

**T.C.**  
**HARRAN ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİMDALI**

**FARKLI MEME KANSERİ HÜCRE TİPLERİNİN**  
**(MCF-7, MDA-MB-231 VE CRL-4010) SERBEST**  
**AMİNOASİT PROFİLİNİN İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Mevlut BAHÇEVAN**

**DANIŞMAN**

**Dr. Öğr. Üyesi İsmail KOYUNCU**

**ŞANLIURFA**

**2019**

**T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİMDALI**

**FARKLI MEME KANSERİ HÜCRE TİPLERİNİN  
(MCF-7, MDA-MB-231 VE CRL-4010) SERBEST  
AMİNOASİT PROFİLİNİN İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Mevlut BAHÇEVAN**

**DANIŞMAN**

**Dr. Öğr. Üyesi İsmail KOYUNCU**

Bu tez hiçbir kurum tarafından desteklenmemiştir.

**ŞANLIURFA  
2019**

**T. C.**  
**HARRAN ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ**

**JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI**

Mevlut BAHÇEVAN'ın hazırladığı "Farklı Meme Kanseri Hücre Tiplerinin (MCF-7, MDA-MB-231 ve CRL-4010) Serbest Aminoasit Profilinin İncelenmesi" başlıklı çalışması 05/07/2019 tarihinde jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek Biyokimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

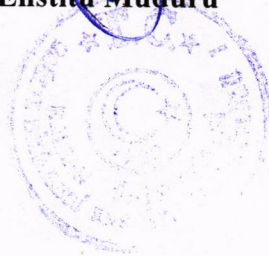
**BAŞKAN**  
**Dr. Öğr. Üyesi İsmail KOYUNCU**  
Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi  
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

**ÜYE**  
**Doç Dr. Nihayet BAYRAKTAR**  
Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi  
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı  
Öğretim Üyesi

**ÜYE**  
**Prof.Dr. Şahbettin SELEK**  
Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı  
Öğretim Üyesi

Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 18/07/2019 tarih ve 2019/12/08 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

**Prof. Dr. Fuat DİLMEÇ**  
**Enstitü Müdürü**



## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim süresince, beceri ve bilgi birikimimde her zaman katkı ve desteklerini gördüğüm, tecrübeleriyle eğitime büyük katkıları bulunan Tez danışmanı hocam sayın Dr. Öğrt. Üyesi İsmail KOYUNCU'ya saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, değerli katkılarından dolayı Öğretim Görevlisi Ebru TEMİZ'e ayrıca teşekkür ederim. Tezimin hazırlanma sürecinde ilgi ve desteklerini esirgemeyen sevgili oğlum Yusuf Sami BAHÇEVAN'a teşekkür ederim.

Mevlut BAHÇEVAN

# İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR .....	i
İÇİNDEKİLER .....	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	iv
TABLolar DİZİNİ .....	v
KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ .....	vi
ÖZET .....	vii
ABSTRACT .....	viii
1.GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	4
2.1. Kanser .....	4
2.2. Meme Doku Histolojisi .....	4
2.2.1. Meme Kanseri ve Oluşumu Mekanizmaları .....	7
2.3. Meme Kanserinin Histopatolojik Sınıflaması .....	10
2.3.1. İn Situ Karsinomlar .....	11
2.3.2. İnvaziv Karsinomlar .....	12
2.4. Meme Kanserinin Etiyolojisi .....	13
2.4.1. Endokrin Etkenler .....	13
2.4.2. Genetik Etkenler .....	15
2.4.3. Diyetin Etkisi .....	16
2.4.4. Sosyal ve Ekonomik Durumun etkisi .....	16
2.4.5. Radyosyana Maruziyet Kalma Durumu .....	16
2.5. Meme Kanserindeki Risk Unsurları .....	17
2.5.1. Yüksek Risk Unsurları .....	17
2.5.2. Orta Dereceli Risk Unsurları .....	20
2.5.3. Risk Unsurları Olmayanlar .....	20
2.6. Meme Kanserinin Gruplandırılması .....	21
2.7. Meme Kanserinin Safhaları .....	21
2.8. Meme Kanserinde Prognostik Unsurlar .....	22
2.8.1. Fiziksel Unsurlar .....	22
2.8.2. Klinik Unsurlar .....	22
2.8.3. Patolojik Spesiyolite .....	22

2.9. Meme Kanseri Çalışmalarında Kullanılan Hücre Hatları .....	23
2.9.1. MDA-MB-231 Hücre Hattı .....	23
2.9.2. MCF-7 Hücre Hattı Kökenli .....	24
2.9.3. CRL-4010 .....	26
2.10. Aminoasitler .....	26
2.11. Kanser ve Aminoasitler .....	29
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b> .....	<b>31</b>
3.1. Hücre Kültürü .....	31
3.1.1. Materyal ve Metod .....	31
3.2. İstatistiksel Analiz .....	32
<b>4. BULGULAR ve SONUÇLAR</b> .....	<b>33</b>
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	<b>36</b>
<b>6. KAYNAKLAR</b> .....	<b>42</b>
<b>7. EKLER</b> .....	<b>53</b>
EK-1. Etik Kurul .....	53
EK-2. Orjinallik Beyan Raporu .....	54
EK-3. Turnitin .....	55
EK-4. Tez Veri Giriş Formu .....	56

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1.Normal Meme Kesiti .....	7
Şekil 2.2.Normal meme kanal ve lobül yapısının şematik görünümü .....	8
Şekil 2.3.Meme Dokusunda Kanser Gelişimi.....	9
Şekil 2.4.Meme Kanseri Tipleri.....	10
Şekil 2.5.İn Situ Duktal karsinom .....	11
Şekil 2.6.İn Situ Lobuler karsinom.....	12
Şekil 2.7.İnvaziv Duktal karsinom .....	12
Şekil 2.8.Tümör gelişimi süresince mikro çevresel değişimler .....	13
Şekil 4.1.MCF-7 ve CRL-4010 hücrelerin serbest aminoasitlerinin karşılaştırma grafiği .....	34

## TABLULAR DİZİNİ

Sayfa No

<b>Tablo 4.1.</b> Meme hücre hatlarının hücre içi serbest aminoasit değerleri.....	33
<b>Tablo 4.2.</b> Meme hücre hatlarının hücre içi serbest esansiyel aminoasit değerleri.....	35





## KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

<b>AA</b>	: Asetoaset
<b>ACoaC</b>	: Açıl-Co Akarboksilaz
<b>BTD</b>	: Biotidinaz
<b>BRCA-1</b>	: Breast Cancer-1
<b>BRCA-2</b>	: Breast Cancer-2
<b>D-2 DGA</b>	: D-2-hidroksiglutarik asidüri
<b>DH</b>	: Kalp damar hastalıkları
<b>EMA</b>	: Etilmalonik asit
<b>ER</b>	: Östrojen reseptör
<b>ER+</b>	: Östrojen reseptör pozitif
<b>ER-</b>	: Östrojen reseptör negatif
<b>FAD</b>	: Flavinadenindinükleotid
<b>FAP</b>	: Familial Adenomatöz Polipozis
<b>FFA</b>	: Serbest yağ asidi
<b>GAT1</b>	: Glutarik asidüri Tip 1
<b>GCoA DH</b>	: Glutaril-CoA dehidrogenaz
<b>GDH</b>	: Glutamat dehidrogenaz
<b>HPV</b>	: Human Papilloma Virus
<b>IARC</b>	: Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
<b>İGP</b>	: İnsan Genom Projesi
<b>KKM</b>	: Klinik meme muayenesi
<b>L-2 HGA</b>	: L-2-hidroksiglutarik asidüri
<b>MA-CoA DH</b>	: Multiplaçıl-CoA dehidrogenaz
<b>MCACoaC</b>	: Orta zincirli Açıl-CoA karboksilaz
<b>MCFAS</b>	: Orta zincirli yağ asit supplement
<b>MDH</b>	: Malat Dehidrogenaz
<b>NAA</b>	: N-asetil aspartik asit
<b>NMR</b>	: Nükleer Magnetik Rezonans
<b>OD</b>	: Otozomal dominant
<b>OFRT</b>	: Orotat fosforiboziltransferaz
<b>OGTT</b>	: Oral glukoz tolerans testi
<b>SCADH</b>	: Kısa zincir Açıl-koenzim A dehidrogenaz

## ÖZET

### FARKLI MEME KANSERİ HÜCRE TİPLERİNİN (MCF-7, MDA-MB-231 VE CRL-4010) SERBEST AMİNOASİT PROFİLİNİN İNCELENMESİ

**Mevlut BAHÇEVAN**

**Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi**

Meme kanseri hastalıkları günümüzde her yirmi kadından birini etkileyen bir kanser türü olup kadınlarda en yaygın malign tümör oluşumudur. Kanser dünyadaki ölümlerin başlıca nedenlerinden biridir ve erken teşhisi, hastaların hayatta kalma şansını önemli ölçüde artırmaktadır. Dünyadaki kanserler insidansı giderek arttığından dolayı yeni, daha hızlı, yüksek özgünlük ve daha hassas teşhis teknolojileri geliştirmek için genomik, proteomik ve metabolomik metotları kullanılmaktadır. Metabolomik, vücuttaki birçok metabolitin üretimini, kullanımını ve seviyelerini değiştirme kapasitesine sahip olduğu gibi, yeni biyo belirteçler ve terapötik hedeflere dayanan güçlü bir analitik araçtır. Bu çalışma farklı özelliklere sahip meme kanseri ve normal meme hücrelerinin serbest aminoasit profili karşılaştırılarak, meme kanseri tedavisinin tanı ve tedavisinde kullanılma potansiyelini incelemek amacıyla yapıldı. Bu çalışmada MDA-MB-231 (ER- (östrojen reseptör negatif), MCF-7 (ER+ (östrojen reseptör pozitif) kanser hücreleri ile normal meme hücrelerinin (CRL-4010) hücre içi serbest amino acid profili LC-MS/MS ile incelendi. Çalışma sonucunda 29 serbest amino acid tespit edildi. MDA-MB-231 (ER-) kanser hücrelerinin hücre içi aminoasit profili normal hücre (CRL-4010) ile karşılaştırıldığında GABA, Cit, Asp,4-hydroxy prolin ve orthophos foserin seviyelerinin anlamlı bir şekilde yüksek olduğu gözlemlendi. Kontrol hücresi MCF-7 (ER+) ile kıyaslandığında birkaç amino acid hariç neredeyse tüm aminoasitlerin anlamlı bir şekilde artmış olduğu tespit edildi. Çeşitli meme kanser türleriyle yapmış olduğumuz çalışma sonucunda bazı aminoasitlerin kanserli hücrelerde daha yüksek bulunması, bu aminoasitlerin meme kanserli hücrelerde meme kanseri gelişimi yönünde önemli bir role sahip olabileceğini göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:**Meme kanseri, MCF-7, MDA-MB-231, CRL-4010, Serbest Aminoasit profili

## **ABSTRACT**

### **INVESTIGATION OF THE FREE AMINOACIDE PROFILE OF DIFFERENT BREAST CANCER CELL TYPES (MCF-7, MDA-MB-231 AND CRL-4010)**

**Mevlut BAHÇEVAN**

**Medical Biochemstery, Master's Thesis**

Breast cancer is a type of cancer that affects one in every 20 women and is the most common malignant tumor formation in women. Cancer is one of the major causes of death in the world, and its early diagnosis significantly increases patients' chances of survival. Because the incidence of cancers in the world is increasing, genomics, proteomics and metabolomics methods are used to develop new, faster, high specificity and more sensitive diagnostic technologies. Metabolomics is a powerful analytical tool based on new biomarkers and therapeutic targets, as well as the ability to change the production, use and levels of many metabolites in the body. This study was carried out in order to examine the potential of using breast cancer and the free amino acid profile of normal cells, comparing the free amino acid profile of different types of cancer cells. Intracellular free amino acid profile of normal breast cells (CRL-4010) was determined by LC-MS / MS in the study and 29 free amino acids were detected in the MDA-MB-231 (ER-) cancer cell. GABA, Cit, Asp, 4-hydroxy proline and orthophos phosgine levels were significantly higher in comparison with normal cell (CRL-4010) compared to control cells MCF-7 (ER +). As a result of the study we have done with various breast cancer types, some aminoacid. The presence of higher levels of cancer in cancer cells has shown that these amino acids may have an important role in the development of breast cancer in breast cancer cells.

