....   | 33 |
| 5.1. Örneklerin Tanımı .....   | 33 |
| 5.2. -31 G/C Polimorfizminin Molekuler Analizi .....                     | 34 |
| 5.3. -31 G/C Polimorfizminin Meme Kanseri ile İlişkilendirilmesi .....   | 36 |
| <b>6. TARTIşMA</b> .....   | 39 |
| <b>7.KAYNAKLAR</b> .....   | 42 |
| <b>8. ÖZGEÇMİş</b> .....   | 48 |

## KISALTMALAR

**BRCA1/2:** Breast Cancer (Meme Kanseri)1/2

**SURV:** Survivin

**(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Amonyum sülfat

**bç** : Baz çifti

**BPB** : Bromofenol mavisi

**dNTP** : Deoksiribonükleotid

**EtBr** : Etidyum bromür

**HW** : Hardy-Weinberg

**L** : Litre

**M** : Molar

**MgCl<sub>2</sub>** : Magnezyum Klorür

**ml** : Mililitre

**mM** : Milimolar

**NaCl** : Sodyum klorür

**N.K.:** Negatif Kontrol

**PZR** : Polimeraz Zincir Reaksiyonu

**RFLP** : Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi

**TBE** : Tris-Borik asit-EDTA

**U** : Ünite

**µg** : Mikrogram

**µl** : Mikrolitre

**χ<sup>2</sup>** : Ki-kare

**UV**: Ultraviyole

**CDE**: Hücre Döngüsüne Bağlı Elementler

**CHR**: Hücre Döngüsü Homoloji Bölgeleri

**c-erbB-2 (HER- 2/neu)**: İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü-2 Geni



## TABLolar

|   | Sayfa No. |
|---|-----------|
| Tablo 1.1. IARC Tarafından Yayınlanan Globocan (2012) Verilerine Göre Kadınlarda En Sık Görülen Kanselerin Dağılımı ..... | 6         |
| Tablo 1.2. İn situ ve İnvaziv karsinomlar .....   | 10        |
| Tablo 1.3. AJCC'nin meme kanseri için yayınladığı TNM sınıflamasının yedinci versiyonunda TNM sınıflaması.....            | 11        |
| Tablo 3.1. Oligonükleotid Primerler .....   | 26        |
| Tablo 4.1. PZR Reaksiyonlarının içerikleri .....  | 31        |
| Tablo 4.2. PZR döngü koşulları.....   | 31        |
| Tablo 4.3. Restriksiyon ürünlerinin uzunlukları .....   | 32        |
| Tablo 5.1. Hasta ve Kontrol Grubunun Demografik Verileri .....  | 33        |
| Tablo 5.2. Hastaların Klinik Verileri .....   | 33        |
| Tablo 5.3. Hasta ve Kontrol Grubunda Genotiplerin Dağılımı.....   | 35        |
| Tablo 5.4. Hastaların Genotiplerine göre Klinik Veriler .....   | 35        |
| Tablo 5.5. Hasta ve Kontrol Grubunda Genotipik Dağılımların Karşılaştırılması .....                                       | 37        |
| Tablo 5.6. Hasta Grubunda Metastatik Duruma göre Genotipik Dağılımların Karşılaştırılması .....                           | 37        |
| Tablo 5.7. Hasta Grubunda Tümör Evresine (Erken vs Geç) göre Genotipik Dağılımların Karşılaştırılması .....               | 38        |
| Tablo 5.8. Tümör Histolojisine göre Genotipik Dağılımların Karşılaştırılması .....  | 38        |
| Tablo 5.9. Genotip dağılımlarına göre tümör boyutları .....   | 38        |

## ŞEKİLLER

|  | Sayfa No. |
|--|-----------|
| Şekil 1.1. Memenin önden(a) ve yandan(b) anatomik görüntüsü .....                                    | 4         |
| Şekil 1.2. İn situ ve İnvaziv kanser hücrelerinin normal hücrelerden histopatolojik farklılığı ..... | 9         |
| Şekil 1.3. Memelilerde Apoptoz İnhibitör Proteinleri (IAP) .....                                     | 14        |
| Şekil 1.4. Anjiyogenezde Survivin / VEGF bağlantısı .....  | 18        |
| Şekil 5.1. PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jelde görüntülenmesi .....                                  | 34        |
| Şekil 5.2. Restriksiyon kesimi ürünlerinin %3' lük agaroz jelde görüntülenmesi.....                  | 34        |
| Şekil 5.3. Homozigot varyant (G/G) örnek kromatogramı .....  | 36        |
| Şekil 5.4. Heterozigot (G/C) örnek kromatogramı .....  | 36        |

## GENEL BİLGİLER

Adı ve Soyadı : Ayşem Dilara BEKTAŞ

Anabilim Dalı : Moleküler Biyoloji ve Genetik

Programı : Moleküler Biyoloji ve Genetik

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Nagehan ERSOY TUNALI

Tez Türü ve Tarihi : Yüksek Lisans – Ocak 2016

## ÖZET

Meme kanseri dünyada üçüncü sıklıkta rastlanan kanser türü olup kadınlarda en sık görülen malignitedir ve kadınlardaki kanser olgularının %18'inden sorumludur. Yakın zaman önce bulunan ve BIRC5 olarak da bilinen Survivin, apoptozu inhibe edici (Apoptoz İnhibitör Protein - IAPs) proteinlerdendir. Anti-apoptotik özeliğinin yanı sıra, hücre proliferasyonunda ve anjiyogenezde rol oynaması survivinin, tümörün büyüme potansiyeli olan hücrelerinde eksprese edildiğini, tümör oluşumu ve büyümesinde etkili olduğunu düşündürmektedir. Güncel olarak survivin ifadesi insan meme kanserlerinde bildirilmiş olup, survivin ekspresyonunun artmış düzeylerinin meme kanserli hastalar için negatif bir prognostik faktör olabileceği bildirilmiştir. Survivin gen polimorfizmlerinden en çok çalışması yapılmış olan CDE/CHR reseptör bağlayıcı bölgede lokalize olan -31G/C polimorfizmidir. Survivin geninin promotör bölgesindeki bu mutasyon sonucu hücre döngüsünden bağımsız olarak genin transkripsiyonu ve bunun sonucunda da aşırı ifadesi görülür.

Bu çalışmada 72 meme kanseri hastası ve 74 sağlıklı kontrole ait DNA örneklerinde survivin -31 G/C polimorfizmi PCR-RFLP yöntemi ile araştırılarak bu polimorfizmin meme kanserine yatkınlıktaki rolü ile klinik ve patolojik verilerle

ilişkisi incelenmiştir. İncelenen popülasyonda survivin -31 G/C polimorfizminin meme kanserine yatkınlıkta rolü bulunamamıştır. Hastaların klinik ve patolojik verileri ile polimorfizm arasında da anlamlı bir ilişki saptanamamıştır. Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçların teyidi ve survivin -31 G/C polimorfizminin meme kanseri üzerine olan etkisinin daha iyi anlaşılabilmesi için daha geniş hasta ve kontrol gruplarında tekrarlanmış araştırmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Meme Kanseri, survivin, rs9904341, polimorfizm, -31G/C

## **GENERAL INFORMATION**

Name and Surname : Ayşem Dilara BEKTAŞ

Field : Molecular Biology and Genetics

Program : Molecular Biology and Genetics

Supervisor : Assist. Prof.Dr. Nagehan ERSOY TUNALI

Degree Awarded and Date : Master of Science – January 2015

## **SUMMARY**

Breast cancer is the third most common type of cancer and the most common malignancy in the World, and is responsible for 18% of cancer cases in women. Survivin, recently found and also known as BIRC5, is one of the apoptosis inhibiting (Inhibitor of Apoptosis Protein - IAP) proteins. Besides its anti-apoptotic properties, its role in cell proliferation and angiogenesis implies that survivin is expressed in tumor cells that have proliferative capacity and has effects on tumor formation and growth. Currently survivin expression has been reported in human breast cancers, increased levels of survivin expression was reported to be a negative prognostic factor for patients with cancer. Survivin -31 G/C polymorphism is the best known and the most widely studied polymorphism in the literature, which is located at CDE/CHR receptor binding region. As a result of this mutation in the promoter region, transcription of the gene regardless of cell cycle and its over expression is detected.

In this study, survivin -31 G/C polymorphism was investigated and its role in breast cancer susceptibility was analyzed together with its correlation with clinicopathological properties. A role of this polymorphism in breast cancer susceptibility could not be identified in the studied population. There was also no

significant association between the polymorphism and clinicopathological characteristics of the patients. In order to verify and to clarify the role of this polymorphism in breast cancer, wider patient and control populations are required.

**Keywords:** Breast Cancer, survivin, rs9904341, polymorphism

## 1.GİRİŞ

Meme kanseri dünyada kadınlar arasında en sık görülen malignitedir ve kadınlarda görülen tüm kanserlerin yaklaşık olarak %18'ini oluşturmaktadır. Meme kanseri sıklığı dünya üzerindeki ülkelere göre farklılık göstermekle birlikte Avrupa'da yılda 180.000, Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) yılda 184.000 yeni olgu saptanmaktadır. Kanada'da yılda yüzbinde 80-90 görülme sıklığı ile ilk sıralarda yer alırken, Japonya'da sadece yüzbinde 12-15 arasındadır (Aslan vd., 2007). 2009 yılına ait kanser istatistiklerine göre ülkemizde her yıl yaklaşık 98.000 erkek ve 63.000 kadın birey kansere yakalanmaktadır. Meme kanseri ise kadınlarda en sık görülen kanser türünden birisi olmaya devam etmektedir (Gültekin vd., 2014).

Türkiye'de 1999 yılında 8.879 olan meme kanseri kadın sayısı, 2003 yılı itibariyle 12.772'ye yükselmiştir. Ayrıca ülkemizde tüm kanser vakalarının %24,1'ini meme kanserinin oluşturduğu belirtilmektedir. Kadınlarda kansere bağlı ölümlerin %18'i meme kanseri nedeniyle oluşmaktadır ve meme kanserine bağlı ölümler; akciğer ve kolorektal kanserlerden sonra üçüncü sırayı almaktadır (Çalıkapan, 2004). Meme infantil büyüme, ergenlik, hamilelik, emzirme ve menopoz sonrası regresyon ile ilişkili olarak boyutu dramatik değişikliklere uğrayan bilateral bir organdır. Meme, kadın nüfusunda en sık tanısı konan malignite kaynağıdır (Russo vd., 2004).

Survivin [Bakulovirüs IAP tekrar içeren protein (BIRC-5), onaylanmış gen sembolü; BIRC5], hem apoptozun inhibisyonu ve hem de mitoz regülasyonundan sorumlu tutulan, apoptoz inhibitörleri gen ailesinin bir üyesidir. Survivin, sağlıklı dokulara göre tümör dokusunda en çok ifade genlerden biridir. Primer tümörlerde yüksek survivin ifadesi, birçok kanser tipinde, hemen her zaman hasta için kötü prognoz ile ilişkilidir. Survivin mRNA konsantrasyonları primer meme kanserinde kötü prognoz için güçlü ve bağımsız bir belirteçtir (Span vd., 2006).

## **1.1.Memenin Embriyolojik, Anatomik ve Fizyolojik Özellikleri**

### **1.1.1.Meme Embriyolojisi**

Memenin hücresel elemanları ektodermden, kan damarları ve bağ dokusu mezodermden gelişir. İlk rudiment ise yaklaşık intrauterin üçüncü ayında görülür (Taşmalı, 2009).

İlk taslak vücudun ön yüzündeki ekstremiteleri arasında, epiderminin sağda ve solda çizgi şeklinde kalınlaşması ile ortaya çıkar (Taşmalı, 2009). 16. haftada ise epitelyal tomurcuklar gelişir ve dallanır (Ustaoglu, 2000). Bu epitel tomurcuklarından ductus lactiferi'ler ortaya çıkar. Son tomurcuklar da küçük kanalcıkları ve alveolleri oluşturur. Doğumdan sonra mezenkimin proliferasyonu ile meme kabarıp (Taşmalı, 2009). Bilateral meme tomurcukları 5. ayda bu katlantıların üst 1/3 kısımlarının ortasında mezenşimal proliferasyonu ile oluşur ve bu sırada katlantıların diğer kısımları geriler. Primitif süt bandının gerilemesi veya dağılımında bir yetersizlik olur ise, kadınların % 2-6' sında görülen aksesuar meme dokusu oluşur. Meme tomurcuklarından sekonder epitelyal büyümelerle birlikte ileride laktifer duktusları oluşturacak dallanmalar meydana gelir. 8. gestasyonel ayda epitelyal kordonlar içerisinde lümen gelişir ve aynı zamanda santralde bağ doku proliferasyonu ile meme başı ortaya çıkar (Ustaoglu, 2000).

Kadınlarda meme gelişim ve farklılaşması iki fazlı olup, ilki yukarıda bahsedilen fetal gelişimdir. Bunun sonucu maternal orijinli sekretuar uyarılara cevap verebilen basit dallanmış duktuslardan oluşan rudimenter bir organ meydana gelir. Gelişimin ikinci evresi pubertede olur. Bu dönemde duktuslar uzarlar, bölünürler ve terminal duktoböler üniteleri oluştururlar (Taşmalı, 2009).

Memede gelişen doğuştan anomaliler; politeli (meme başı sayısının normalden fazla olması), polimasti (meme sayısının normalden fazla olması) ve konjenital amastidir (meme bezinin olmaması) (Taşmalı, 2009).



### 1.1.2.Meme Anatomisi

Meme, üreme sistemin fonksiyonel yönden bir parçası olup, yapı ve gelişim açısından modifiye bir apokrin ter bezidir (Ustaoğlu, 2000).

Meme, asini ve duktusları oluşturan epitelyal parankim ile onları destekleyen kas elemanları, fasya elemanları, yağ dokusu, kan damarları, sinirler ve lenfatikleri içerir. Her biri ayrı bir salgı kanalıyla meme başına açılan 15-20 loblu epitelyal parankimi oluşturur. Her lobda 20 ila 40 arası lobül, her lobülde ise toplayıcı bir duktus çevresinde gruplaşmış 10 ile 300 adet asini bulunur. Lobüller, meme glandının esas yapısal birimini oluşturur. Memede asinilerinin birleşip ‘terminal duktus’ adı verilen bir kanala açılmasıyla süt kanalları başlar. Her lobta, birkaç lobülün terminal duktuslarının birleşmesiyle ise laktifer duktus oluşur ve bu duktuslar birbirlerine yaklaşarak, meme başının altında laktifer sinüs denilen bir genişleme gösterirler. Meme başından dışarıya ampulla olarak isimlendirilen koni şeklindeki boşaltıcı bir bölüm sayesinde açılır (İpek, 2011) (Şekil 1.1.).

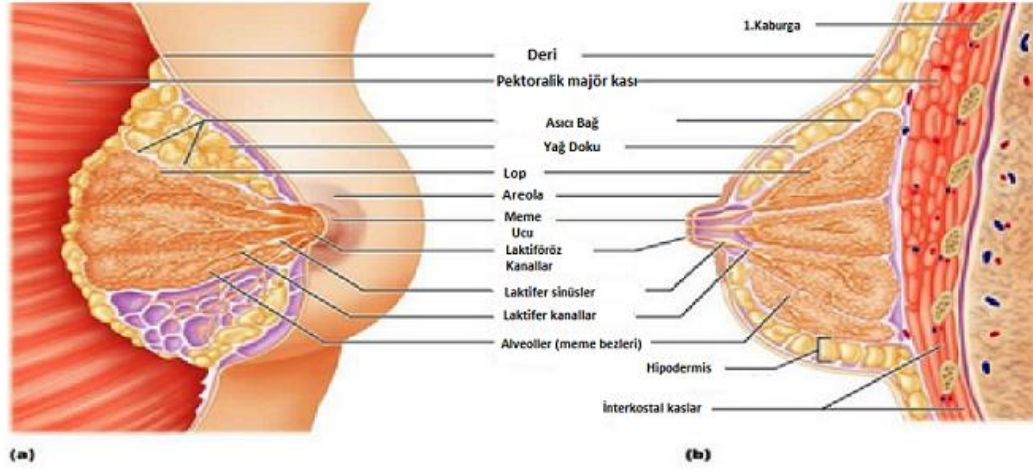
Meme dikey olarak, ön göğüs duvar üzerinde, superomedial pektoralis majör kasını örten, ikinci ve altıncı kaburgalar arasında uzanan ve serratus anterior kası alt üçüncü ve medial bölgelerde bulunur. Yatay boyut göz önüne alındığında ise, orta aksiller hattın sternum yan kenarında konumlanmıştır (Urban vd., 2013).