**Keywords:**Breast cancer, MCF-7, MDA-MB-231, CRL-4010, Free aminoacid profile

# 1. GİRİŞ

Günümüz dünyasında kanser, belki de insan yaşamını en tehdit edici unsurlarından biri olup, vücudun bir bölümünde değişime uğramış hücrelerin kontrol dışı büyümesiyle oluşan büyük bir grup hastalığın genel adıdır. Kanser, bir organizmadaki hücrelerin sınırsız şekilde bölünmesi, çoğalması ve yayılmasıdır. Yalnızca bir organa tesir edebileceği gibi uzaktaki organlara da ederek etkisini gösterebilir. Bu özelliklerden biri kanser hücrelerinin hücre bölünmesindeki kontrol mekanizmalarına karşı koyarak çoğalmaları, diğeri ise başka hücreler için ayrılmış alanlara yayılıp ve yerleşebilmeleridir.

Dünya Sağlık Örgütünü verilerine göre dünya genelinde meydana gelen ölümlerde kanser ikinci sırada yer almaktadır. 2018'de 9,6 milyon insanın kanserden kaynaklanan hastalıklardan dolayı öldüğü tahmin edilmektedir. Dünya genelinde, yaklaşık 12 ölümden 2'i kanser nedenlidir. Kanserden dolayı meydana gelen ölümlerin yaklaşık % 70'i düşük ve orta gelirli az gelişmiş ülkelerde olduğu görülmüştür.

Meme kanseri tüm kanserler arasında hastalarının ise %20'sini tehdit ediyor. Kadınlarda görülen meme kanseri, kanserlerin %33'ünü oluşturuyor. Günümüzde ise artık her 80 kadından 8'i hayatı boyunca meme kanserine yakalanma riskiyle karşı karşıya yaşıyor. Kadınlarda yaygın görülen meme kanseri ve bu kanser nedeni ile meydana ölümlerin başında gelmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) bilgilerine göre, kadınlarda daha sık görülen kanser türleri içinde en çokkarşılaşılan kanser türünün, meme kanseriningörüldüğü rapor edilmiştir.

Meme kanserlerinin meydana gelmesi ve gelişmesinde en başta ER (östrojen) olmak üzere birtakım hormonlarında rol aldığı ve hormonların bir tesiri olmadan, meme kanseri meydana gelmeyeceği bildirilmiştir. Bundan nedenle kadınlardaki meme kanseri erkeklere nispetle 100 katı daha sık görülüyor. Her 100 kadından 10 görülmekte meme kanseri yaklaşık her 100 bin kadının 20'sinde karşılaşıyor. Meme karsinomu kadınlara nispeten erkeklerde çok ender görülmektedir. Ancak erkeklerde hastalık meydana geldiğinde hastalığıntablosu kadınlarda görülen meme kanserine nazaran daha kötü

seyretmektedir. Her 1000 meme kanserinin 10'u erkeklerde görüldüğü rapor edilmektedir. Meme kanserinin sebebi tam olarak bilinmemekle birlikte irsi, yeme-beslenme şekli, sosyal ve ekonomik etmenlerden söylenilebilir.

Günümüzde kanser tedavisinde başlıca; cerrahi, kemoterapi ve radyoterapi yöntemleri kullanılmaktadır. Kanser tedavisinde ise tümörün organizmada yerleştiği dokuya, tümörün yapısına, evresine, hastanın fizyolojik durumuna göre çok farklı tedavi yöntemleri bulunmaktadır. Bu tedavi yöntemleri arasında, radyoterapi, kemoterapi, gen terapisi, monoklonal antikor terapileri, immünoterapi ve cerrahi müdahale gibi yöntemler de uygulanmaktadır. Her metodun kendine mahsus avantaj ve dezavantajlarının bulunmasından ve kanserin kişinin kendisine mahsus bir hastalık olması, uygulanan tedavilerin kişiden kişiye değişiklik gösterebilmesinden dolayı tek ve net bir tedavi yönteminin uygulanmasından bahsetmek imkânsızdır.

Meme kanseri hastalığının çok görülmesi ve genellikle ölüme neticelenmesi bu hastalığın erken teşhisi, hastaların hayatta kalma şansını önemli ölçüde artırmaktadır. Hastalığın tedavisine yönelik yeni çalışmalar güncelliğini muhafaza ekmekte ve giderek artmaktadır. Bu nedenle yeni daha hızlı, yüksek özgünlük ve daha hassas teşhis teknolojileri geliştirmek çok önemlidir.

Günümüzde kanser hastalığının erken tanı ve tedavisi için genomik, protein ve son zamanlarda ise metabolomik teknikleri kullanılmaya başlanmıştır. Omik teknolojileri klasik moleküler biyolojinin tersine, değişik kimyasallara ve toksisite türlerine verilen hücresel cevabın saptaması için faydalanılan teknolojilerin kullanılmasına fayda göstermektedir. Neticede son derece büyük ölçekli mekanik bilgi elde edilebilir.

Bir hücre veya canlıdaki metabolizmanın hepsi metabolom olarak adlandırılmaktadır. Yapılan metabolomik çalışmalarında, metabolomdaki küçük molekülü metabolitlerin NMR spektroskopisi ve LC-MS/MS gibi çok yönlü ve yüksek verim elde edilen teknikler kullanılarak tanımlanması ve ölçülerinin belirlenmesi hedeflenmektedir. Metabolitlerin seviyeleri hücresel fonksiyonların işleyiş bilgilerini

göstermektedir. Bunun neticesi olarak genetik veya çevresel farklılıklara bağlı hücrenin veya dokunun fenotipini tanımlamaktadır. Metabolomik çalışmalar bu özelliği ile kişiselleştirilmiş ve öngörülebilir canlı sağlığına yönde olanak sağlamaktadır.

Günümüzde meme hastalıkları her 100 kadından beşine tesir eden yapısıyla kadın memesinde en çok görülen malign oluşumdur. Epitel yapısı göre iki tipte meme karsinomları; In situ karsinom ve invaziv karsinom olarak iki grup meme kanseri mevcuttur. Malign meme tümörlerinin önemli kısmı adenokarsinomlar oluşturmaktadır. Günümüzde bu tümörlerin memenin terminal duktal lobuler biriminden köken aldığı kabul görmektedir. Diğer malign tümörler sınıflı (Phyllodes tümör, skuamöz hücreli karsinom, sarkom ve lenfoma gibi adenokarsinomlar) ise %5'den az bir grubu oluşturmaktadır.

Yapılan çalışmalarda farklı kanser hastalarında kanserin bu hastaların protein, lipit ve karbonhidrat metabolizmalarında farklı bozukluklara sebep olduğunu görülmüştür. Cooper & Hausman, 2000; Malign tümöre sahip hastalar; genelde hepatik protein sentezi ve protein turnover artmış. Kas protein sentezi azalmış ve protein yıkımının artmasıyla kendini göstermektedir. İlerleyici gelişim seyreden kanserli hastalarda Yeme bozukluğu (Anoreksiya), kilo kaybının olması ve doku harabiyeti gerçekleşmektedir Bu durum genel metabolizma bozukluğu ve kaşeksi (aşırı zayıflama) ile sonuçlanmaktadır.

Aminoasit profilleri incelemelerinde kanser hastalarının genelde aminoasit profillerinde değişikliklerin olduğu farklı çalışmalarda ortaya konmuştur. Meme kanserine yakalanmış hastalarında glutamik asit, triptofan ve ornitin gibi aminoasitlerinin plazma seviyelerinin önemli düzeyde yükseldiği görülmüştür Bununla birlikte meme, baş, boyun ve gastrointestinal sistemi kanserli hastalarda özellikle yedi adet aminoasidin plazma seviyelerinin (sistein, alanin, treonin, histidin, ornitin ve glutamin) bilinen tanı ile münasebetli görülmektedir. Bu amino asitlerin kendine özgü karakteristik plazmada serbest aminoasit profillerini oluşturabilme ihtimalinin bu tür hastalıkların teşhis ve kökenlerinin açıklanmasında önemli görevler yüklenebileceğini düşünülmektedir.

Bu çalışmadaki amacımız meme kanserleri MCF-7, MDA-MB-231 ve CRL-4010 (HR<sup>+</sup> ve Triple-negative) ve normal hücre hattı arasındaki hücre içi serbest aminoasit profili çıkarılarak hastalığın oluşum mekanizmasının altında yatan moleküler mekanizma belirlenecek ve bu farklılıklardan yararlanarak erken tanı ve tedaviye yönelik yöntemler geliştirmektir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kanser

Günümüzün en önemli sağlık sorunlarından biri olarak kabul edilen kanserin en eski tanımına Mısır papirüslerinde rastlanılmıştır. Hipokrat Milattan Önce (460-377) organizmanın şifa bulmayan oluşumları için yunanca yengeç anlamına gelen ‘karkinos’ ya da “karkinoma”, terimlerini kullanmış bu terimler İngilizceye çevrilirken de ‘cancer’ veya ‘carcinoma’ olarak geçmiş ve günümüzdeki terminolojiyi oluşturmuştur (1).

Kadınlar arasında görülen en sık meme kanseri ve malign kanser türüdür. Ülkemizde meme kanseri insidansı 2011 verilerine göre % 0.5 artarak 2012 de 51.990 hasta ile kadın kanserlerinde %23 lük bir paya sahiptir (2). Her yıl Avrupa’da 180.000, ABD (Amerika Birleşik Devletleri’nde) her yıl 184.000 meme kanserinde yeni vakalar tespit edilmiştir. Meme karsinomu insidansı dünya genelinde ülkeden ülkeye kıtadan kıtaya farklılık göstermektedir. (Şekil 2-1) Gelişmiş ülkelerdeki meme kanseri insidansı ve ölüm oranı çok yüksekken Asya ve Afrika’daki gelişmişlik daha az olan ülkelerde meme kanseri insidansı ve ölüm oranı daha azdır (Ozmen V ve ark. 2008) (3). Kanada, Kaliforniya ve Hawaii’de yıllık 80–90/100.000 görülme büyüklüğü ve sıklığı nedeniyle ilk sıralarda yer alır ve aynı oranda Japonya’da ise sadece 12–15/100.000 arasındadır. 1970’ten beri Çin, Japonya ve Singapur’da ekonomideki iyileşme trendi, batı tarzı örnek alınıp gelişim ve doğurganlığın giderek batıdaki gibi azalması nedeniyle meme kanseri görülme sıklığı rakamsal fark giderek azalmaktadır. Meme kanseri insidansındaki en büyük artış A.B.D, Kanada, İsveç’te ve İspanya ortaya çıktığı gözlemlenmiştir (4).

#### 2.1.1.Meme Kanseri ve Oluşum Mekanizmaları

Kanser, genel bir ifadeyle kontrolsüz hücre çoğalması olarak tanımlanabilen, gelişimi ve neticeleri bakımından bir hastadan diğer birine değişkenlik gösteren karışık bir hastalıktır. Kanseler iki kalıtsal özellik ile tanımlanırlar. Bu özelliklerden biri kanser hücrelerinin hücre bölünmesindeki kontrol mekanizmalarına karşı koyarak çoğalmaları, diğeri ise başka hücreler için ayrılmış alanlara yayılıp ve



yerleşebilmeleridir. Hücre çoğalmasındaki denetim kayboluyorsa bir tümör ya da neoplazmaya, yani anormal hücreler kitlesinin oluşumuna neden olur. Neoplastik hücreler tek bir kitle içinde öbek halinde durdukları sürece bu tümörler benign olarak isimlendirilir. Benign tümörler genelde çevresindeki normal dokuyu istila etmezler, eğer ederlerse de bu istila sınırlı olacaktır. Ancak bir tümör kötü huylu ise, yani hücreleri etrafındaki dokulara doğru yayılım özelliği kazanmışsa kanser olarak kabul edilir. Bu yayılma veya istila genellikle bütünlüğü bozma, kan dolaşımına ya da lenf damarlarına girme ve vücudun başka dokularına, metastaz olarak adlandırılan ikincil tümörler meydana getirme olarak ifade etmektedir (5).