Memenin üst ve dış kadrantları diğer kadrantlara oranla çok daha fazla glandüler elaman içerdiği için bu kadranda selim ve habis meme tümörleri daha sık görülür. Meme dokusunun koltuk altına doğru bir uzantısı vardır ve buna “Spence’nin aksiller kuyruğu” adı verilir. Memede oluşan tüm fizyolojik olaylar koltuk altı kuyruğunda da gerçekleşir (Evcimik, 2008).

Memenin çapı ortalama 10-12 cm ve santral bölgedeki kalınlığı maksimum 5 ila 7 cm. arasındadır. Laktasyonda olmayan bir memenin ağırlığı 150-200 gram olup, laktasyonda olan bir meme yaklaşık olarak 400-500 gram kadardır. Memenin çapları ve sınırları kadından kadına değişebileceği gibi aynı kadında da gebelik, emzirme, şişmanlama, zayıflama ve yaşlılık nedenleriyle farklılık gösterebilir (Evcimik, 2008).

Memelerin orta bölümüne denk gelen kısmında meme başı ve areola bulunur. Bu bölge meme derisinden daha fazla pigment içerdiği için koyu renktedir (Demiral, 2009).

Meme başı ve areola, epidermisi keratinize olmuş çok katlı yassı epitel hücreleri ile örtülüdür. Areola ve meme başının derinindeki düz kas lifleri; dairesel ve ışınsal bir şekilde, laktifer duktuslar boyunca sıralanmışlardır. Areolada ter bezleri, sebace bezler ve aksesuar areolar bezleri yer alır. Meme başının uç kısmında ise fazla miktarda serbest duysal sinir ucu ve dermal papillada ise Meissner cisimcikleri bulunur (İpek, 2011).



**Şekil 1.1.** Memenin önden(a) ve yandan(b) anatomik görüntüsü

Kaynak: (<http://www.justhealthylifestyle.com/the-anatomy-and-physiology-of-a-breast-cancer-appearance-cancer-mammae/>)

### 1.1.3. Memenin Fizyolojisi

Meme yavruların beslenmesi için bir organdır. Karmaşık bir nöroendokrin mekanizması gebelik ve emzirme sırasında insan memesini kontrol eder. Östrojen ve progesteron büyük miktarlarda plasenta tarafından üretilir ve bu hormonlar boyut artışı için meme lobüllerini stimüle eder (Gazioğlu, 2005).

Hipofiz ön lop hormonu prolaktin, aynı zamanda meme büyüme ve süt salgılanmasını stimüle etmede ikili bir işlevi vardır. Kanal sistemi içerisine süt ejeksiyonu ise çoğunlukla posterior hipofiz hormonu oksitosin tarafından kontrol edilir. Bu kompleks nöroendokrin sistem meme gelişimi ve işlevini de kontrol eder. Adrenaller, hipofiz, hipotalamus ve yumurtalıklar bu sistemin temel unsurlarıdır (Gazioğlu, 2005).

Adet döngüsü boyunca endokrin değişiklikler belirgin şekilde meme dokusunu etkiler. Bu değişiklikler, hem stroma ve hem de epitelyumda gözlenir. Menstruel döngüsündeki proliferatif fazda (3.-7. günler) stroma yoğun ve sıkı bir

duktal lümen ile çevrilidir. Foliküler fazda (8.-14.günler) yoğun ve hücresele stroma daha kollajen olur ve lümen daha kolay tanımlanabilir. Ancak luteal faz (15.-20.günler) sırasında, stroma gevşek hale gelir, lümen açılır ve sekresyon olur. Salgı faz (21.-27. günler) içerisinde stroma hala gevşektir fakat aynı zamanda ödematözdür ve lümen sekresyon ile açılır. Menstrüel faz (28.-2. günler) sırasında stroma yoğun ve hücresele durumuna döner ancak duktal lümen sekresyon ile gergin olarak kalır (Gazioğlu, 2005).

## **1.2.Meme Kansinomu**

### **1.2.1.Meme Kanserinin Epidemiyolojisi**

Kanser dünyada hemen her ülkede mortalite ve morbidite oranları açısından önde gelen halk sağlığı sorunlarından biridir. Yüzyılın başlarında ölüme sebep olan hastalıklar sıralamasında yedinci sıralarda iken günümüzde, Türkiye de dâhil birçok ülkede, kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırada gelmektedir. Kanser tiplerinin dağılım ve sıklığı, ülkelerin gelişmişlik düzeylerine bağlı olarak farklılık gösterdiği gibi, ülke içinde de değişebilmektedir (Bodur vd., 2011).

Meme kanseri kadınlarda en sık görülen neoplazi türüdür ve tüm kadın kanserlerinin %18'ini oluşturur (Haydaroğlu, 2015). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ile Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansının (IARC) kombine raporuna göre, yeryüzünde her yıl bir milyon kadın meme kanserine yakalanmakta ve 370.000 kadın bu hastalıktan ölmektedir (Gazioğlu, 2005). Meme kanseri dünyada üçüncü sıklıkta rastlanan kanserdir (akciğer ve gastrik kanserlerinden sonra) ve kadınlarda en sık görülen malignitedir (Çelik, 2007).

Uluslararası Kanser Ajansının 2012 yılı için yayınladığı tahminlere göre dünyada yeni tanı kanserli hasta sayısı ve kansere bağlı ölümler bir önceki tahminlere göre artmıştır. GLOBOCAN (Dünya Kanser Bilgi Sistemi) 2012 verilerine göre 2012 yılında Dünya'da yaklaşık olarak toplam 14,1 milyon yeni kanser vakası gelişmiş olup, kansere bağlı 8,2 milyon ölüm olmuştur. Dünyada en çok tanı konulan kanser türleri akciğer (% 13,0), meme (% 11,9) ve kolon (% 9,7) iken, kanserden ölümlerin ise en çok akciğer (% 19,4), karaciğer (% 9,1) ve mide (% 8,8) kanserlerinden gerçekleştiği belirtilmiştir (GLOBOCAN, 2012).

Türkiye kanser insidansı Dünya ortalamasının üzerinde iken, Avrupa Birliği ülkeleri ve Amerika gibi gelişmişlik düzeyi yüksek olan ülkelere göre ise kanser açısından hem kadınlarda hem de erkeklerde daha düşük bir hızda seyretmektedir. Türkiye’de 2012 yılında yaşa standardize edilmiş kanser hızı kadınlarda 100.000 kişide 188,2’dir (Gültekin vd., 2014).

**Tablo 1.1.** IARC Tarafından Yayınlanan Globocan (2012) Verilerine Göre Kadınlarda En Sık Görülen Kanserlerin Dağılımı (Türkiye Kanseri İstatistikleri)

|   | Türkiye*       | Dünya           | IARC’a üye 24 ülke | AB(28 ülke)     | ABD        |
|---|----------------|-----------------|--------------------|-----------------|------------|
| 1 | Meme           | Meme            | Meme               | Meme            | Meme       |
| 2 | Tiroid         | Kolorektal      | Kolorektal         | Kolorektal      | Akciğer    |
| 3 | Kolorektal     | Uterus serviksi | Akciğer            | Akciğer         | Kolorektal |
| 4 | Uterus Korpusu | Akciğer         | Uterus serviksi    | Uterus korpusu  | Tiroid     |
| 5 | Akciğer        | Uterus korpusu  | Uterus korpusu     | Uterus serviksi | Uterus     |

\*Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2009

Ülkemizde 2012 yılı kanser istatistiklerine göre 70.897 kadın birey kansere yakalanmış, 17.630 kadına meme kanseri teşhisi konulmuştur. Meme kanseri kadınlarda en sık görülen kanser türünden birisi olmaya devam etmektedir (Tablo 1.1) (Gültekin vd., 2014).

### 1.2.2.Meme Kanserinin Risk Faktörleri

Günümüzde meme kanseri ile ilgili risk faktörlerini belirlemek için yapılan bireysel ve işbirliğine dayalı birçok çalışma mevcuttur. Ancak, retrospektif ve prospektif kontrolün yetersizliği ve geniş kapsamlı kohort çalışmalarının eksikliği nedeniyle çalışmaların büyük çoğunluğu bu risk faktörleri ile ilgili sorulara tam olarak yanıt sahibi değildir (Gazioğlu, 2005).

**Genetik Yatkınlık:** Genetik yatkınlık meme kanseri gelişimindeki göreceli riskin yüksek oranda artışı ile ilişkili bir risk faktörüdür. İki majör gen, BRCA1 ve BRCA2 meme kanseri için kalıtsal bir yatkınlık ile bağlantılı olduğu bulunmuştur.

Tüm kalıtsal meme kanserlerinin yaklaşık % 15’i BRCA1 ve BRCA2 geni mutasyonları ile ilişkilendirilmektedir. BRCA1 mutasyon taşıyıcıları gibi, BRCA2 mutasyon taşıyıcılarında da yaşam boyu meme kanseri riski % 60-85 aralığında olduğu tahmin edilmektedir.

Meme kanseri için BRCA 1 / 2 dışında, duyarlılığını arttırabilen PTEN, p53 ve stk11 gibi yüksek penetranslı genlerle ilgili ikna edici kanıtlar vardır (Gazioğlu, 2005).

**Aile Öyküsü:** Meme kanserinde pozitif bir aile geçmişi, meme kanseri gelişimi için en önemli risk faktörlerinden biridir. Bir kadının meme kanseri riski, ailesinin meme kanserli üyelerinin sayısı ile artar. Ve tüm meme kanseri olaylarının yaklaşık % 5-10'nunu oluşturmaktadır. Bu nedenle aile öyküsü kalıtsal hastalığı belirlemede en önemlidir (Gazioğlu, 2005).

**Yaş:** Meme kanseri gelişim riski bir kadının yaşamı boyunca yaşı arttıkça artar. Genç kadınlara oranla 65 yaş üzerindeki kadınlarda 6 kat riski vardır (Gazioğlu, 2005). Günümüzde bir kadının hayat boyu non-invazif meme kanseri olma ihtimali 6 kişide 1 kişi ve invazif meme kanseri olma ihtimali 8 kişide 1 kişidir (Koçak vd., 2011).

**Kişisel Meme Kanseri Hikayesi:** Daha önce meme kanseri geçiren ve tedavi olan kadınların diğer memelerinde kanser gelişim olasılığı, meme kanseri teşhisi konulmamış kadınlara oranla 3-4 kat daha fazla olduğu belirtilmektedir (Sönmez, 2012).

**Fertil Çağ Süresi:** Kadınların adet görmeye erken yaşta başlamaları ve ilerleyen yaşlarda menopoza girilmesi fertil çağı uzatmaktadır. Bu durum kadının daha uzun süre östrojen hormonu etkisi altında kalmasına ve bunun da meme kanseri gelişme riskini yükselttiği ifade edilmektedir (Sönmez, 2012).

**Doğurganlık Hikayesi:** Kadınların ilk çocuğunu doğurma yaşı meme kanserine yakalanma riski açısından önem teşkil eder. İlk çocuğunu 30 yaşından sonra doğuran kadınlarda meme kanseri görülme oranı, 20 yaşından önce doğum yapan kadınlara oranla 2 kat daha fazladır. Hiç çocuk doğurmamış kadınlarda ise risk oranı daha da yükselmektedir (Sönmez, 2012). Emzirme meme kanseri riskini azaltmaktadır ve bu etki beklendiği üzere özellikle premenapozal kadınlarda daha belirgindir (Koçak vd., 2011).

**Sosyo-ekonomik Seviyenin Yüksekliği:** Sosyo-ekonomik düzeyi yüksek kadınlarda, meme kanseri görülme oranının daha yüksek olduğu ifade edilmektedir. Bu özelliğe sahip olan ailelerin kızları daha iyi beslendikleri için daha erken yaşta gelişmektedir ve bunun sonucu olarak da daha erken yaşta adet görmeye başlamaktadır. Aynı zamanda bu çocuklar büyüdükleri zaman çevresel etkiler

(eğitim ve iç vb.) sebebiyle daha geç yaşta evlendikleri için daha geç yaşta ocuk sahibi olmaları söz konusu olmaktadır (Gündoğan., 2012).

**Doğum Kontrol Hapı Kullanılması:** Doğum kontrol haplarının meme kanseri riskini yükselttiği belirtilmekle ancak konu ile ilgili farklı görüşlerin de mevcut olduğu ifade edilmektedir. Her ne kadar bu tür hapları kullanan kadınlarda meme kanserine yakalanma riski açısından bir artış olduğu ileri sürülse de, 10 yıl önce doğum kontrol hapı kullanmayı bırakmış olan kadınlarda bu riskin tamamen ortadan kalktığı da vurgulanmaktadır (Sönmez B., 2012).

**Sigara Kullanılması:** Sigaranın meme kanseriyle ilgili ilişkisi tam olarak kurulamasa da bazı araştırmalarda sigaranın meme kanserinin oluşması yönünde olumsuz bir risk faktörü olarak değerlendirilebileceğine de işaret edilmektedir (Sönmez B., 2012).

**Obesite ve Yağlı Beslenme:** Obesite kanser riskinin artışına yol açan etmenlerden biri olup meme kanserinin obesite ile ilişkisi ortaya konmuş çalışmalar mevcuttur (olak, 2004).

**Reprodüktif yk:** strojen hormonuna maruz kalma sresindeki(menarş, gebelik ve menapozda) artış oranı ile meme kanseri gelişim riskindeki artış oranı birbirleriyle ilişkilidir. Bununla birlikte, östrojene maruz kalınan srenin azalmasının ise koruyucu olduğu ifade edilmektedir (Koçak vd., 2011).

**Radyasyona maruz kalma:** Memenin aktif olarak geliştiği dönemde (10-14 yaş arası), radyasyona maruz kalma ve hayatın ilk 3 onyılında toraks bölgesine yapılan terapötik işın tedavisi işlemi de meme kanseri riskini artırmaktadır. 45 yaşından sonra radyasyona maruz kalma veya işın tedavisinin meme kanseri riskini etkilemediği belirtilmektedir. Tanısal amaçlı yapılan işlemlere bağlı olarak oluşan radyasyona maruziyet ile meme kanseri riski ilişkisi tartışmalıdır. Genetik geçiş riski olanlar haricinde bu risk yok veya dikkate alınmayacak kadar düşük olarak kabul edilir (Koçak vd., 2011).

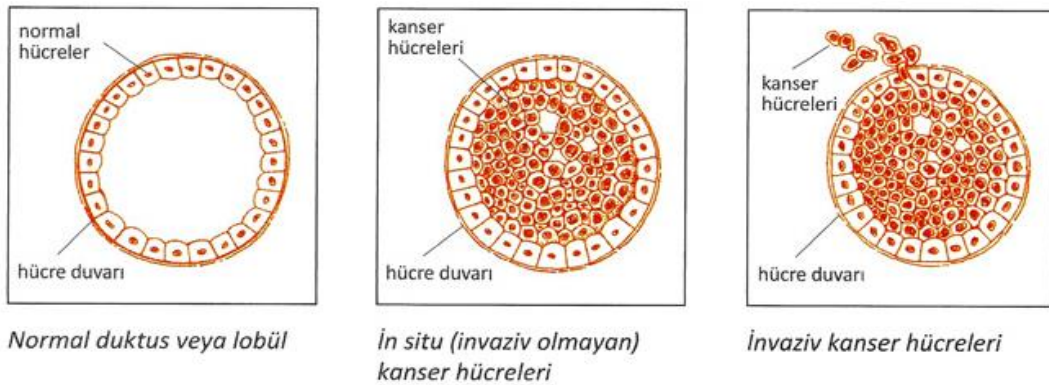
**Hormon Replasman Tedavisi (HRT) ve oral kontraseptif kullanımı:** Gerek Dünya Sağlık rgt (WHO) gerekse de Bir Milyon Kadın alışması'nda, Hormon Replasman Tedavisi almış kadınlarda, verilen tedavi tipi ve yönteminden bağımsız olarak hayatı tehdit eden meme kanserine yakalanma riskinin arttığı ortaya konmuştur. Epidemiyolojik çalışmalarda oral kontraseptif kullanım ile meme kanseri riski arasında bir ilişki gösterilememiştir (Koçak vd., 2011).

**Proliferatif meme lezyonları (Atipi içermeyen ve içeren):** Proliferatif meme lezyonlarından özellikle sitolojik atipi içerenler hem invazif olmayan hem de invazif meme kanseri için risk faktörüdürler. Atipi içermeyen bu proliferatif lezyonlarda (kompleks fibroadenom, florid hiperplazi, sklerozan adenozis, intraduktal papillom) az oranda bir artış söz konusu iken, atipi içeren proliferatif lezyonlarda (atipik lobular hiperplazi, atipik duktal hiperplazi) ise bu risk daha yüksektir. Atipi multifokal olduğunda ise bu riskin 10 kat arttığı ifade edilmektedir (Koçak vd., 2011).

**Dens meme yapısı:** Bağımsız bir faktör olarak dens meme yapısı, meme kanseri artış riski ile ilişkilidir. Mamografik açıdan incelendiğinde dens meme yapısına sahip kadınlarda riskin 4-5 kat artmış olduğu düşünülür (Koçak vd., 2011).

### 1.2.3.Meme Karsinomu Histopatolojisi

Histolojik olarak meme karsinomları invaziv olmayan (in situ) ve invaziv karsinomlar olarak iki gruba ayrılmaktadır (Şekil 1.2.). In situ karsinomlarda malign epitelyal hücreler bazal membranla çevrili duktus ve asinuslar içinde sınırlıdır. İnvaziv karsinomda ise neoplastik hücreler bazal membranı aşarak stromaya yayılım göstermektedir. Bu sebeple invaziv karsinomlar, lenfatik ve kan damarlarını istila ederek bölgesel lenf düğümlerine ve uzak organlara metastaz yapabilme özelliğine sahiptir. Histopatolojik sınıflamada, tümör hücrelerinin sitolojik özellikleri yanı sıra oluşturdukları yapısal motifler de göz önüne alınmaktadır. Günümüzde meme karsinomlarının histolojik sınıflamasında en çok kullanılan yöntem, WHO tarafından önerilen sınıflamadır (İlvan, 2006) (Tablo. 1.2.).



**Şekil 1.2.** İn situ ve invaziv kanser hücrelerinin normal hücrelerden histopatolojik farklılığı

**Tablo 1.2.** İn situ ve invaziv karsinomlar

| 1. İn situ karsinom  |  |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"><li>• İn situ duktal karsinom (spesifik olmayan tip)</li><li>• İn situ lobuler karsinom</li></ul>  |  |
| 2. İnvaziv karsinom  |  |
| <ul style="list-style-type: none"><li>• İnvaziv duktal karsinom</li><li>• İnvaziv lobuler karsinom</li><li>• Tübüler karsinom</li><li>• İnvaziv kribriform karsinom</li><li>• Medüller karsinom</li><li>• Müsinöz (kolloidal) karsinom</li><li>• İnvaziv papiller karsinom</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>• İnvaziv mikropapiller karsinom</li><li>• Apokrin karsinom</li><li>• Sekretuar (juvenil) karsinom</li><li>• Adenoid kistik karsinom</li><li>• Metaplastik karsinom</li><li>• Nöroendokrin karsinom</li><li>• İnflamatuar karsinom</li></ul> |

#### 1.2.4. Meme Kanserinde Evreleme

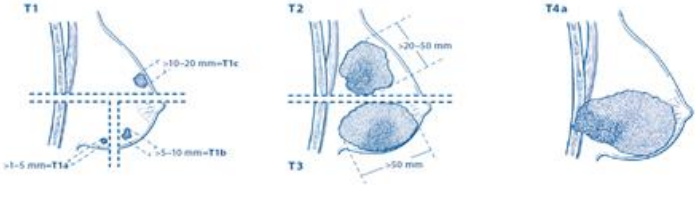
Tümör evreleme sistemi, kişinin kanserinin yayılım ve ciddiyeti hakkında belli standartlara göre bilgi edinilmesini sağlayan bir sistemdir (Ferahman, 2006). Klinik olarak en kullanışlı evreleme sistemi Amerika Kanser Komitesi (AJCC) ve Uluslararası Kanser Kontrol Örgütü (UICC) tarafından birlikte geliştirilen Tümör, Nod, Metastaz (TNM) sistemidir (Tablo 1.3.) (Ergüney, 2013). TNM Evreleme Sistemi'nde tümörleri sınıflandırmada baz alınanlar; tümör boyutu (T), aksiller lenf nodlarına yayılım (N) ile uzak bölgelere yayılımdır (M). Daha önceden tanımlanan kriterlere göre bu üç özellik belirlenerek tümörün TNM Evresi hesaplanır. Tümör evresi meme kanserli hastalar için tedaviye yön veren önemli prognostik faktörlerden biridir (Ferahman, 2006).

Birbirine benzer prognoza sahip hastaların tedavilerini listeleme ve analiz için, T, N, M anatomik evre/prognostik grupları olarak gruplanarak evre grupları oluşturulmaktadır. Gruplar kanserin artan şiddetine göre I'den IV'e kadar Romen rakamları ile derecelendirilmişlerdir. Evre 0, metastatik potansiyeli olmayan karsinoma in situ'yu tanımlamak için kullanılır. Evre 0 hemen her zaman patolojik inceleme ile saptanmaktadır. Evre 1 genellikle küçük veya daha az derin invaziv,



negatif lenf nodu ile karakterize kanseri tanımlarken, Evre 2-3 artan tümör veya nodal yayılımı, evre 4 ise tanı anında metastaz (M1) olan hastaları tanımlamaktadır (Ergüney, 2013).

**Tablo 1.3.** AJCC'nin meme kanseri için yayınladığı TNM sınıflaması

| <b>Primer Tümör (T)</b>  |  |
|--|--|
| Tx   | Primer tümörü değerlendirilemeyen  |
| T0   | Primer tümöre ait kanıt yok  |
| Tis  | Karsinoma in situ  |
| T1 (T1mi, T1a, T1b, T1c),<br>T2, T3, T4(T4a, T4b, T4c,<br>T4d) | Artan boyut ve/veya primer tümörün lokal yayılımı<br>  |
| <b>Bölgesel Lenf Nodları (N)</b>                               |  |
| NX   | Bölgesel lenf nodu değerlendirilemeyen   |
| N0   | Lenf nodu tutulumu yok   |
| N1   | Artan sayıda veya bölgesel lenf nodu tutulumunun durumu  |
| N2 (N2a, N2b)  | Artan sayıda veya bölgesel lenf nodu tutulumunun durumu ve metastaz  |
| N3(N3a, N3b, N3c)  |  |
| <b>Uzak Metastaz (M)</b>                                       |  |
| M0   | Uzak metastaz yok  |
| cM0(i+)  | Uzak metastaz kanıtı yok, fakat metastaza ait semptom ve bulgusu olmayan hastanın kan dolaşımında, kemik iliğinde veya diğer bölgesel olmayan lenf nodlarında 0.2 mm daha büyük olmayan tümör hücreleri var. |
| M1   | Uzak metastaz var  |

### 1.2.5.Meme Kanserinde Prognostik Faktörler

Meme kanserinde tanı sonrası seyreden hastalık süreci hastalar arasında farklılıklar göstermektedir. Aynı tümör çapına sahip takipteki hastaların bazılarında tümör nüksü çok kısa sürede ortaya çıkabilirken, diğerleri sağlıklı olarak yaşamaya devam etmektedir. Bu sebepten ötürü, meme kanseri olan hastalardaki klinik ve biyolojik davranış farklılıklarını ve hastalığın hızla gelişebileceği yüksek risk

gruplarını belirlemek için prognostik faktörler kullanılmaktadır (Evcimik, 2008). Bunlardan bazıları:

**Lenf nodu durumu:** Günümüzde meme kanserinin prognozunu belirleyen en önemli faktörlerden biri aksiller lenf gangliyonlarının metastaz içerip içermediği ve şayet içeriyorsa tutulan lenf gangliyonlarının sayısıdır. Kişinin aksiller lenf gangliyonlarında metastazı yoksa 10 yıl boyunca hastaliksız yaşam süresi %70-80 arasındadır. Bu oran aksillası pozitif olan hastalar için %30'lara kadar düşer (Evcimik, 2008).

**Tümör Boyutu:** Tümör çapı nüks riski olan ve nod negatif meme kanserli hastalarda, adjuvan tedavi seçimi için önemli ve güvenilir bir prognostik faktördür. Tümör çapının ölçümlerinde klinik, radyolojik ve patolojik açıdan büyük çelişkiler saptanabilmektedir. Bu nedenle patolojik ölçümlerin gerçek tümör çapını daha iyi yansıttığı ve esas alınması gerektiği vurgulanmıştır (Evcimik, 2008).

**Hormon reseptör (HR) durumu:** Meme kanserlerinde, östrojen ve progesteron hormonları mutajenik olarak etki yapmaktadır. Bu etki, östrojen hormonunun reseptörleri tarafından düzenlenmektedir. Yapılan kültür çalışmalarında da bu fonksiyonel östrojen reseptörünün, meme kanser hücrelerindeki mutajenik etkisi kanıtlanmıştır (Evcimik, 2008).

**Tümör Evresi:** Meme kanserinde evreleme, tedavi modelinin seçilmesi ve tümörün biyolojik davranışının belirlenmesinde en önemli prognostik faktörlerden biridir (Özkan, 2010).

**HER-2/neu reseptör durumu (c-ErbB-2):** Genellikle sağkalımdaki azalma ile cHER-2/neu (c-erbB-2) pozitifliği arasında bir ilişki mevcuttur. c-erbB-2'nin amplifikasyonu veya ifadesinin agresif meme kanserlerinde daha sık görüldüğü belirtilmektedir. C-erbB-2 ifadesinin lokal nüks, hastaliksız sağkalım, aksiller lenf nodu tutulumu ile ilişkili olduğu ve meme kanserlerinde negatif bağımsız bir prognostik faktör olabileceğini belirten çalışmalar da mevcuttur (Pekmez, 2010).

**Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR):** VEGF, özellikle vasküler endotelyum üzerinde anjiyogenik, mitojenik ve vasküler geçirgenliği artırıcı etkilere sahip, homodimerik yapıda olan bir glikoproteindir. VEGF düzeyi ve hastalığın prognozunu belirlemesiyle ilgili yapılan birçok çalışmada, hastalık derecesini değerlendirme ve adjuvan terapiye ihtiyaç duyan hastaları seçmek için VEGF ölçümünün anlamlı olabileceği ortaya konulurken, bazı araştırmalar da ise anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Aktaş, 2010).

**S-fazı:** Meme kanserinde DNA sentez (S) fazındaki hücrelerin oranı önemli bir prognostik faktör olup, özellikle aksillası negatif olan hastalarda tedavi kararı için tümör proliferasyon hızının ölçülmesine gereksinim vardır (Ünal vd., 2006).

**p53, DNA ploidi, Mitotik indeks:** İnsan meme kanseri örneklerinin aşırı p53 ifadesi, anöploidi ve yüksek mitotik indeksle pozitif bir ilişkisi olduğunu göstermekte ve yüksek tümör dereceleri için ise kötü bir prognostik faktördür (Pekmez, 2010).

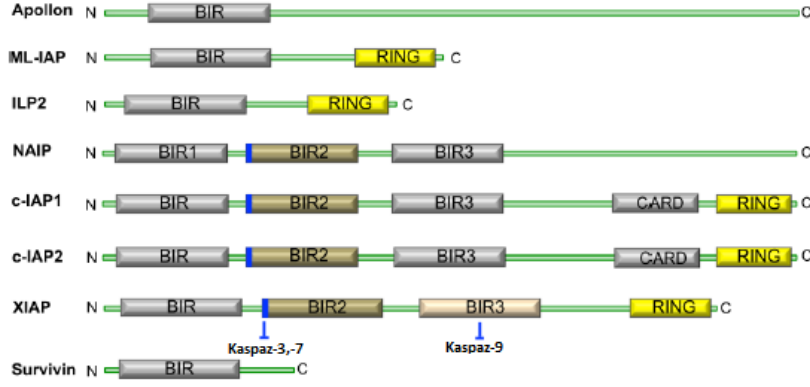
**Kemik iliği mikrometastazı (KİM):** Günümüze dek yapılan pek çok geniş kapsamlı klinik çalışmalarında meme kanserinde kemik iliği mikro metastazlarının kötü prognostik faktör olduğu ortaya konmuştur (Cabıoğlu vd., 2008). Braun ve arkadaşları tarafından yayınlanmış ve 4703 hastayı kapsayan metaanalizde, operabl (ameliyat edilebilir) evre I/II/III meme kanserinde immünohistokimyasal yöntemle saptanan kemik iliği metastazı oranı %30,6 olarak bildirilmiştir (Braun vd., 2005).

**Dolaşımdaki tümör hücreleri (DTH):** Kan dolaşımına katılan tümör hücreleri (DHT) primer tümörden ya da metastaz yoluyla kan dolaşımına katılan hücrelerdir ve sıvı biyopsi olarak tanımlanabilmektedir. Bu yöntemin invaziv olmayan tümör karakterizasyonu belirlenmesine ve tedavi seçeneğine imkan sağladığı belirtilmektedir (Nursal, 2015).

**Peritümöral lenfatik invazyon:** Aksillada bulunan lenf gangliyonlarındaki malign hücre metastazında tümöre ait bazı özelliklerin önemli olduğu belirtilmektedir. Bunlar tümörün histolojik evresi, peritümöral vasküler invazyon ile primer tümörün çapıdır ve histolojik evre arttıkça aksillada metastatik lenf nodunun artacağı belirtilmektedir (Koyuncu, 2009).

### 1.3. Meme Kanserinde Survivin Geninin Rolü

Apoptoz domain inhibitörü (IAP) tekrarı olarak da bilinen, Baculovirus inhibitörü, veya BIR (Baculoviral IAP repeat); apoptozis, sitokin üretimi ve kromozom segregasyonu rolleriyle; proteinlerde bulunan yapısal motiftir. Apoptoz protein inhibitörü (IAPler) ya da BIR içeren proteinler (BIRPs ya da BIRCs) olarak bilinen proteinler BIRC1 (NAIP), BIRC2 (cIAP1), BIRC3 (cIAP2), BIRC4 (XIAP), BIRC5 (survivin) ve BIRC6'dır (Şekil 1.3.).



**Şekil 1.3.** Memelilerde Apoptoz İnhibitör Proteinleri (IAP).

BIR domeinleri çinko parmak domain ailesine aittir ve karakteristik olarak 3 korunmuş sistein ve bir korunmuş histidin de dahil olmak üzere sabit bir amino asit rezidü dizisine sahiptir. Bunlar tipik olarak 4-5 alfa sarmallarından oluşur ve üç iplikçikli bir beta tabakası vardır (Silke vd., 2001).

Yakın zaman önce bulunmuş olup BIRC5 olarak da bilinen Survivin geni, apoptozu inhibe edici (İnhibitör of Apoptozis Proteins - IAPs) proteinlerden biridir. 17q25 kromozomunda bulunan survivin geni, 3 intron ve 4 ekzondan meydana gelir ve 142 aminoasitlik proteini kodlar. Bu anti-apoptotik protein, başlatıcı (kaspaz-9) ve efektör (kaspaz-3 ve kaspaz-7) kaspazları inhibe ederek apoptozu inhibe ederler. Survivin geninin yapısal olarak sadece BIR (Bakulovirüs IAP tekrarı) domaini içermesi, RING(Really Interesting New Gene) ve CARD (kaspaz toplama alanı) domainin içermemesi sebebiyle de diğer anti-apoptotik genlere göre farklılık arz eder. Anti-apoptotik özeliğinin yanı sıra survivin proteini, hücre çoğalımı ve anjiyogenezde rol oynar. Hücre siklusunun G2/M fazında ifade edilerek hücrenin bölünmesini sağlar. Survivin geninin en önemli özelliklerinden bir diğeri de kanser dokusunda normal dokuya göre çok daha fazla oranda ifade edilmesidir. Genellikle embriyonik doku ve fetal dokuda aşırı ifade edilen survivin, normal dokuda tayin edilemeyecek kadar az ifade edilir (Eröz vd., 2015).

Survivin gen ifadesinin regülasyonu; transkripsiyon, translasyon gibi çeşitli aşamalarda kontrol edilmektedir. Survivin geninin promotör bölgesindeki tek nükleotitik polimorfizmleri (SNPs), survivin gen ifadesini ve kontrolünü etkiler. Bugüne kadar survivin geninin promotör bölgesinde beş polimorfizm tanımlanmış olup, bunlar; -1547 A/G, -644 C/T, -625 C/G, -241 C/T ve -31 G/C polimorfizmleridir. Bu polimorfizmler arasında CDE/CHR represör elementi

bölgesinde yer alan -31 G/C polimorfizminin survivin gen ifadesi hem protein hemde mRNA seviyesinde arttırdığı bulunmuştur (Eröz vd., 2015).

Bunlara ek olarak, Survivin apoptotik uyarıcıyla indüklenen interlökin (IL-3), Fas (CD95), Bax, tümör nekroz faktörü, kaspazlar ve antikanser ilaçlarının etkisini de yok eder. Survivin sadece bir adet BIR domaini ile -COOH ucu uzatılmış alfa-heliks sarmalı içerir. Survivin proteininin kaspaz aktivitesini inhibe edici fonksiyonundan ötürü apoptozun negatif düzenlenmesine veya programlanmış hücre ölümüne yol açar (Yamak vd., 2012).