Hücresele seviyede kanser oluşumu ve gelişimi mutasyonları kapsayan birçok aşamadan meydana gelen bir süreç neticesinde, çoğalma, sağ kalım, invazyon ve metastaz yapma kabiliyetleri giderek artan hücrelerin belirlenmesi şeklinde meydana gelir. Bu evrelerin ilk aşamasında tümörün başlangıcında tek bir hücrenin anormal bir şekilde çoğalmasına sebep olan genetik bir değişikliğin sonucudur. Hücre çoğalmasıyla beraber olarak klonal tümör hücrelerinden meydana gelen hücre topluluğu da daha da büyür. Tümörün yayılmasında bu grup içindeki hücrelerde yeni mutasyonların gerçekleşmesi ile devam eder (5).

KontROLSÜZ hücre çoğalmasının yanında, kanser hücresinin başka karakteristik özellikleri de vardır. Bu özellikler arasında büyüme sinyallerinde kendine olan yeterlilik (onkogenler), büyümeyi inhibe eden sinyallere duyarsızlık, apoptozdan kaçabilme, sınırsız çoğalabilme, anjiyogenezi uyarabilme ile invazyon ve metastaz yapabilme (6).

Kanser oluşumu genetik değişiklikler üzerinden gelişen çok basamaklı bir süreçtir. Malign neoplazmada hızlı büyüme, invazyon ve metastaz yapma yeteneği gibi özellikler vardır. Bu karakteristik işlemler aşamalı bir şekilde edinilir ve tümör ilerleyişi olarak tanımlanır. Tümör oluşumunun moleküler temelinde genetik değişiklikler ya da hasarlar söz konusudur ve bu hasarların hedefi olarak dört gen üzerinde durulabilir.

- ✓ Hücrelerde çoğalmayı hızlandıran genlerin (protoonkogen) aktivasyonu (onkogen) olabilir.
- ✓ Büyümeyi baskılayan (tümör supresor) genlerde inaktivasyon görülebilir.
- ✓ DNA hasarlarının onarımını düzenleyen genlerde bozukluklar söz konusudur.
- ✓ Programlı hücre ölümünü düzenleyen genlerde hasarlar söz konudur.

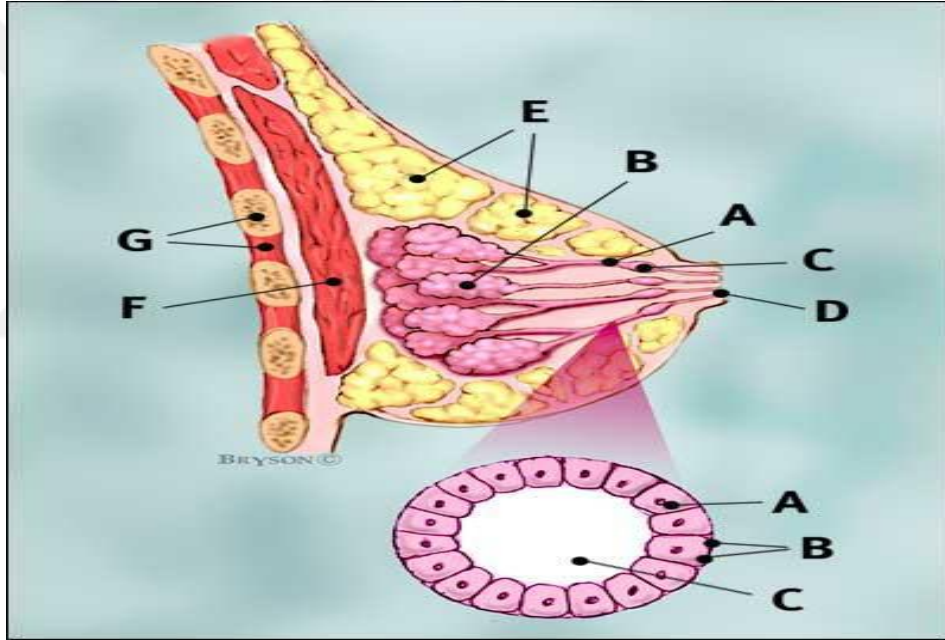
Protoonkogenler, hücrelerin büyüme, çoğalma ve farklılaşma gibi biyolojik süreçlerinin sinyal ileti mekanizmalarında fonksiyon gören pek çok proteinin sentezinde görev alan genlerdir. Büyümemekanizmasını kontrol eden bu genlerde meydana gelen mutasyonlar sonucunda aktivitelerinde değişiklikler meydana gelir ve onkogen haline dönüşümleri söz konusu olur. Onkogenler, gen ekspresyonunu çabuklaştıran genetik değişiklikler neticesinde anormal hücre artışına sebep olmaktadır (7).

Tümörü baskılayan genlerde ise hücre artışının kontrolünde onkogenlerin zıt yönde hareket ederek normal koşullarda hücre artışının ve tümörün gelişimini baskılamaktadırlar. Bir çok tümörde bu genlerin zarar görmesi veyahut aktivitelerinin bozulmasıyla tümör hücreleri anormal bir şekilde artabilirler (7). Kansere yol açan genlerdeki mutasyonların DNA tamir mekanizmalarındaki düzensizlik ya da yetersizlik neticesinde oluştuğu düşünülmektedir. DNA tamir sisteminde ki bozukluk ile meydana gelen genetik dengesizlik, kanserin karakteristik özelliklerini kontrol eden genlerde mutasyonların oluşumuna zemin hazırlar. Genlerde oluşan hasarlar ise, kanser oluşumu için başlıca hedef noktaları olup, sonuçta neoplastik hücrelerin geliştiği hücre çoğalmasının dengelenmesi ve hücre sayısının sabit tutulmasıyla ilişkili olan programlı hücre ölümü aynı zamanda hasarlı ve tehlike potansiyeli olan hücrelerin ortadan kaldırılmasıyla bir savunma mekanizması sağlar(8). Hücrelerin normal apoptotik süreçten kurtulmalarını sağlayan hususiyet kazanmaları kanser hücrelerinde görülen bir özelliktir. Tümör hücreleri antiapoptotik proteinlerin çok fazla üretilmesiyle veyahut 5 proapoptotik proteinlerin azalmasıyla apoptoza dirençli bir özellik kazanırlar. Kanser hücrelerinin programlı hücre ölümünden etkilenmemesi tümör gelişimini hızlandırır (9). Kadınlarda en çok görülen kanser, meme kanseri türü olup, kadınlarda görülen tüm kanserlerin takribi % 30'unu teşkil etmektedir.. Meme kanserinin 30 yaşından önce görülmesi nadir olup, yaşla birlikte insidansı artmaktadır Meme kanserinin bu kadar sık

görülmesi, günümüz şartlarında erken safhada tanınma olanağının olması, hastalığın önemini daha da (10-11).

Biyolojik ve klinik açıdan meme kanseri heterojen özellikler göstermektedir. Bu nedenle kanser gelişimine sebebiyet veren moleküler mekanizmaların ve her hastanın tümörünün özelliklerine göre belirlenmesi ve buna uygun en etkili tedavi yönteminin uygulanması büyük önem arz etmektedir (12)

Meme kanserini sınıflandırmadan önce normal meme dokusu hakkında kısa bir bilgi vermek gerekirse;



Şekil 2.1. Normal Meme Kesiti

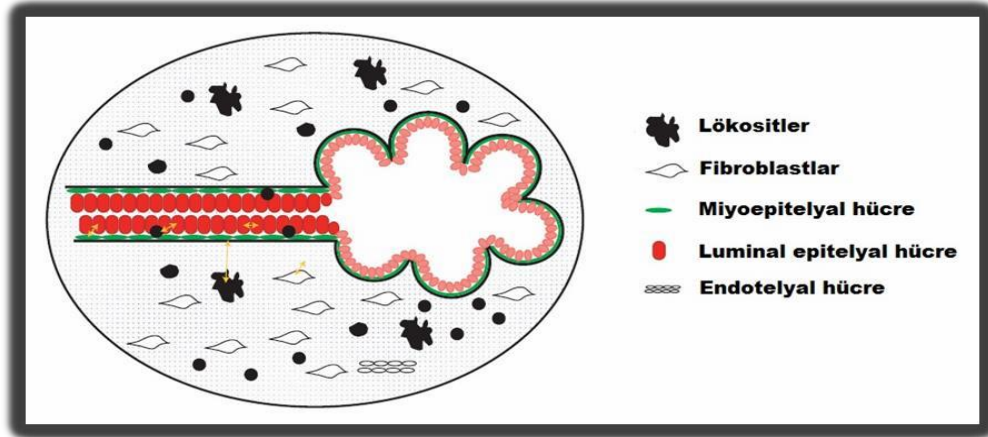
A.Kanal – B. Lobüller – C. Kanalin süt tutan geniş kısmı – D. Meme ucu - E.Yağ Bezesi – F. Pectoralis Kası – G. Göğüs kemiği

## 2.2. Meme Doku Histolojisi

Meme dokusu ortalama 6-10 ana kanal sisteminin bir çok dallara ayrılması ve bu dalların her birinin lobüllere ayrılmasıyla oluşan tubuloalveoler bez yapılarıdır. Meme arada fibröz bağ dokusu, yağ dokusu, kan ve lenf damarları, periferik sinirler ile meme

başı bulunan üzeri deri kaplı bir dokudur. Her meme ortalama 10-20 lob içerir ve her bir lob, ana duktus ile meme ucuna (12).

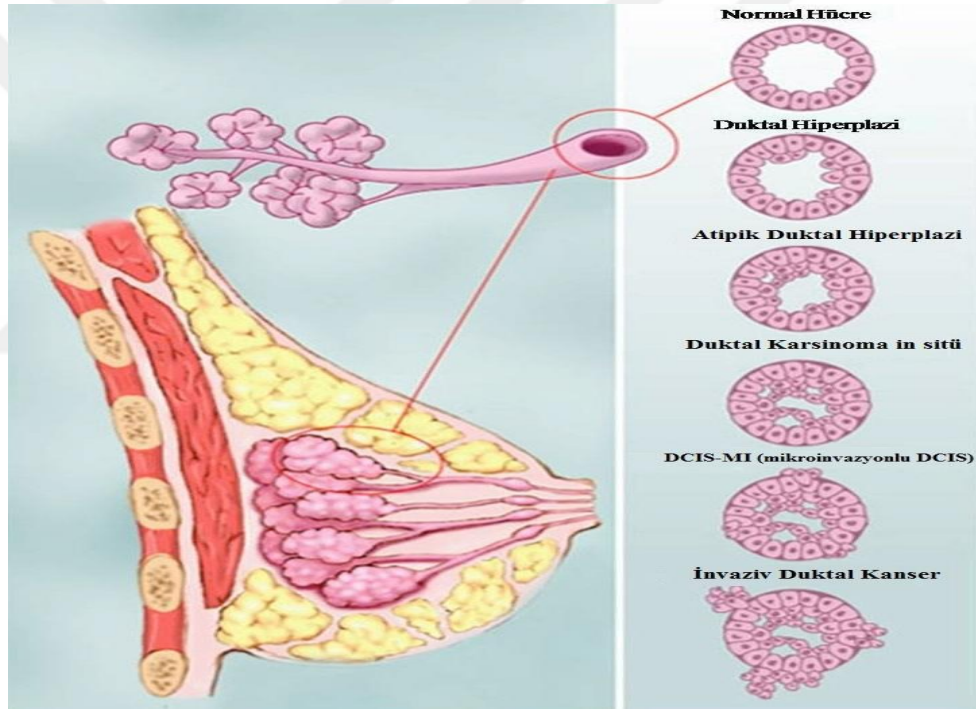
Meme bezi, organın uygun gelişimi ve fonksiyon göstermesi için gerekli kompleks iletişim ağları oluşturan birçok hücre tipinin kombinasyonundan oluşmaktadır. Dallanan süt kanalları bazal membranı oluşturan dış mioepitel hücre tabakasından ve laktasyon (süt salgılama) sürecinde süt üreten iç luminal epitel hücre tabakasından oluşmaktadır. Kanallar ekstraselüler matriks ve çeşitli stromal hücre tiplerinden (endotelial hücreler, fibroblastlar, miyofibroblastlar ve lökositler gibi) oluşan mikro çevre ile kuşatılmıştır (Şekil 2). Yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen verilerin çoğu, hücre-hücre ve hücre-mikro çevre etkileşimlerinin meme epitelial hücrelerinin çoğalması, hayatta kalması, farklılaşması ve invazyon kapasitelerini değiştirdiğini göstermektedir. Ancak bu etkilerin altında yatan moleküler mekanizmalar tam olarak anlaşılammıştır. Yapılacak hücre kültürü ve hayvan modelleri çalışmalarıyla normal ve neoplastik insan meme dokularındaki her bir hücre tipinin kapsamlı karakterizasyon analizleri ile bu hücrelerin meme kanserinde ve meme bezinin normal fonksiyonlarındaki rollerinin anlaşılması muhtemeldir (13).