### **1.3.1. Apoptoz İnhibitörü Olarak Survivin**

Apoptoz biyokimyasal ve genetik olarak kontrol edilen programlanmış hücre ölümüdür (Kaya vd., 2012). Apoptoz, efektör kaspazların aktivasyonu ile sonuçlanan, hem ekstrinsik (ölüm reseptörleri) hem de intrinsik (mitokondriyal) yollarla başlatılabilen aktif bir süreçtir (Erbayraktar vd., 2011).

Apoptotik yolda etkili olan proteinler kaspazlar olarak adlandırılır ve kaspazlar, prokaspazlar olarak sentezlendikten sonra belirli bir kısımları kesilip uzaklaştırılarak aktif kaspaz haline alırlar. Bu apoptoz yolağında, bir protein tarafından uyarılan Kaspaz-9, etkili kaspaz olan Kaspaz-3'ün belirli kısımlarını keser ve aktifleşmesini sağlar. Aktifleşen Kaspaz-3 sitozolde bulunan ICAD (İnhibitor of caspase-activated deoxyribonuclease)'ı inaktifleştirir ve inaktifleşen ICAD, normal haldeyken bağlı olduğu CAD (caspase-activated deoxyribonuclease)'dan ayrılır. Kalan CAD ise nukleusa girerek kromatin yoğunlaşması ve DNA kırıklarının oluşmasına neden olur böylece hücre apoptoza gider (Kaya vd., 2012).

Bcl-2 ve IAP, apoptozun düzenlenmesinden sorumlu iki gen ailesidir ve günümüze kadar IAP'nin sekiz farklı uyesi tanımlanmıştır. Bunlar; NAIP, XIAP, c-IAP1, c-IAP2, Ts-XIAP, ML-IAP, Apollon ve Survivin'dir (Eröz vd., 2015).

Survivin kaspaz-3, kaspaz-7 ve kaspaz-9 fonksiyonuna müdahale ederek doğrudan veya dolaylı olarak apoptozu inhibe eder. Apoptoz üzerindeki survivin etkisi Hepatit B etkileşen protein (HBXIP), Smac / diablo, AIF yolağı, HSP90, c-IAP-1 HER-2 / EGF leptin / Stat3 ve progesteron / P53'ün etkileşim ve işbirliği ile kaspaz-bağımsız bir biçimde de olabilir (Lv vd., 2010).

SMAC/Diablo mekanizması, mitokondriden apoptoz sırasında Sitokrom-c ile birlikte salınan proapoptotik bir molekülün inaktivasyonudur. SMAC/Diablo, İAP'lere bağlanarak onların kaspazları baskılayıcı etkisini engeller. Teorik olarak Survivin SMAC/Diablo'ya bağlanır ve SMAC/Diablo ile bağlanan Survivin diğer İAP'leri bu proteinin inhibitör etkisinden korur ve böylelikle kaspaz süpresyonu devam ederek apoptoz bloke olur (Oto, 2005).

Survivin'nin p53 ilişkili apoptozda önemli rol oynadığına ve p53'ün direkt ve indirekt yoldan survivin transkripsiyonunu bloke ettiğine dair kanıtlar vardır. Tersine de survivin aşırı ifadesi p53 bağımlı apoptozu inhibe eder (Oto, 2005).

Survivin'in kaspaz 9 ile bağlanması için theronin-34 rezidülerinden fosforile olması gerekmektedir ve bunu sağlayan da p34cdc2-cyclin B1 olarak adlandırılan kinazdır. Survivin'in apoptozu *in vivo* ve *in vitro* koşullarda bloke ettiğine dair 3 farklı deneysel kanıt vardır. İlki Rekombinant olarak Survivin ifade eden hücre dizileri apoptotik sinyallere dirençlidir, ikincisi transgenik hayvanlar kullanılarak Survivin'in anti-apoptotik etkisi *in vivo* koşullarda gösterilmiştir. Transgenik olarak epidermal keratinositleri de survivin ifade ettirilen farelerde, bu hücrelerin ultraviyole-B tarafından indüklenen apoptoz dirençli oldukları gösterilmiştir. Son olarak survivin yolağının inhibisyonu spontan kaspaz aktivasyonu ve apoptozla sonuçlanmaktadır. Bu durum survivin dominant negatif mutantlarda ya da survivin anti sens oligonükleotidler kullanılarak *in vitro* ve hayvan deneylerinde gösterilmiştir (Oto, 2005).

### **1.3.2.Mitozda Promotör olarak Survivin**

Survivin aynı zamanda mikrotübül dinamiklerinin düzenlenmesinde de önemli rol oynar ve promotör bölgesindeki polimorfizmleri genin transkripsiyonuna etki ettiği için gen aktivitesini ve ifadesini değiştirerek meme kanserine yatkınlık sağlayabilir (Aynacı vd., 2012).

Survivin hücre döngüsünde G2/M fazında çok miktarda ifade olur ve G1 fazında hızlı bir regülasyon sergiler. Bu durum transkripsiyonel basamakta kontrol edilerek hücre döngüsüne bağlı elementler ve hücre döngüsü homoloji bölgeleri survivin promotörünün proksimal bölgesinde lokalize olur (Aynacı vd., 2012).

Tüm bu spontan gelişen apoptoza ek, kanser hücrelerinde Survivin'in baskılanması normalden fazla sayıda sentromer, sitokinezin başarılması, multipolar mitotik ipliklerin ve çok sayıda hücrelerin oluşumu ile karakterize olan anormal mitozun gerçekleşmesine neden olur (Eröz vd., 2015).

Survivin'in gelişimsel olarak mitozdaki rolü önemli bir yer tutmaktadır. Aslında, Survivin'in IAP proteinlerden farklı olarak, sitokinez safhasında olmayıp, hücre bölünmesinin daha erken safhalarında rol aldığı gösterilmiştir. Survivin'in mikrotübüllerde baskın bir yer tutmasına bağlı olarak, antikolların Survivin'i hedeflenmesi, iğ ipliklerinin oluşumu ve anormal metafaz gelişimi ile hayati bozukluklar meydana gelmiştir. Bu kardeş kromatidlerin erken ayrılması ve mikrotubul inhibitörlerine cevapta iğ denetim noktası aktivasyonunda düzenlenmesinde bozukluğa sebep olur. İnterfaz boyunca Survivin epigenetik olarak ubiquitinasyona uğrayarak parçalanıp proteozoma bağlı yıkılır ve bu ifade hücre siklusunun periyodik olarak düzenlenmesine de katkı sağlar (Eröz vd., 2015).

Mevcut kanıtlar survivin'in mitotik progresyonu düzenlenmesinde de rol oynadığını göstermektedir. Bazı kanser hücrelerinde survivin inhibisyonu apoptoz üzerinde ölçülebilir bir etkisi olmadan, kromozom segresyonu, sitokinez ve sonuç olarak hücre bölünmesinde defektler oluşturur(34). Survivin'in mitotik iğ tubulleri ile olan etkileşimi, kaspaz-3 aktivitesi artışına ve buna bağlı olarak hızlandırılmış apoptotik hücre olumune de yol açar (Eröz vd., 2015).

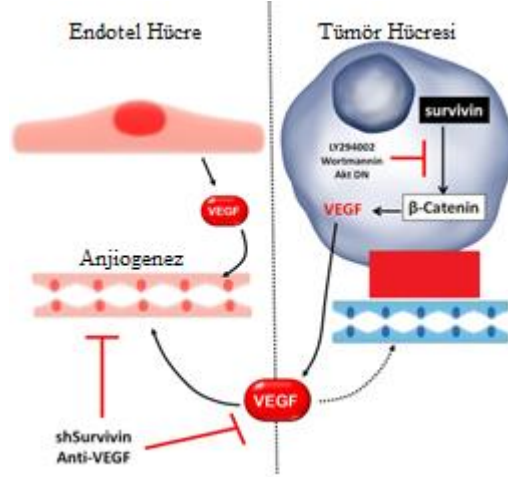
### **1.3.3. Anjiyogenezde Survivin**

Apoptoz ve mitozda katılımına ek olarak, survivin'in anjiyogenezde de rol oynadığını destekleyen kanıtlar artmaktadır. Survivin-spesifik siRNA, antisens oligonükleotit (ASODN) veya fosforilasyon defektli survivin formu gen kodlanması ile endotel hücrelerinin transfeksiyonu; tümör anjiyogenezinde vasküler regresyon ile sonuçlanır. Olumsuz olarak, survivin'in ifadesi (mRNA ve proteinin her ikisi de), VEGF ve bFGF gibi anjiyojenik faktörlere maruz kaldıktan sonra kültürlenmiş vasküler endotel hücrelerinde artmıştır (Lv vd., 2010).

Tümörler çok sayıda anjiyogenik faktör (Fibroblast büyüme faktörü-bFGF ve vasküler endotel büyüme faktörü-VEGF gibi) salgılar ve bunların çoğu komşu küçük damarlara difüze olarak endotel hücreleri üzerindeki reseptörlerine bağlanarak yeni

damar oluşumu ile sonuçlanacak olaylar dizisini aktive ederler (Şekil 1.4.) (Baydın vd., 2013).

Survivin'i anjiyojeneze teşvik eden mekanizma, endotel hücrelerinin canlılığı ve sitoproteksiyonu için gerekli olabilecek mikrotübül yapı bütünlüğünü koruma ve endotel hücrelerde apoptozu inhibe etme kabiliyetine atfedilebilir (Lv vd., 2010).



**Şekil-1.4**Anjiyojenezde Survivin / VEGF bağlantısı. Survivini aşırı ifade eden tümör hücreleri β-katenin bağımlı bir şekilde VEGF sentez / salınımını indükler. Serbest VEGF çoğu komşu küçük damarlara difüze olarak endotel hücreleri üzerindeki reseptörlerine bağlanır ve anjiyojeneze teşvik eder. Alternatif olarak, çok az endotel hücreleri ile tümörlerde survivin ile indüklenen VEGF sentez / salınım, vaskülojenik-taklitçiliğe teşvik edebilir. <http://molecularcancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12943-015-0467-1>

### 1.3.4.Survivin Polimorfizmleri

Survivin, 4,7 kb uzunluğunda olan ve 142 aminoasitlik 16,5kDa ağırlığında proteini kodlayan (Eröz vd., 2015) IAP gen ailesinin en küçük üyesidir (Altieri, 2003). Yapısal olarak, tek bir BIR domaini (Altieri, 2003) ve uzamış –COOH terminal alfa-helix sarmal bölgesi içerir (Kaya, 2008). Kromozom 17q25 üzerinde bulunan survivin geni, insanlarda 3 intron ve 4 ekzondan meydana gelir (Eröz vd., 2015). Yabani tip survivinin (142 amino asit) yanı sıra; alternatif bir ekson 2 ilavesiyle (Survivin-2B, 165 amino asit) ya da ekson 3 uzaklaştırılmasıyla (Survivin-ΔEx -3, 137 amino asit) meydana gelen izoformlarıyla üç alternatif transkript meydana getirir (Altieri, 2003).

İnsan genomunda en çok bulunan genetik çeşitlilik tipi, tek nükleotit polimorfizmleridir (SNP) (Ekmekçi vd., 2008). Birden fazla varyantı (alel) ile, bir



insan popülasyonunda yüzde 1'den büyük bir frekansa sahip olan DNA polimorfizmlerinin, insan genomu boyunca ortalama her 1000 baz çiftinin birinde olduğu tahmin edilmektedir. Genomik DNA'da polimorfizm insidansı; genetik değişikliklere duyarlılık ve kanser hastalarında tümör ilerlemesi riskine bağlı olarak farklı irksal gruplar arasında önemli ölçüde değişebilir. Pek çok polimorfizm fonksiyonel olarak nötr olmasına rağmen, bazıları gen ifadesinin düzenlenmesini veya kodlanmış proteinin fonksiyonunu etkileyebilir (Jaiswal vd., 2015).

Survivin ifadesi ve çeşitli BIRC5 promotör tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) arasındaki ilişki son zamanlarda çeşitli kanser türlerinde incelenmiştir. BIRC5 promotör SNP'leri, protein ifade seviyelerini değiştirebilir, böylece hastalığın gelişimini ve ilerleyişini değiştirebilir (Hmelja vd., 2011).

Bunlardan en çok bilinen ve de literatürde en fazla çalışması bulunan CDE/CHR reseptör bağlayıcı bölgede lokalize olan -31G/C gen polimorfizmidir. Survivin geninin promotör bölgesindeki bu mutasyon, hücre döngüsünden bağımsız olarak genin transkripsiyonu ve bunun sonucunda da Survivin'in aşırı ifadesi görülür (Aynacı vd., 2012).

Survivin gen ifadesinin düzenlenmesi transkripsiyon ve translasyon gibi çeşitli aşamalarla kontrol edilmekte ve Survivin geninin promotör bölgesinde yer alan polimorfizmler, Survivin gen ifadesini ve kontrolünü etkilemektedir (Eröz vd., 2015).

Birçok çalışma son zamanlarda; çeşitli tümörlere yatkınlık ile ilgili survivin geninde sırasıyla exon4 ve 3' UTR'de yer bulunan; 9194A / G (rs2071214) ve 9809C / T (rs1042489) gibi promotör bölgesinde yer alan -31G / C (rs9904341), -625G/C (rs8073069) ve -241C / T (rs17878467) de dahil çeşitli SNP'lerin potansiyel ilişkisini araştırmaktadır (Wang vd., 2012).

Jaiswal ve arkadaşlarının yaptığı metaanaliz çalışmalarında; Kuzey Hindistan'da hastane orjinli yapılan bir çalışmada, survivin -31 G/C'de CC genotipi sahip bireyler mesane kanseri için yüksek risk taşıdığını göstermiştir (Jaiswal vd., 2015).

Gazouli ve arkadaşlarının yaptığı kolorektal kanseri ile ilgili bir çalışmada survivin -31C aleli ve CC genotip frekanslarının sağlıklı bireylere göre kolorektal kanserli hastalarda anlamlı olarak daha yüksek olduğunu gösterilmiştir. Survivin -31G/C varyant CC genotipi, -31G/G ve -31G/C genotipi ile olgulara kıyasla 1,6 kat daha yüksek mRNA düzeylerini ifade edilmiştir (Gazouli vd., 2009).

Weng ve arkadaşlarının oral kanserlerle ilgili Tayvan popülasyonunda yaptığı bir çalışmada; yabancı tip genotipe kıyasla, -31 GG, 9194 GG, ve 9809 TT homozigot survivin gen varyantları ile oral kanser arasında anlamlı olarak yüksek bir ilişki rapor edilmiştir (Weng vd., 2012).

### **1.3.5. Survivin ve Kanser**

#### **1.3.5.1. Kanser Moleküler Tanısında Survivin'in Önemi**

Retrospektif çalışmalarda, Survivin geni ifadesi olan hastalarda, hastalığın ilerlemesinin olumsuz belirteçleri, artmış tekrarlanma hızı ve tedaviye artmış direnç ile bağlantılı olarak kısalmış yaşam süresi gösterilmiştir. Yapılan çalışmalardan, Survivin ifadesinin bcl-2 veya düşük apoptotik indeksle ilişkili olduğu bilinmektedir (Aslan vd., 2007). Bundan dolayı, Survivin proteinin immuno histokimyasal veya RT-PCR aracılığıyla tümör örneklerinde saptanması, agresif davranış sergileyebilecek olan hastalığın erken düzeyde bir göstergesi olabileceğinden, daha ayrıntılı takip protokolleri ya da alternatif tedavi rejimlerinin geliştirilmesinde olanak sağlayabilir.

Kanser tanısında Survivin kullanımı için başka bir hipotez de, hastalarda Survivin'in ifadesine karşı potansiyel immün yanıt değerlendirmesini içerir. Tümörlerde seçici bir şekilde ifade edilmesinden dolayı, kanser hastaları Survivin'i yabancı bir protein gibi tanıyarak immün yanıt başlatabilir. Survivin'e karşı potansiyel bir immün cevap olarak oluşturulmuş olan antikörlerin varlığı, gastrointestinal ve akciğer kanserli hastalarda gösterilmesine rağmen, sağlıklı gönüllü bireylerde bu cevap gösterilmemiş olması kanserin moleküler tanısında survivin'in önemini destekler niteliktedir (Eröz vd., 2015).

Survivin'in aşırı ifade edilmesi, mitoz aracılığıyla hücre çoğalmasını zorlamak için G2/M fazındaki kontrol noktasının üstesinden gelebilecek kadar onkogenik potansiyele sahiptir ve neoplastik klonların gelişmesini başlatabilir (Hui vd., 2013). Bazı çalışmalar, Survivin'in aşırı ifadesinin karaciğer, kolorektal, meme, akciğer, özofagus ve mide kanserlerinde olduğu gibi daha kötü klinik durumlarla da ilişkili olduğu bildirilmiştir.

Survivin geninin belirgin olarak akciğer, mide, meme, yemek borusu, yumuşak doku, kolon ve rektum kanserlerini de içeren çeşitli tümörlerde ifadesi

tespit edilmiştir. Survivin ifadesi çeşitli solid tümörlerde ve neoplazilerde çalışılmıştır. Bu Survivin'in malignant tümör çalışmalarının çoğunda prognostik bir belirteç olarak gelecekteki kanser tedavisinde umut verici bir gen olduğu bulunmuştur (Eröz vd., 2015).

### **1.3.5.2. Survivin'in Kanserdeki Ayırıcı İfadesi**

Survivin'in en önemli özelliklerinden biri de kanserdeki ayırt edici ifadesidir. Erişkin normal dokulardan timusta, düşük seviyelerde CD34+kemik iliğinden üretilen kök hücrelerde ve kolon bazal epitelinde Survivin ifadesi rapor edilmiştir. Genom kapsamlı araştırmalarda, Survivin kolon, akciğer, beyin, meme kanserlerinde ifade olan fakat aynı organların normal dokularında belirlenemeyen veya çok az miktarlarda bulunan, en üst dördüncü "transkriptom" olarak tanımlanmıştır (Eröz vd., 2015).

Ayrıca son zamanlarda Survivin gen ifadesinin *in vitro* ve *in vivo* olarak gösterilen çalışmalarda elde edilen tüm veriler Survivin gen ifadesinin kanserde genel anlamda düzenlenmesinin bozulduğunu, sadece mitozda değil, tüm hücre döngüsü fazlarında da aynı şekilde arttığını öne sürmektedir (Eröz vd., 2015).

Aynı zamanda, son dönemlerde Survivin p53 tarafından baskılanabilen hedef genlerden bir tanesi olarak tarif edilmiştir. Survivin gen transkripsiyonunun p53'ü baskıladığı direkt veya indirekt mekanizması hesaba katılmadan, Survivin ifadesi kuvvetle p53-bağımlı apoptozu etkisiz hale getirdiği bilinmektedir. Kanserde en yaygın genetik anormalliklerden bir tanesi p53 kaybı olup, bu çalışmalar farklı birçok tümör çeşitinde, Survivin'in aşırı ifadesinin nedenini açıklamada potansiyel bir hipotez oluştururlar (Eröz vd., 2015).

### **1.3.5.3. Meme Kanseri Tanı ve Tespitinde Survivin'in Rolü**

Survivin'in selektif olarak malign dokularda ifade edilmesi ve apoptozu inhibe etmesi, hücre bölünmesine teşvik etmesi ve anjiyogenez geliştirmesi, vücut sıvılarında tanı ve algılama için ideal bir tümör belirteci olarak işe yarayabilir (Lv vd., 2010). Böyle bir çalışma Yie ve arkadaşları tarafından periferik kanda meme kanseri hücrelerindeki survivin ifadesi RT-PCR ELISA tekniği ile gerçekleştirildi. Alınan periferik kan numunelerinde, 67 meme kanseri hastasının: 34 (% 50.7)'ünün kanser

hücrelerinde survivin ifadesi saptanmış ancak sağlıklı kadın kontrollerde saptanmamıştır (Yie vd., 2006).

Meme kanseri hücrelerindeki survivin ifadesinin varlığının, damar infiltrasyonu, histolojik grade, tümör boyutu, lenf nodu tutulumu, ER / PR durumu, Her-2 ifadesini ve hastalığın klinik aşamaları gibi çeşitli klinikopatolojik parametrelerle anlamlı bir ilişkisi olduğu bulunmuştur.

Survivin mRNA ifade eden kanser hücrelerinin metastaz ve meme kanseri tekrarını tahmin etmek için Chen ve arkadaşları tarafından, bir membran array tekniği kullanılarak kombine bir şekilde gen ekspresyonu incelenmiştir. Ve sonuç olarak Survivin, meme kanseri Tayvanlı kadınların kanında dolaşan tümör hücrelerde tespit edilen dört belirteç genden biri olarak gösterilmiştir. Bu sonuçlar, Survivin de dahil olmak üzere tümör boyutu, histolojik derecesi, lenf nodu metastazı ve TNM aşamasında bu genlerin pozitif tespiti ile anlamlı bir korelasyon olduğunu ortaya koymaktadır (Chen vd., 2006). Güney N meme kanseri ve bilinen prognostik parametreler ve tedavi ile ilişkileri olan hastalarda survivin serum ve idrar seviyelerini araştırmak için bir çalışma yürütmüştür. Bu sonuçlar, serum survivin düzeyi meme kanseri hastalarının lenf düğümlerinde metastaz tespit etmek için duyarlı bir belirteç olabileceğini düşündürmektedir (Güney vd., 2006).

Daha yakın zamanlarda, Çin'den bir araştırma, survivin veya diğer ilişkili genlerin tespiti, meme kanseri için önemli bir tanı testi ve distantt metastazlarının ortaya çıkmadan önce agresif tümör davranışının erken biyobelirteçi olarak hizmet edebileceği tartışılmıştır. Çoklu belirteç deneyleri, anlamlı tek belirteç testleri ile karşılaştırıldığında; heterojen tümör hücrelerinin tespit duyarlılığını artırabilir. Daha fazla klinik çalışmalar, daha çok ikna edici kanıtlar sağlamak için gereklidir (Lv vd., 2010).

#### **1.3.5.4.Survivin ve Meme Kanseri Prognozu**

Günümüzde, Survivin proteinin ifade düzeyinin tespit edilmesi çeşitli insan tümörlerinin tanısında yeni bir prognostik faktor olarak kullanılmaktadır. Tümörlerde Survivin geninin yüksek miktarlardaki ifadesi kötü prognozuyla ilişkili bulunmuştur. Apoptotik mekanizmalardaki bozukluklarda, kemoterapi ve radyasyona dirençte önemli bir rol oynamaktadır. Bu nedenle, Survivin'in yetişkin dokularındaki ağırlıklı olarak tümöre özgü eksprese edilmesi sebebiyle tanısız bir belirteç olabilmesi ve

potansiyel ilaç hedefi olarak kullanılabilmesi için büyük bir ilgi vardır (Eröz vd., 2015).

Meme kanseri ile ilişkili başlıca prognostik faktörler; lenf nodu tutulumu, tümör boyutu, histolojik derece ve hormon reseptör durumudur. Bununla birlikte, aynı evredeki tümörler farklı bir şekilde davranabilir ve prognozu farklılık gösterebilir. Nüksetme olasılığını önceden tahmin etme ve tedaviden fayda görebilecek hastaları belirleyecek biyomarkerları bulmak oldukça önemlidir. Böylelikle, düşük riskli hastalar gereksiz tedaviden kurtulabilir, yan etkilerden kaçınılır ve tedavi maliyetleri azaltılabilir. Ayrıca, yüksek riskli hastalar kısa sürede tespit edilebilir ve daha agresif tedavi uygulanabilir (Lv vd., 2010).

Son zamanlarda, insan meme kanserlerinin yüksek survivin ekspresyonu RT-PZR teniği kullanılarak saptanmıştır. Pek çok çalışma, prognostik bir molekül olarak survivin olasılığını değerlendirmek için gerçekleştirilmiştir. Örneğin, meme kanseri olan 275 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada, survivin mRNA genç hastaların (<50) dokularında ve yüksek dereceli kanser dokularında yüksek düzeyde eksprese edilmiştir.

Birçok çalışma, bazı kanser önleyici ilaçların survivin ekspresyonunu inhibe ederek işlev olabileceğini göstermiştir ve survivin aşırı ekspresyonunun adriamisin, sisplatin ve taksol de dahil olmak üzere çeşitli ilaçlara kemoterapi direnciyle ilişkili bulunmuştur. Benzer sonuçlar, meme kanserinin tedavisinde kullanılan prodıgiosin, flavopiridol, resveratrol, 3,3V-diindolylmethane ve Kalsiyum algılama(sensing) reseptörünün olası rolünü araştırıldığında da elde edilmiştir.

Ayrıca, hem PI-3K / Akt2 sinyal yolağı ve hem leptin / STAT3 yolağı aktivasyonunda meme kanseri hücrelerinde dosetaksele karşı dirençte rol oynamaktadır. Daha yakın zamanda, Lu ve diğerleri Her-2 aşırı ekspresyon mekanizmasında meme kanseri hücrelerinin taxole direnç kazanması survivinin upregülasyonu yoluyla olduğunu bulmuştur (Lv vd., 2010).

## 2.AMAÇ

Meme kanseri, tüm insanlarda akciğer kanserinden sonra ikinci sırada olup, gerek gelişmiş gerekse gelişmekte olan ülkelerin birçoğunda en sık görülen kadın kanseridir. Kadınlarda kansere bağlı ölüm nedenlerin başında gelmektedir (Özmen vd., 2009). Meme kanseri, demografik özellikler (cinsiyet, yaş, ırk gibi), reproduktif öykü (menarş yaşı, doğum yapma ve sayısı, menapoz yaşı, laktasyon, vb.), Ailesel/genetik faktörler (aile öyküsü, bilinen veya şüphe edilen BRCA1/2, p53, PTEN, vb.), çevresel faktörler (sigara ve alkol kullanımı, sosyoekonomik düzey, vb.) ve diğer faktörlerle de (kişisel meme kanseri öyküsü, atipik hiperplazi veya lobüler karsinoma in situ, dens meme yapısı, vb.) yüksek oranda ilişkilidir (Koçak vd., 2011).

Survivin (BIRC5), apoptozu düzenleyen önemli bir protein ailesi olan IAPs'de bulunan ilk inhibitörlerden biridir ve özellikle normal dokuya oranla kanser hücrelerinde belirgin bir şekilde artan ekspresyonu mevcuttur (Eröz vd., 2015). Survivin proteininin apoptozu inhibe edip, hücre proliferasyonunu artırarak tümör oluşumunu ve ilerlemesini sağladığı düşünülmektedir (Yamak vd., 2012). Survivin geni polimorfik bir gen dir ve dolayısıyla survivin geninde görülen polimorfizmlere bağlı olarak kansere yatkınlık bireysel farklılık gösterebilir.

Bu tez kapsamında, meme kanseri hastalarında ve sağlıklı bireylerde Survivin geni (rs9904341) -31 G/C polimorfizminin incelenmesi ve Türk popülasyonunda bu polimorfizmin meme kanserine yatkınlığı nasıl etkilediği ve meme kanserinin klinikopatolojik özelliklerine bir etkisinin olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 3.MATERYAL

### 3.1. Araştırmada Kullanılan Örnekler

Bu araştırmada kullanılan meme kanseri hastası ve kontrol grubuna ait DNA örnekleri İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsünden temin edilmiştir. Hastalara uygulanan anket ile hastaların cinsiyet, yaş, tümör evresi ve derecesi, metastaz, menopoz durumu, alkol ve sigara içimi ile ilgili bilgiler edinilmiştir. Bu araştırmaya, çalışma hakkında bilgilendirilmiş ve onayı alınmış 72'si hasta ve 74'ü kontrol olmak üzere toplam 146 kişi dahil edilmiştir.

### 3.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu için Gerekli Enzim ve Kimyasallar

- 10X MgCl<sub>2</sub>'süz Tampon: 25 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>  
750 mM Tris-HCl, (pH 8.8)  
% 0.1 Tween 20,  
(Fermentas, LİTVANYA)
- MgCl<sub>2</sub> : dH<sub>2</sub>O'da 25 mM  
(Fermentas, LİTVANYA)
- Deoksiribonükleotidler (dNTP): 10 mM dATP, dCTP, dGTP ve dTTP  
(Fermentas, LİTVANYA)
- Taq DNA Polimeraz : 5 U/ µL, 500 U- Rekombinant Taq DNA  
Polimeraz (Fermentas, LİTVANYA)

### 3.2.1. Oligonükleotid Primerler

**Tablo 3.1.** Oligonükleotid Primerler

|          |                                |
|----------|--------------------------------|
| SURV-31F | 5'AAGAGGGCGTGCCTCCCGACA -3'    |
| SURV-31R | 5'-GAGATGCGGGTGGTCCTTGAGAAA-3' |

### 3.3. Restriksiyon Enzimleri ve Reaksiyon Tamponları

- MspI : 20,000 U /ml  
(New England BioLabs, ABD)
- Reaksiyon Tamponu : 10 X NEB Buffer (pH=7,9 @25°C)  
20 mM Tris-asetat  
10mM Magnezyum-asetat  
50mM Potasyum-asetat  
100µg/ml BSA

### 3.4. Elektroforez İçin Kullanılan Tamponlar ve Kimyasallar

|                                    |   |
|------------------------------------|---|
| 0,5X TBE<br>(Tris-Borik asit-EDTA) | 054 g of Tris-Baz<br>27.5 g of Borik Asit<br>20 mL 0.5 M EDTA<br>(pH 8.0) |
| 6X DNA Yükleme Boyası              | Bromophenol Mavisi<br>Xylene Cyanol FF (XCFF)                             |
| Etidyum Bromür (EtBr)              | 1,5 µL C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> BrN <sub>3</sub>                   |
| Agaroz Jel<br>(w/v) agaroz         | 0,5 X TBE Tamponunda %2 ve %3'lük<br>agaroz                               |



### 3.5. DNA Büyüklük Markorleri

GeneRuler 50 bç DNA markörü: 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 baz çiftlik fragmentler içeren DNA markörü (Fermentas, LİTVANYA)

### 3.6. Cihazlar

|                                |   |
|--------------------------------|---|
| Otoklav:                       | Dik Tip Otoklav (BES, TÜRKİYE)  |
| Tartı:                         | Hassas Terazi, XB220 A (Presica, İSVİÇRE)<br>KERN PCB (Kern-Sohn, ALMANYA)                |
| Santrifüjler:                  | Centrifuge 5415 R (Eppendorf, ALMANYA)  |
| Derin Dondurucular:            | -20°C, 2021 D (Arçelik, TÜRKİYE)<br>-20°C, GSD26410NE (Bosch, ALMANYA)                    |
| Görüntüleme Sistemleri:        | Bio-RAD UniversalHoodII (BIO-RAD, İTALYA)   |
| Yatay Elektroforez Sistemleri: | MultiSub Midi (Cleaver Scientific-İNGİLTERE)<br>MiniRapide Cleaver Scientific-(İNGİLTERE) |
| Isı Bloğu:                     | DB 2D (Techne, İNGİLTERE)   |
| Güç Kaynakları:                | EPS 301 (Amersham Pharmacia Biotech, İSVEÇ)<br>PowerPac Basic (BIO-RAD, İTALYA)           |
| Manyetik Karıştırıcılar:       | MR 3001 (Heidolph, ALMANYA)   |
| Buzdolapları:                  | Beko 8742, Arçelik 3061 Plus (TÜRKİYE)  |
| Thermo-Cyclers:                | Techne TC-512 (İNGİLTERE)   |
| Su Arıtma Sistemi:             | Millipore Milli Q Synthesis A10 (FRANSA)  |

## 4.METOD

### 4.1.Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), dizisi bilinen bir DNA bölgesinin *in vitro* olarak çoğaltılmasını sağlayan ve DNA molekülünün çok sayıda kopyasını kısa zamanda yapmaya olanak sağlayan bir tekniktir.

Reaksiyonu gerçekleştirmek için gerekli olan reaktifler; kalıp olarak kullanılacak DNA (genomik DNA);çoğaltılmak istenen bölgeye özgül bir tek iplikli sentetik DNA oligonükleotid çifti (forward ve reverse primer), dört tip deoksiribonükleotid trifosfat (dNTPs), DNA polimeraz enzimi (Taq DNA pol) ve sudur. Ayrıca DNA polimeraza ko-faktör görevi gören magnezyum iyonları ve reaksiyon için uygun koşulları sağlayan tampon da reaksiyonun gerçekleşmesi için gereklidir.

PCR tekniği, temelde üç aşamadan oluşmaktadır.

- i) Denatürasyon: Çift sarmal DNA'nın yüksek sıcaklıkta (94°C-96°C) çözülerek (DNA'nın tamamlayıcı bazları arasındaki hidrojen bağlarının kopması) tek sarmal haline gelmesi.
- ii) Bağlanma (annealing): Primer olarak kullanılan iki oligonükleotidin, tek iplikli hale gelen DNA'ya uygun sıcaklıkta (37°C -65°C) o bölgeye özgül olarak bağlanması.
- iii) Uzama (extension): Mg<sup>2+</sup> iyonlarının varlığında, 72°C'de ve yüksek sıcaklığa dayanabilen polimeraz enzimi ile primerlere nükleotid eklenmesi ve çift iplikli DNA'nın sentezlenmesi.