Şekil 2.2. Normal meme kanal ve lobül yapısının şematik görünümü (13).

Şekil ikide siyah çizgi bazal membranı göstermektedir. Kanallarda miyoepitelyal hücreler, luminal epitelyal hücrelerin etrafında neredeyse tam bir tabaka halinde bulunurlar. Sarı oklar potansiyel hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimlerini göstermektedir (13).

Malign meme tümörlerinin önemli bir kısmı adenokarsinomlardır. Günümüzde bunlarınmeme dokusunun terminal duktal lobuler kısmından kaynaklandığı kabul edilmektedir. Skuamöz hücreli karsinom, phyllodes tümör, sarkom ve lenfoma gibi adenokarsinom sınıflı öteki malign tümörler ise %5'den az bir grubu teşkil etmektedir.



Şekil 2.3.Meme Dokusunda Kanser Gelişimi



Şekil 2.4. Meme Kanseri Tipleri

### 2.3. Meme Kanserinin Histopatolojik Sınıflaması

1982 yılında meme tümörlerinin histolojik sınıflaması, DSÖ tarafından aşağıdaki şekilde yapılmıştır (11,12).

Meme karsinomları; In situ karsinom ve nvaziv karsinom olarak iki grup meme kanseri mevcuttur.

#### A) In situ karsinom

- In situ duktal karsinom
- In situ lobuler karsinom

#### B) İnvaziv karsinom

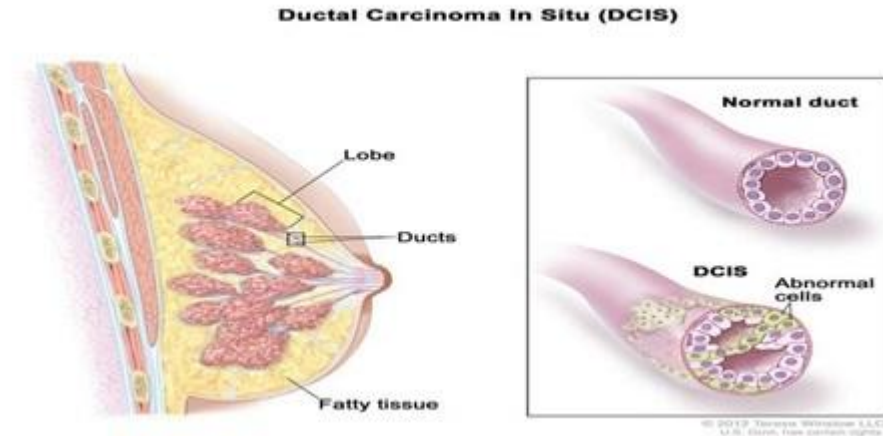
- İnvaziv duktal karsinom
- İnvaziv lobuler karsinom
- Tubulerkarsinom
- İnvaziv kribiform karsinom
- Medülller karsinom
- Müsinöz karsinom
- İnvaziv papiller karsinom
- İnvaziv mikropapiller karsinom

- Apokrin karsinom
- Sekretuar (juvenil) karsinom
- Adenoid kistik karsinom
- Metaplastik karsinom
- Nöroendokrin karsinom
- İnflamatuar karsinom

Kanser hücreleri kanal veya lobüle sınırlı olup bazal membranı aşmıyorlarsa in situ karsinom, bazal membranı aşıp stromaya invazyon yapıyorlarsa invaziv (infiltratif) karsinom olarak değerlendirilirler (9).

### 2.3.1. İn Situ Karsinomlar (Noninvaziv)

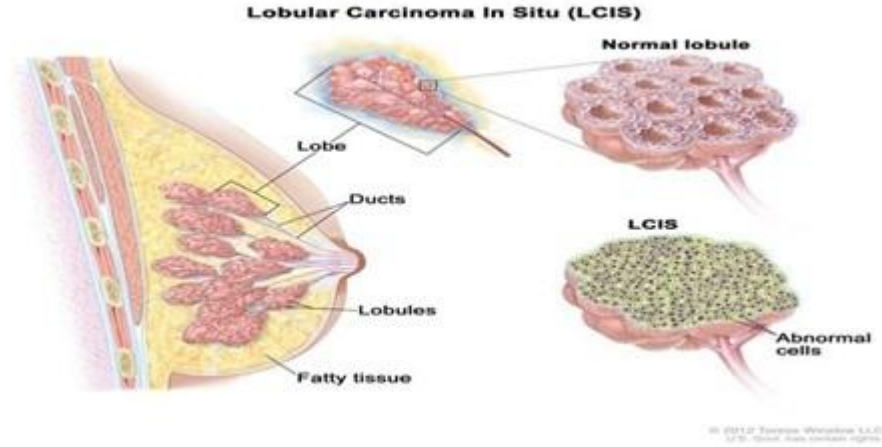
**DCIS (İn situ duktal karsinom):** DCIS, küçük kanallardaki epitelin proliferasyonu ile karakterizedir (Şekil 5). Genellikle fizik muayenede ele gelen kitle saptanmaz ve mamografide mikro kalsifikasyonlar şeklinde bulgu verir. DCIS'li kadınlarda invaziv meme kanseri gelişme olasılığının 5 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (10).