PZR'nun herbir döngüsü bu basamakları içerir. Her döngü sonunda PCR ürünleri iki katına çıkar ve bir genin tek kopyasından milyonlarca kopya yapılabilir.

## 4.2. Restriksiyon Fragmenti Uzunluk Polimorfizmi

Restriksiyon enzimleri DNA'nın belli dizilerini özgül olarak tanır ve keser. Karşılıklı olarak iki DNA ipliğinin aynı noktadan kesilmesi sonucu küt, farklı noktalardan kesilmesi sonucunda da yapışık uçlu DNA zincirleri oluşur.

DNA'da ortaya çıkan dizilim değişimleri belli kesim enzimlerine ait yeni kesim bölgeleri ortaya çıkarır veya daha önceden var olan kesim bölgeleri kaybolur. RFLP analizi aracılığıyla polimorfizm tespitinde yapılması gereken ilk işlem uygun endonükleazı belirlemektir. Polimorfizme özgül olarak seçilecek enzimin polimorfik bölgeye özgül tanıma dizisine sahip olması gerekir ve böylelikle genomik DNA üzerinde tanıma dizisine tekabül eden bölgede meydana gelen nükleotid değişimleri kesim bölgesi kaybına ya da kazanımına sebep olur.

Araştırılan DNA'nın belli enzimlerle kesilip jelde yürütüldükten sonra referans DNA'ya göre değerlendirme yapılır ve elde edilen farklı fragman uzunlukları bize bilgi verir. Belirli kesim enzimlerinin kesme noktalarında ortaya çıkan değişimlerden oluşan kesimler, tek nükleotid polimorfizmi (SNP) olarak bilinir. Bu sebeple RFLP analizi mutasyonların ve polimorfizmlerin araştırılması ve genom haritalamasında kullanılan bir yöntemdir.

## 4.3. Agaroz Jel Elektroforezi

Elektroforez tekniği protein ve nükleik asitlerin büyüklükleri, yükleri ve biçimlerindeki farklılıklar göz önüne alınarak oluşturulmuştur. Yüklü moleküller elektrik alanına maruz bırakıldığı zaman, yüklerinin özelliklerine göre pozitif veya negatif kutuplara doğru yer değiştirme eğiliminde olurlar. Proteinler net (+) ya da net (-) yüklerine sahiptirler; nükleik asitler ise, sahip oldukları fosfat gruplarından dolayı eksi yüklüdürler ve elektrik alanına maruz bırakıldıklarında (+)kutuba (anod) doğru yer değiştirirler. Agaroz, kırmızı bir alg olan Agar Agar'dan izole edilen doğrusal bir polisakkarit olup, ısı ile muamele edildiğinde sıcak su içinde çözünürken,

soğutulduğunda ise jelimsi bir şekil alır. Soğutulurken polimerlerindeki hidrojen bağlarının oluşumuyla jel şeklini alır.

Klasik moleküler çalışmalar için jel hazırlanırken öncelikle kullanılacak agaroz miktarı hassas terazi ile tartılır ve küçük bir beher içine konur. Daha sonra üzerine gerekli miktarda iyonik kuvveti ile pozitif ve negatif elektrodlar arasında iletkenliği ve elektrik alanın oluşumunu sağlayan TBE solüsyonu konularak mikro dalga fırında çözünmesi sağlanır. Kaynamış halde olan çözeltiliye 1,5 mg/ml son konsantrasyonda EtBr eklenip iyice karıştırılır. Son olarak sıvı haldeki agaroz jel, içine kuyucuk oluşturmak üzere taraklar yerleştirilmiş tablaya dökülür. Jel katılaşmasından (30 dakika-1 saat) sonra hazırlanmış olan jel elektroforez tankına yerleştirilip tankın içerisine jelin üzerini 1-2 mm geçecek şekilde tampon çözeltisi eklenir. İncelenecek olan PZR ürünü yükleme tamponu ile kuyucuklara yüklenir ve elektroforez başlatılır. Tank bir güç kaynağına bağlanır ve tank içinde bulunan negatif ve pozitif elektrodlar arasında TBE tamponunun sağladığı iletkenlik aracılığı ile bir akım oluşması sağlanır. Jele yüklenen DNA örnekleri de negatif elektrottan pozitif elektroda doğru hareket ederken boylarına göre ayrılırlar.

Ayrıca örneklerin jele yüklenmesi sırasında hem örneklerin elektroforez sırasında çok ilerleyerek jelden çıkmalarını hem de örneklerin jel içinde yüklendikleri kuyucuklardan çıkıp tanka dağılmasını önlemek amacıyla işlem sırasında jel üzerinde hareketi gözlemlenebilen yükleme boyası kullanılır. Bu maksatla örnekler jele yüklenmeden önce 10ul örnek için yaklaşık 2ul yükleme boyası ile karıştırılır. Yükleme boyası ile karıştırılan örnekler, jelin döküldüğü ve soğuyarak polimerize olduğu kaba önceden yerleştirilmiş tarakların polimerizasyon sonrası jelden çıkarılmasının sonucu oluşan kuyucuklara yüklenir. Yüklenen örneklerde optimum ayırım için jele 5V/cm gerilim uygulanması gerekir.

Bu araştırmada izole edilen DNA örneklerinin PZR ürünleri %2'lik, restriksiyon ürünleri ise %3'lük jel kullanılarak analiz edilmiştir.

#### **4.4.Meme Kanserinin Moleküler Analizi**

Bu araştırmada Survivin geni üzerindeki -31 G/C tek nükleotid polimorfizminin meme kanserine yatkınlık oluşturmadaki rolleri PZR-Restriksiyon uzunluk polimorfizmi metodu kullanılarak incelenmiştir. İlgili bölgeye özgün

primerler kullanılarak belirtilen şartlarda PZR reaksiyonları hazırlanmıştır (Tablo 3.1., Tablo 4.1., Tablo 4.2.).

**Tablo 4.1.** PZR Reaksiyonlarının içerikleri

|                        |                       |
|------------------------|-----------------------|
| 10X Tampon             | 2,5 µl                |
| 10mM dNTP(mM)          | 2,0 µl                |
| 25mM MgCl <sub>2</sub> | 2,5 µl                |
| Primerler (pmol/ µl)   | 1,0 µl                |
| Taq. polimeraz 5U/ µl  | 0,2 µl                |
| DNA                    | 0,5-1,0 µl (50-100ng) |

**Tablo 4.2.** PZR döngü koşulları

| <b>Polimorfizm</b>      | <b>-31 G/C (rs9904341)</b> |             |
|-------------------------|----------------------------|-------------|
|                         | <b>Sıcaklık</b>            | <b>Süre</b> |
| Başlangıç Denatürasyonu | 94°C                       | 5 dk.       |
| Denatürasyon            | 94°C                       | 30 sn.      |
| Bağlanma                | 64°C                       | 30 sn.      |
| Uzama                   | 72°C                       | 45 sn.      |
| Son Uzama               | 72°C                       | 5 dk.       |
| Döngü Sayısı: 30        |                            |             |

Polimeraz zincir reaksiyonunun ardından PZR ürünleri, reaksiyonun kontrolü amacıyla üründen 10 µl alınarak, 2 µl yükleme boyası ile beraber %2'lik agaroz jele yüklenmiş ve jelde 50 bç büyüklük markörü ile beraber 120V'da 20dk boyunca yürütülmüştür. PZR ürünlerinin agaroz jel ile kontrolü sonrası her PZR ürününden 10 µl alınarak kurulan restriksiyon reaksiyonları 37°C'de 15 dakika restriksiyon enzim kesimine tabi tutulmuşlardır.

Kesim sonrası oluşan restriksiyon ürünlerinin uzunlukları, her üründen 10 µl ve 2 µl yükleme boyası ile beraber %3'lük agaroz jele yüklenerek jelde 50bç büyüklük markörü ile beraber 120V'da 30dk boyunca yürütülmeleri ile belirlenmiştir. Jelde görüntülenen bantlara göre her örnek için genotipler belirlenmiştir (Tablo 4.3.).

**Tablo 4.3.**Restriksiyon ürünlerinin uzunlukları

| Kesim enzimi / Polimorfizm | Polimorfik Homozigot (bç) | Yabanıl Tip Homozigot (bç) | Heterozigot (bç) |
|----------------------------|---------------------------|----------------------------|------------------|
| Msp-I/ rs9904341           | 90,61 (C/C)               | 151 (G/G)                  | 151,90,61 (G/C)  |

Ayrıca rastgele seçilen örneklerde PCR-RFLP ile belirlenen genotiplerin teyidi amacıyla yapılan dizi analizi işlemi Sanger metodu kullanılarak İontek A.Ş tarafından gerçekleştirilmiştir.

#### **4.5.Meme Kanserinin İstatiksel Analizi**

Her hasta ve kontrol örneğinin genotipi restriksiyon sonrası gerçekleştirilen jel elektroforezi ile bant boylarına göre belirlendikten sonra elde edilen veriler istatistiksel olarak meme kanserine yatkınlık açısından değerlendirilmiştir.

Kontrol grubunda genotipik dağılımın uygunluğu Hardy-Weinberg testi ile kontrol edilmiştir. Hasta ve kontrol grubu arasında genotipik dağılımdaki farklılığın analizi için genotipik, alelik, dominant ve resesif modeller oluşturulmuş ve lojistik regresyon ile incelenmiştir. Hasta grubunda metastatik durum, tümör evresi ve histolojisi gibi diğer kategorik gruplandırmalara göre genotipik dağılım farklılığı da aynı süreç takip edilerek analiz edilmiştir. Ayrıca ikili kategorik karşılaştırmalar için Armitage Trend testi ile genel oranlar oranı ve p değeri hesaplanmıştır. Tümör boyutu ve genotip dağılımları arasındaki ilişkiyi incelemek amacıyla ilk olarak tümör boyutlarının genotipik, dominant ve resesif modellerde normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro-Wilk testi ile incelenmiştir. Test sonuçlarına göre normal dağılım gözlemlendiği için ( $p < 0,05$ ) genotipik gruplama için ANOVA, dominant ve resesif gruplama içinse t testi analizi kullanılmıştır. Tüm p değerleri iki kuyrukludur ve p değeri anlamlılık sınırı 0,05 kabul edilmiştir. Tüm istatistiksel analizler için SPSS yazılımının 20. versiyonu kullanılmıştır.

## 5. SONUÇLAR

### 5.1. Örneklerin Tanımı

Bu çalışmaya 85'i hasta, 80'i kontrol olmak üzere toplam 165 hastadan; 72'si hasta ve 74'ü kontrol olmak üzere toplam 146 kadın birey dahil edilmiştir. Genotip bilgileri çalışmaya dahil edilen hastaların, hasta bilgi formu ile sağlanan hastalık evresi, tümör derecesi ve nüks bilgileri de kayıt edilmiştir.

Hasta bireylerin yaşları 25-89 arasında olup, yaş ortalamaları ise 51,40 yaşdır. Hastaların % 40,27'si sigara içerken %59,73'ü sigara içmemektedir (Tablo 5.1.). Hastaların klinik verilerine göre; %52,77'si menopozda ve hastaların %69,44'ünde ER (östrojen reseptörü), %72,22'sinde PR (progesteron reseptörü) ve %19,44'ünde Cerb-B2 pozitifdir. Hastalardan %6,94'ünün metastazı vardır(Tablo 5.2).

Kontrol grubundaki sağlıklı kadın bireylerin yaşları 21-87 yaş arasında değişmektedir ve yaş ortalamaları 47,91 yaş olarak belirlenmiştir. Kontrol grubuna dahil olan bireylerin %26,38'i sigara içerken %73,62'si içmemektedir.

**Tablo 5.1.** Hasta ve Kontrol Grubunun Demografik Verileri

| Ölçüt             | Hasta           |    | Kontrol         |    |
|-------------------|-----------------|----|-----------------|----|
| Yaş               | 51,40; SD=10,92 |    | 47,91; SD=12,06 |    |
| Sigara İçenler    | %40,27          | 29 | %26,38          | 19 |
| Alkol Kullananlar | %1,38           | 1  | %2,7            | 2  |

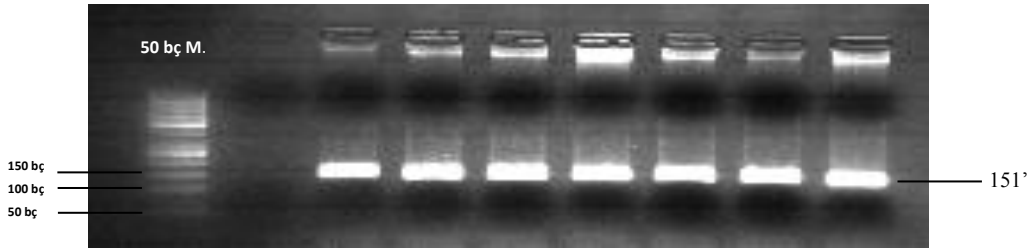
**Tablo 5.2.** Hastaların Klinik Verileri

| Ölçüt    | Yok    |    | Var    |    |
|----------|--------|----|--------|----|
| Menopoz  | %47,22 | 34 | %52,77 | 38 |
| ER       | %30,55 | 22 | %69,44 | 50 |
| PR       | %27,77 | 20 | %72,22 | 52 |
| Cerb-B2  | %80,55 | 58 | %19,44 | 14 |
| Metastaz | %93,05 | 67 | %6,94  | 5  |

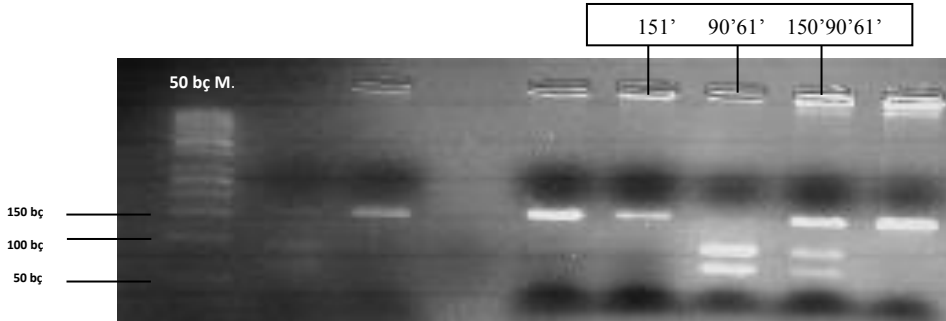
## 5.2. -31 G/C Polimorfizminin Molekuler Analizi

Hasta ve kontrol grubuna ait DNA örneklerinden, incelenen polimorfizmin bulunduğu gen lokusu, bölüm 4.1.'de belirtilmiş olan koşullarda gerçekleştirilen PZR ile çoğaltılmıştır. PZR ürünlerinin uzunluklarını ve kalitelerini kontrol etmek amacıyla, reaksiyonlar %2'lik agaroz jelde etidyum bromür boyaması ile UV ışığı altında görüntülenmiştir. Uygun şekilde çoğalan ürünler Bölüm 4.2'te belirtilen şartlar kullanılarak restriksiyon enzim kesimine tabii tutulmuş ve kesim ürünleri %3'lük agaroz jelle yüklendikten sonra 120V'da 20 dakika yürütülerek incelenmiştir. PZR-restriksiyon uzunluk polimorfizmi metodu ile belirlenen genotipler DNA dizi analizi ile doğrulanmıştır.

rs9904341 polimorfizminin bulunduğu gen bölgesi Surv-F ve Surv-R primeri kullanılarak PZR metodu ile çoğaltılmış ve 151 bç'lik PZR ürünü elde edilmiştir(Şekil 5.1.). PZR ürünleri Msp-I restriksiyon enzimi ile kesilerek %3'lük agaroz jelde görüntülenmiştir (Şekil 5.2.). Msp-I enzimi, PZR ile çoğaltılan polimorfik bölgeyi 90 bç ve 61 bç'lik iki parçaya ayırmaktadır.



Şekil 5.1. PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jelde görüntülenmesi



Şekil 5.2. Restriksiyon kesimi ürünlerinin %3' lük agaroz jelde görüntülenmesi

Restriksiyon ürünlerinin jelde yürütülmesi sonucu elde edilen kesim paternleri kullanılarak hasta ve kontrol grubunu oluşturan bütün örneklerin genotip



bilgileri ve genotip frekansları belirlenerek klinik verilere göre de değerlendirilmiştir (Tablo 5.3.-Tablo 5.4.).

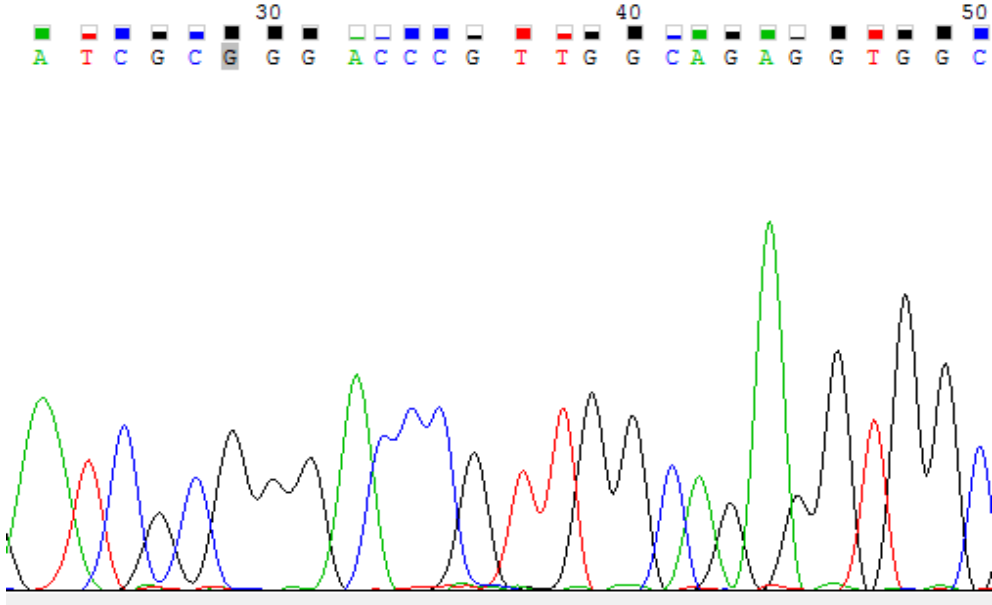
**Tablo 5.3.** Hasta ve Kontrol Grubunda Genotiplerin Dağılımı

| Genotip | Kontrol |    | Hasta  |    |
|---------|---------|----|--------|----|
| GG      | %50,00  | 37 | %53,78 | 38 |
| GC      | %37,84  | 28 | %33,33 | 24 |
| CC      | %12,16  | 9  | %13,89 | 10 |
| Toplam  | 74      |    | 72     |    |

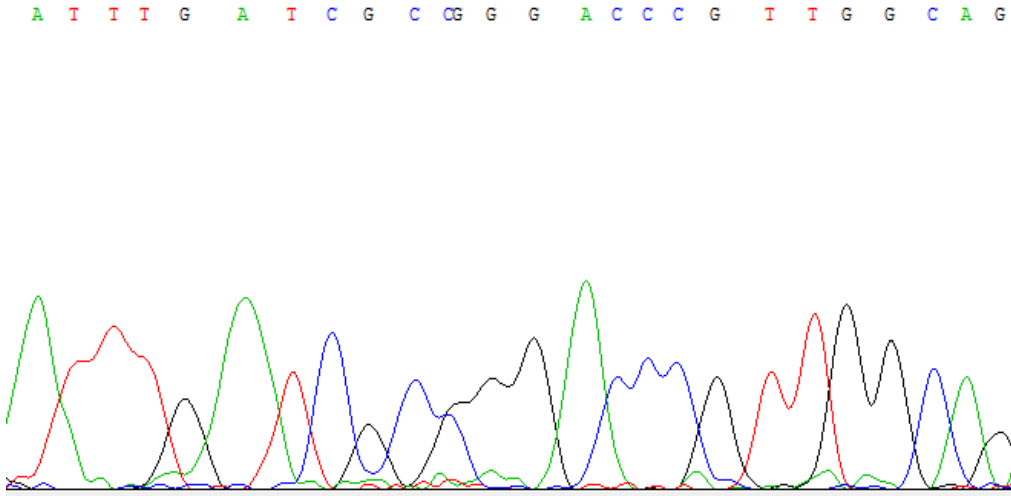
**Tablo 5.4.** Hastaların Genotiplerine göre Klinik Veriler

| Ölçüt    | GG  |     | GC  |     | CC  |     |
|----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|          | Yok | Var | Yok | Var | Yok | Var |
| Menopoz  | 18  | 20  | 12  | 12  | 4   | 6   |
| Metastaz | 34  | 4   | 23  | 1   | 10  | 0   |
| ER       | 11  | 27  | 10  | 14  | 1   | 9   |
| PR       | 11  | 27  | 8   | 16  | 1   | 9   |
| Cerb-B2  | 29  | 9   | 22  | 2   | 7   | 3   |

PZR-Restriksiyon Uzunluk Polimorfizmi metodu ile genotipi belirlenen örneklerden rastgele seçilen 3 adedi dizi analizine tabii tutulmuş ve sonuçlar karşılaştırılmıştır. Dizi analizi sonuçları ile PZR-restriksiyon uzunluk polimorfizmi metodu sonuçları tamamen örtüşmektedir. Şekil 5.3., ve 5.4., sırasıyla homozigot yabancıl tip genotipi (G/G) ve heterozigot genotipi (G/C) göstermektedir.



Şekil 5.3. Homozigot yabancı tip (G/G) örnek kromatogramı



Şekil 5.4. Heterozigot (G/C) örnek kromatogramı

### 5.3. -31 G/C Polimorfizminin Meme Kanseri ile İlişkilendirilmesi

Genotip tayini sonrası genotip frekanslarının Hardy-Weinberg dengesine uygunluğu SPSS 20 yazılımı ile test edilmiştir. Test sonuçlarına göre kontrol popülasyonu Hardy-Weinberg dengesindedir ( $p=0.315039$ ) ve genotip frekansları

hasta popülasyonu ile karşılaştırarak kontrol grubu olarak kullanılmaya uygundur (Tablo 5.4.).

-31 G/C polimorfizminin meme kanseri ile ilişkisinin incelenmesi amacıyla ilk olarak genotip verilerinden çapraz tablolar oluşturularak genotiplerin sayıları, frekansları ve yüzde oranları hasta ve kontrol grupları için belirlenmiştir (Tablo 5.3.). Daha sonra genotip verileri, genotipik ve alelik etkileşim açısından önem teşkil edip etmedikleri belirlenmiştir. Bu analiz sonucunda -31 G/C polimorfizminin hasta ve kontrol grubunda genotipik dağılımda görülen farklılığın istatistiksel açıdan anlamsız ( $p=0,61686$ ) olduğu sonucuna varılmıştır (Tablo 5.5.).

**Tablo 5.5.** Hasta ve Kontrol Grubunda Genotipik Dağılımların Karşılaştırılması

| Model    | Alelik      | Genotipik   |             | Dominant    | Resesif     | Genel   |
|----------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---------|
|          |             | GC          | CC          |             |             |         |
| OR       | 0,976       | 0,835       | 1,082       | 0,895       | 1,165       | 1,005   |
| %95CI    | 0,594-1,604 | 0,411-1,695 | 0,395-2,964 | 0,467-1,713 | 0,444-3,059 | -       |
| p değeri | 0,92254     | 0,61686     | 0,87836     | 0,737       | 0,757       | 0,92822 |

SPSS 20 programı ile gerçekleştirilen asosiyasyon testlerinde -31 G/C polimorfizminin hasta ve kontrollerde gösterdiği farklı dağılım frekansının istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir.

Hastalar metastatik durumlarına göre gruplandığında metastazı olmayan hastaların daha çok heterozigot ( $p=0,37037$ ) ve varyant homozigot genotipe ( $p=0,28390$ ) sahip olduğu görüldü de bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir (Tablo 5.6.).

**Tablo 5.6.** Hasta Grubunda Metastatik Duruma göre Genotipik Dağılımların Karşılaştırılması

| Model    | Alelik      | Genotipik   |             | Dominant    | Resesif     | Genel   |
|----------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---------|
|          |             | GC          | CC          |             |             |         |
|          |             |             |             | GG/ GC + CC | GG/ GC + CC |         |
| OR       | 0,235       | 0,370       | 0,365       | 0,258       | 0,851       | 0,308   |
| %95CI    | 0,029-1,916 | 0,039-3,521 | 0,018-7,350 | 0,027-2,427 | 0,770-0,940 | -       |
| p değeri | 0,28840     | 0,37037     | 0,28390     | 0,236       | 0,352       | 0,18439 |

Çalışılan hasta grubunun erken (T2) ve geç tümör (T3-4) evresine göre genotipik dağılımların karşılaştırılmasında da anlamlı bir farklılık belirlenmemiştir (Tablo 5.7.)

**Tablo 5.7.** Hasta Grubunda Tümör Evresine (Erken vs Geç) göre Genotipik Dağılımların Karşılaştırılması

| Model    | Alelik      | Genotipik   |             | Dominant    | Resesif     | Genel   |
|----------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---------|
|          |             | GC          | CC          |             |             |         |
| OR       | 0,984       | 1,957       | 0,652       | 1,364       | 0,512       | 0,911   |
| %95CI    | 0,471-2,058 | 0,632-6,056 | 0,161-2,644 | 0,517-3,594 | 0,133-1,969 | -       |
| P değeri | 0,96662     | 0,24083     | 0,54801     | 0,531       | 0,330       | 0,96971 |

Farklı tümör histolojilerine ve evrelerine sahip hastaların genotip dağılımları analiz edildiğinde de benzer bir sonuç elde edilmiş ve dağılımda anlamlı bir farklılık belirlenememiştir ( $p>0,05$ ) (Tablo 5.8.).

**Tablo 5.8.** Tümör Histolojisine göre Genotipik Dağılımların Karşılaştırılması

| Histoloji | Alelik   |             |          | Dominant |              |          |
|-----------|----------|-------------|----------|----------|--------------|----------|
|           | OR       | %95CI       | p değeri | OR       | %95CI        | p değeri |
| 1         | Referans |             |          | Referans |              |          |
| 2         | 1,680    | 0,598-4,723 | 0,325    | 1,653    | 0,338-8,083  | 0,535    |
| 3         | 1,614    | 0,533-4,891 | 0,397    | 2,480    | 0,419-14,666 | 0,317    |
| 4         | 0,554    | 0,072-4,261 | 0,571    | 0,620    | 0,053-7,240  | 0,703    |

Histolojik gruplamaya göre genotip başına düşen örnek sayısı yeteriz olduğundan genotipik, resesif ve genel model kullanılmamıştır.

Aynı zamanda genotip dağılımlarına göre tümör boyutları incelendiğinde de gruplar arasında önemli bir farklılık görülmemiştir ( $p>0,05$ ) (Tablo 5.9.).

**Tablo 5.9.** Genotip dağılımlarına göre tümör boyutları

| Grup                       | Genotipik |      |      | Dominant |         | Resesif |         |
|----------------------------|-----------|------|------|----------|---------|---------|---------|
|                            | GG        | GC   | CC   | GG       | GC + CC | CC      | GG + GC |
| Ortalama Tümör Boyutu (cm) | 3,02      | 3,08 | 2,97 | 3,02     | 3,025   | 2,97    | 3,05    |
| p değeri                   | 0,988     |      |      | 0,951    |         | 0,919   |         |

## 6. TARTIŞMA

Hücre ve dokuların gelişimi ve homeostazının sağlanmasında hayati bir önem taşıyan (Kafadar, 2009) apoptoz, (programlı hücre ölümü) karsinogenez ile kuvvetli korelasyon gösterir (Kosova vd., 2011).

Apoptozun mekanizması tam olarak açıklanamamasına rağmen, apoptozis ile bağlantı kurulan en önemli olay kaspazların aktivasyonudur. Bir kaspaz inhibitörleri ailesi olan IAP kaspazları selektif olarak inhibe ederek apoptotik mekanizmayı durdururlar. Bu inhibitörler birçok malign hücre tarafından eksprese edilmektedirler (Kosova vd., 2011).

IAP ailesinin inhibitör üyelerinden survivin, yeni bir antiapoptotik onko-fetal proteindir. Apoptozu baskılayan ve hücre bölünmesini düzenleyen çift fonksiyonlu bir protein olan survivinin en önemli özelliklerinden biri kanser dokularına göre normal dokularla karşılaştırıldığında farklı ekspresyonlarının var olmasıdır (Kafadar, 2009). Survivin, embriyonik yaşamda ve birçok tümörde yüksek düzeyde eksprese olmasına rağmen maturasyonunu tamamlamış dokularda eksprese olmaz. Ancak son araştırmalarda timus, CD34 (+) hemopoetik kök hücrelerde, deri, endometrium, endotelial hücreler, normal kan hücreleri, pankreas, dalak, kolon gibi normal dokularda düşük survivin ekspresyonu gösterilmiştir (Oto, 2005).

Survivin aynı zamanda hücre bölünmesini, mitoz bölünmede mitotik iğipliklerinde tübinle etkileşerek düzenler. Hücre siklusunun G2-M fazında yüksek oranda ifade edilerek (Babat, 2014) apoptozun düzenini bozmak, anormal hücrenin yaşamasını teşvik etmek yoluyla tümör hücrelerine anlamlı bir avantaj sağladığı düşünülür (Kafadar, 2009).

Survivin sahip olduğu bu fonksiyonların tümör oluşumu ve büyümesinde avantaj sağladığı ve survivin düzeyi artmasının tümörler için negatif bir prognostik faktör olduğu öne sürülmektedir. Survivin biyolojik sıvılarda mesane kanserli

hastaların idrarında tespit edilebildiği bildirilmiştir. Tüm bunlara ek olarak kanser hastalarının kanında dolaşan anti-survivin antikoru da teşhis amacıyla kullanılabilir (Kafadar, 2009).

Bu araştırmada meme tümörlü kadın hastalara ait DNA örneklerinde Survivin promotör -31 G/C gen polimorfizmi incelenmiş ve sonuç olarak bu gen polimorfizmi ile meme kanseri riski ilişkisinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p=0,61686$ ). Kontrol grubunda genotip dağılımının Hardy-Weinberg dengesinde olduğu belirlenmiştir ( $p>0,05$ ). Hasta ve kontrol grupları arasında genotipik dağılım hiç bir modele göre anlamlı bir farklılık göstermemektedir. Hastalar metastatik durumlarına göre gruplandığında metastazı olmayan hastaların daha çok heterozigot ve varyant homozigot genotipe sahip olduğu görülse de bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir. Farklı tümör histolojilerine ve evrelerine sahip hastaların genotip dağılımları analiz edildiğinde de benzer bir sonuç elde edilmiş ve dağılımda anlamlı bir farklılık belirlenmemiştir. Aynı şekilde genotip dağılımlarına göre tümör boyutları incelendiğinde de gruplar arasında önemli bir farklılık görülmemiştir.

Survivin polimorfizmlerinin kanserle olan ilişkisiyle ilgili çalışmalar daha önce gerçekleştirilmiş ancak meme kanseri ile ilişkisiyle ilgili Türkiye’de Survivin geninde -31 G/C polimorfizmi ve meme kanseri bağlantısı araştırılmış tek bir çalışma vardır.

Göksel ve arkadaşları (2007), erken evre meme kanserli hastalarda Her-2/Neu ve Survivin düzeylerini araştırmış, meme kanserli hastalar ile kontrol grubu arasında serumdaki Her2/Neu ve Survivin seviyesi için bir farklılık bulamamışlardır (Göksel vd., 2007).

Apoptoz’un inhibisyonunda rol oynayan survivin’in değişik tümörlerde arttığı saptanmıştır (Güler vd., 2006). Shariat ve arkadaşları tarafından mesane kanserli hastalarda idrar survivin düzeyleri incelenmiş, duyarlılık, özgüllük, (+) öngörüşel değer ve (-) öngörüşel değerleri sırasıyla %64, %93, %92, ve %67 bulmuşlardır. Yüksek idrar survivin düzeylerinin, artmış mesane kanseri riski ve daha ileri histolojik dereceyle ilişkili olduğu saptanmıştır (Shariat vd., 2004).

Jang ve arkadaşları (2008) tarafından yapılan bir çalışmada, -31 G alelinin -31 C aleline göre önemli derecede düşük transkripsiyonel aktiveye sahip olduğu ve buna bağlı olarak -31G/C polimorfizminin akciğer kanserine yatkınlıkta önemli bir rolü olduğu belirtilmektedir (Jang vd., 2008).

Bayram ve arkadaşları (2011) Turk populasyonunda, Survivin geninin -31G>C polimorfizmi ile hepatoseluler kanseri arasındaki ilişkiyi araştırmışlar ve hasta grup ile sağlıklı grup arasında anlamlı bir farklılık bulamamışlardır (Bayram vd., 2011).

Yapılan diğer bir çalışmada Survivin gen polimorfizminden en çok çalışılan -31 G/C polimorfizminin mide kanseri gelişimine etken olup olmadığı araştırılmıştır. Buna göre Survivin geni -31 G>C polimorfizmi, mide kanseri hastaları ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmamasına karşın, homozigot mutant alleli olan CC genotipine sahip bireylerin mide kanserine yakalanma riskinin homozigot GG alleleline sahip bireylere göre daha fazla risk oluşturduğu bildirilmiştir (OR= 1,52). Elde edilen tüm bu sonuçlarla hasta ve kontrol gruplarının temsil ettiği toplumda mide kanseri ile Survivin -31 G>C polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki olmadığı gösterilmiştir ve bunun yanında CC genotipinin mide kanserine yatkınlık oluşturabileceği düşünülmüştür (Eröz vd., 2015).

Bu tez çalışmasında Survivin -31 G/C genotipinin meme tümörlü hastalar ve kontrol grubu arasında survivin promotör -31 G/C genotip ve allel dağılımları açısından bir fark bulunmadığı belirlenmiştir.

Daha önce meme kanseri ve Survivin -31 G/C polimorfizmi arasındaki bağlantıyı inceleyen çalışmaların kısıtlı oluşu göz önünde bulundurulduğunda bu tez çalışmasında elde edilen sonuçların teyidi ve Survivin -31 G/C polimorfizminin meme kanseri üzerine olan etkisinin daha iyi anlaşılabilmesi için daha geniş hasta ve kontrol gruplarında tekrarlanmış araştırmalara ihtiyaç olduğu söylenebilir.

Survivin geni polimorfizmlerinin istatistiki ve işlevsel analizleri, kansere yatkınlık ve karsinojen metabolizması bağlamında meme karsinogenezinin daha iyi anlaşılmasını sağlayacak ve karsinojenlere maruz kalma açısından farklı kanser tiplerine bireysel yatkınlığın belirlenmesinde faydalı olacaktır.

## 7. KAYNAKLAR

### 7.1. Makaleler

Aktaş H.S., (2010). *Kemoterapinin Kolon Kanseri, Meme Kanseri ve Mide Kanserinde VEGF Düzeylerine Etkisinin İn Vivo ve İn Vitro İncelemesi*. Yüksek Lisans Tezi. AÜ Biyoteknoloji Enstitüsü. Temel Biyoteknoloji, Ankara

Altieri C.D. (2003). *Survivin, Versatile Modulation of Cell Division and Apoptosis in Cancer*. *Oncogene* 22; 8581–8589

Altıparmak D.M., Bilgiç İ.C, Dener C.N., (2014). The Effect Of Survivin Gene Promoter Polymorphism On Breast Cancer. *Turk J Biol* 38: 858-866

Aslan E.F., Gürkan A. (2007). Kadınlarda Meme Kanseri Risk Düzeyi. *The Journal Of Breast Health* 3(2):63-68

Aynacı E., Coşkunpınar E., Eren A. vd. (2012). Survivin Geni -625 G/C Polimorfizminin Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri İle İlişkisinin Araştırılması. *Journal Of Cell And Molecular Biology* 10(1):27-32

Babat Y. (2014). *İnsan Osteosarkoma Hücre Hattında (Saos-2) Baicalein'in 12-Lox ve 15-Lox Mrna İfadesi ve Apoptosis Üzerine Etkisi*. Yüksek Lisans Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Biyoloji Anabilim Dalı, Aydın

Baydın Ö. P., Akbulut H. (2013).Kanserde Damar Endoteline Yönelik Gen Tedavisi Ajanları Geliştirilmesi. *Türk Onkoloji Dergisi* 28(4): 179-186

Bayram S, Akkız H, Bekar A, Akgöllü E (2011). The association between the survivin –31G/C promoter polymorphism and hepatocellular carcinoma risk in a Turkish population. *Cancer Epidemiol* 35: 555–559.

Bodur S., Eryılmaz M.A., Civecik S. vd. (2011). .Kanserlerin Toplumdaki Dağılımının Belirlenmesi Ve İnsidansın tahmininde Ketem Kayıtlarının Katkısı: Konya Örneği. *Genel Tıp Derg*21(4): 144-151



Braun S, Vogl FD, Naume B, Janni W, Osborne MP, Coombes RC, et al. (2005) A pooled analysis of bone marrow micrometastasis in breast cancer. *N Engl J Med*;353(8):793-802.

Cabioğlu N., Yıldırım O.E., Bitişik Ö., (2008). Erken evre meme kanserinde revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) tekniği ile kemik iliği mikrometastazlarının araştırılması. *Türk Onkoloji Dergisi* 23(2):55-62

Chen CC, Chang TW, Chen FM, Hou MF, Hung SY, Chong IW, et al. (2006). Combination of multiple mRNA markers (PTTG1, Survivin, UbcH10 and TK1) in the diagnosis of Taiwanese patients with breast cancer by membrane array. *Oncology*;70:438-46.

Çelik V., (Ed.). (2007). *Meme Kanseri Uygulama Kılavuzu*. İstanbul: CSA Global Publishing,3:21-25

Çolak T.A. (2004), *Meme Kanserli Hastalarda Serum Leptin Düzeyleri ve Histopatolojik Parametrelerle İlişkisi*. Uzmanlık Tezi. Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi. I.İç Hastalıkları Kliniği, İstanbul

Çalıkapan M. (2004). *Meme Kanserinde Prognostik Faktörlerin Hastanemiz Olgu Serisindeki Sağkalıma Etkisi*. İstanbul:T.C Sağlık Bakanlığı Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim Ve Araştırma Hastanesi. 1.Genel Cerrahi Kliniği

Demiral G. (2009). *Ele Gelmeyen Meme Lezyonlarında Tel İle İşaretlemenin Tanısal Değeri*. İstanbul Göztepe Eğitim Ve Araştırma Hastanesi. 2.Genel Cerrahi Kliniği, İstanbul

Ekmekçi A., Konaç E., Önen H.İ., (Der.). (2008). Gen Polimorfizmi ve Kansere Yatkınlık. *Marmara Medical Journal* 21(3);282-295

Erbayraktar Z., Aktaş S., Altun Z. (2011). Nöroblastomda Survivin'in İlaç Direncinin Belirlenmesindeki Rolü. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 31(5):1087-93

Ergüney S., (Ed.). (2013). *Kanser Evreleme Atlası*. Nobel Tıp Kitabevleri. 3-10

Eröz R., Bircan D., Yuce H. vd. (2015). Survivin Hakkında Bilinenler: Survivin İle İlgili Türkiye'de Yapılmış Olan Çalışmalar. *Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*5(3): 39-58

Evcimik T. (2008). *Meme Kanserinde Prognostik Faktörlerin Sağkalıma Etkisi*. T.C Sağlık Bakanlığı İstanbul Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi. 3.Genel Cerrahi Kliniği, İstanbul

Ferahman M. (2006). Meme Kanserinde Güncel Tnm Evrelemesi. *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri* 54:87-91.

Gazouli M, Tzanakis N, Rallis G, Theodoropoulos G, Papaconstantinou I, Kostakis A, et al. (2009) Survivin -31G/C promoter polymorphism and sporadic colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis*; 24 : 145-50.

Goksel G, Taneli F, Uslu R, Ulman C, Dinc G, Coskun T, Kandiloglu AR. Serum Her-2/neu and survivin levels and their relationship to histological parameters in early-stage breast cancer. *J Int Med Res.* 2007; 35(2): 165-72.

Guney N, Soydine HO, Derin D, Tas F, Camlica H, Duranyildiz D, et al. (2006) Serum and urine survivin levels in breast cancer. *Med Oncol*;23:335-9.

Güler C., Tüzel E., Şamlı M., vd. (2006). Yüzeysel Mesane Tümörlerinde Tanısal ve Prognostik Yeni Belirleyiciler. *Kocatepe Tıp Dergisi*7(1):1-9

Gültekin M., Boztaş G., (Ed.). (2014). Türkiye Kanser İstatistikleri. *Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Kanser Daire Başkanlığı.* 1-45.

Gündoğan D. (2012). *Hemşirelik Öğrencilerinin Meme Kanseri İlişkin Korunma Önlemleri Konusundaki Bilgi ve Uygulamalarının Değerlendirilmesi.* Yüksek Lisans Tezi. B.Ü. İstanbul Bilim Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Hemşirelik Yüksek Lisans Programı, İstanbul

Haydaroğlu A. (Der.) (2015). Meme Kanseri Epidemiyoloji, Sınıflama Ve Evreleme. *Türkiye Klinikleri J Radiat Oncol-Special Topics*;1(2):1-6

Hmeljak J, Erčulj N, Dolžan V, vd. (2011). BIRC5 Promoter Snps Do Not Affect Nuclear Survivin Expression And Survival Of Malignant Pleural Mesothelioma Patients. *Journal Of Cancer Research And Clinical Oncology*137(11):1641-51

Hui D. X., Song H-Y., Zhou Y-F. vd. (2013). Effects of quercetin on the proliferation of breast cancer cells and expression of survivin *in vitro.* *Experimental And Therapeutic Medicine* 6: 1155-1158

Jaiswal PK, Goel A, Mandhani A, Mittal RD. (2012) Functional polymorphisms in promoter survivin gene and its association with susceptibility to bladder cancer in North Indian cohort. *Mol Biol Rep*; 39: 5615-21.

Jang JS, Kim KM, Kang KH, Choi JE, Lee WK, Kim CH, Kang YM, Kam S, Kim IS, Jun JE, Jung TH, Park JY. (2008) Polymorphisms in the survivin gene and the risk of lung cancer. *Lung Cancer.* Apr;60(1):31-9.

İlvan Ş. (2006). Meme Karsinomu Patolojisi. *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri* 54:65-71

İpek C. (2011). *Meme Koruyucu Cerrahi İle Beraber Sentinel Lenf Nodülü Biyopsisi Yapılan Hastaların Uzun Dönem Takiplerinin Değerlendirilmesi.* Uzmanlık Tezi. Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi. Genel Cerrahi Anabilim Dalı, İstanbul

Jaiswal K.P.,Apul Goel A., Mittal R.D. (2015). Survivin: A Molecular Biomarker İn Cancer. *Indian J Med Res.* 141(4): 389–397

- Kafadar D. (2009). *Beyin Tümörlü Hastalarda Survivin Gen Polimorfizmi ve Serum Survivin Düzeylerinin İncelenmesi*. Doktora Tezi. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Moleküler Tıp Anabilim Dalı / Moleküler Tıp Programı, İstanbul
- Kaya C., Çalışkan Y., Yönden Z., (Der.).(2012). APOPTOZİS. *Mustafa Kemal Üniv.Tıp Derg*, Cilt 3(11): 27-37.
- Koçak S., Çelik L., Özbaş S. vd. (2011). Meme Kanserinde Risk Faktörleri, Riskin Değerlendirilmesi Ve Prevansiyon: İstanbul 2010 Konsensus Raporu. *The Journal Of Breast Health* 7(2):47-67
- Kosova F., Arı Z. (2011). Prostat kanseri ve apoptozis ilişkisi. *Klinik ve Deneysel Araştırmalar Dergisi* 2(1): 124-131
- Koyuncu C.Z., (2009). *Erken Evre Meme Kanseri Olgularında Sentinel Lenf Nodu Biyopsi Sonuçlarımız*. Uzmanlık Tezi. T.C. Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim Ve Araştırma Hastanesi. II.Cerrahi Kliniği, İstanbul
- Lv Y-G., Yu F., Yao Q., vd. (2010). The Role Of Survivin İn Diagnosis, Prognosis And Treatment Of Breast Cancer. *J Thorac Dis* 2: 100-110
- Nursal F.A., (2015). Triple Negatif Meme Kanserinin Moleküler Temeli. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi* 24(2):251-259
- Oto A. Ö. (2005). *Akut ve Kronik Lösemilerde Survivin ve Epr-1 (Effektör Hücre Proteaz -1) Ekspresyonunun Prognostik Önemi*. Uzmanlık Tezi. Ç.Ü. Tıp Fakültesi. İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Adana
- Özkan S., Büyükdoğan M., (2010). Meme kanserinde prognostik faktörler: vakalarımızın retrospektik analizi. *Tıp Araştırmaları Dergisi* 8(1):9-14
- Özmen V., Fidaner C. , Aksaz E. vd. (2009). Türkiye’de Meme Kanseri Erken Tanı ve Tarama Programlarının Hazırlanması. *The Journal of Breast Health* 5(3): 125-134
- Pekmez M. (2010). *Meme Kanseri Tanısıyla Mastektomi Ameliyatı Olmuş Kadın Hastalarda, Cerrahi Tedavi Seçimine Etkili Olan Prognostik Faktörler*. Uzmanlık Tezi. BÜ Tıp Fakültesi. Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara
- Russo J., Russo H.I., (2004). *Development Of The Human Breast*. Breast Cancer Research Laboratory. Philadelphia: Maturitas-Elsevier. 49:2-15
- Shariat SF, Casella R, Khoddami SM ve ark. (2004) Urine detection of survivin is a sensitive marker for the noninvasive diagnosis of bladder cancer. *J Urol*, 171: 626-630.
- Span N.P., Tjan-Heijnen G.C.V., Heuvel J.T.M. J. vd. (2006). Do The Survivin (BIRC5) Splece Variants Modulate Or Add To The Prognostic Value Of Total Survivin İn Breast Cancer?. *Clinical Chemistry* 52(9): 1693–1700

Kaya S. (2008). *Kolorektal Kanserli Hastalarda Survivin Expresyonunun Sağlık ve Histopatolojik Değişkenlerle İlişkisi*. Uzmanlık Tezi. Kartal Dr.Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi. 2.İç Hastalıkları Kliniği, İstanbul

Silke J., Vaux L.D. (2001) Two Kinds Of Bir-Containing Protein - İnhibitors Of Apoptosis, Or Required For Mitosis. *Journal Of Cell Science* 114:1821-1827

Sönmez B., (2012). *Meme Kanseri ve Tedavi Yöntemleri*. Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi. Eczacılık Temel Bilimleri Anabilim Dalı, Kayseri

Taşmalı K.M. (2009). *Meme Lezyonlarında Difüzyon-Stır Ağırlıklı Manyetik Rezonans Bulguları İle Patolojik Korelasyon*. Uzmanlık Tezi. T.C. Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim Ve Araştırma Hastanesi. Radyoloji Kliniği, İstanbul

Tiryakioğlu N.O. (2011). *Mesane Kanseri Hastalarında Aldoketoreduktaz 1c3 Rs12529 Polimorfizminin Araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi. HÜ. Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı. Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı, İstanbul

Ustaoglu C. (2000). *Meme Hastalıklarında Görüntüleme Yöntemleri ve Isparta Yöresi Meme Kanseri Tarama Sonuçlarımız*. Yayınlanmamış Uzmanlık Tezi. Sdü. Tıp Fakültesi Radyodiagnostik Anabilim Dalı, Isparta

Urban C., Rietjens M., Kuroda. (Ed.). (2013). *Oncoplastic And Reconstructive Breast Surgery*. *Italia: Springer-Verlag*. 13-21

Ünal S.E., Özçınar B., Özmen V., (2006). Erken Evre Meme Kanserinde İn Vitro Bromodeoksirüdin İşaretleme İndeksinin (Brdu-İi) Standart Prognostik ve Prediktif Faktörlerle Karşılaştırılması. *J Breast Health* 2:118-121

Wang X., Huang L., Xu Y. vd. (2012) . Association between survivin -31GC promoter polymorphism and cancer risk: a meta-analysis. *European Journal of Human Genetics* 20: 790–795

Weng CJ, Hsieh YH, Chen MK, Tsai CM, Lin CW, Yang SF. (2012). Survivin SNP-carcinogen interactions in oral cancer. *J Dent Res*; 91 : 358-63.

Yamak N., Yaykaşlı O.K., Soğuktaş H. vd. (2012). Mide Kanseri Hastalarında Survivin Gen Polimorfizmi Araştırılması. *Dicle Tıp Dergisi* 39 (4): 499-503

Yie SM, Luo B, Ye NY, Xie K, Ye SR. (2006). Detection of Survivinexpressing circulating cancer cells in the peripheral blood of breast cancer patients by a RT-PCR ELISA. *Clin Exp Metastasis* 23:279-89.

## 7.2. KİTAPLAR

Gazioğlu E. (Ed.). (2005). *Essentials İn The Management Of Breast Diseases*. Romania: Celsius Medical Publications: 1-3, 117-128

### **7.3. İNTERNET**

All Cancers (excluding non-melanoma skin cancer) Estimated Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012 (2012). Erişim tarihi: 01 Ağustos 2014, [http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_cancer.aspx](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx)

## **8.ÖZGEÇMİŞ**

Ayşem Dilara Bektaş 17.07.1989 tarihinde İstanbul'da doğdu. Özel ATA Lisesi'ni bitirdikten sonra Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünden 2010 yılında mezun oldu. 2012 yılında Haliç Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Programında öğrenim görmeye başladı. Temel ilgi alanları, kanser biyolojisi, insan moleküler genetiği ve evolüsyondur.