Şekil 2.5. İn situ duktal karsinom

**İn Situ Lobuler Karsinom (LCIS):** Memenin kanal uçlarındaki lobüler ünitelerinden kaynaklanır ve mamografide patolojik bulgular nadiren görülür. Tanılar genellikle başka nedenlerden dolayı yapılan biyopsi sonucu tesadüfen konulur. Komşu stroma içerisinde görülen mikro kalsifikasyonlar tipik bir in situ lobüler karsinom

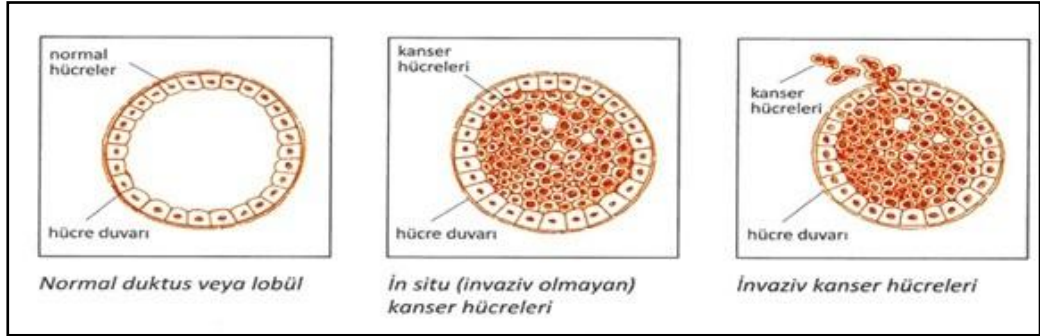
bulgusudur. %25-35 oranında invaziv meme kanserine değişim gösterdiği bildirilmiştir (10).



Şekil 2.6. İn Situ Lobuler Karsinom

### 2.3.2. İnvaziv Karsinomlar

**İnvaziv Duktal Karsinom:** Meme kanserlerinin tümünde yaklaşık olarak %75'lik kesimini oluşturur. Kalsifikasyon sıktır (10,11).

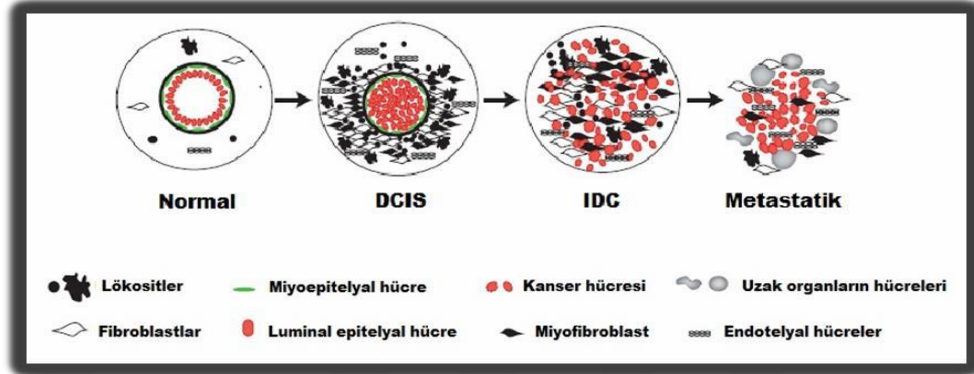


Şekil 2.7. İnvaziv Duktal Karsinom

**İnvaziv Lobuler Karsinom:** Meme karsinomlarının yaklaşık %15'ini İnvaziv karsinomlar oluşturmaktadır. Kalsifikasyon invaziv duktal karsinoma göre daha az görülür ve metastazlarını daha çok peritoneal ve meningeal yüzeyler gibi yayılım sıklığı daha düşük olan bölgelere yaparlar (10,11).



Yapılan çalışmalarda patoloğlar, meme kanserlerinin lenfositik infiltrasyon, fibrozis, anjio- ve lenfanjiogenez gibi histopatolojik özelliklerinin prognostik değerini belirtmektedirler (13).



Şekil 2.8. Tümör gelişimi süresince mikro çevresel değişimler (Polyak & Kalluri, 2010). (13)

Normal meme, Duktal Karsinoma In situ (DCIS), İnvaziv Duktal Karsinoma (IDC) ve Metastatik meme karsinoma'nın şematik görünümü. Normal meme kanalları, bazal membrandan ve miyoepitelyal hücrelerin oluşturduğu bir dış tabakanın üzerinde bulunan luminal epitelyal hücrelerin oluşturduğu bir iç tabakadan oluşmaktadır. Stromayı oluşturan hücreler arasında lökositler, fibroblastlar, miyofibroblastlar ve endotelyal hücreler bulunmaktadır. DCIS'da, miyoepitelyal hücreler epigenetik ve fenotipik olarak değişime uğrar ve sayıları tümör epitelyal ile çeşitli stromal hücrelerden gelen sinyaller nedeniyle potansiyel olarak azalır. Tümör ilerlerken, stromal fibroblastlar, miyofibroblastlar, lenfositler ve endotelyal hücrelerin sayıları da artış göstermektedir (13).

## 2.4. Meme Kanserin Etiyolojisi

### 2.4.1. Endokrin Etkenler

#### a) Üreme İle İlgili Etkenler

Artan etkenler ilk primer meme kanseri için risk etkenleri olarak tespit edilmiştir (14). İleri yaşlarda menarş, (ilk adet görme) erken menopoz, erken yaşta

gebelik ve gebe kalma sayısındaki artış, süt emzirme süresinin normalden fazla uzaması azalmış meme kanseri riski ile bağlantılı olduğu görülmüştür (15).

Artan etkenlerin ve kontralateral memede kanser olma riski bakımından Breast Cancer- (1BRCA-1) ve Breast Cancer-2 (BRCA-2) mutasyonu olanlar ve olmayanlar arasında anlam ifade eden kayda değer bir fark tespit edilmedi (16).

Erken adet görme yaşı, meme dokusunun östrojene tabi kalma süresini uzatır. Bu nedenle erken menarşın meme kanseri riskini arttırabildiğine inanılmaktadır (17).

Adet kanaması yaşı ile birinci doğumunu yapma yaşı arasındaki zamanın uzun olması meme kanseri riski ile paralel bulunmuştur. Uzun süre devam eden emzirmenin yumurtlama dönemi sayısında azaltmaya yol açarak koruyucu bir etki sağladığı düşünülmektedir. (18,19).

Hiç doğum yapmamış ya da daha önce evlenmemiş kadınlarda meme kanserine yakalanma ihtimali daha çoktur. 35 yaşından sonra ilk doğumunu yapma ve ileri yaşta menapoza girme meme kanserine yakalanma ihtimalini arttırdığı görülmüştür (20,21). Yapılan geniş çaplı bir çalışmada, 27,397 invaziv meme kanserine yakalanmış kadınlarda artan etkenler ile farklı histolojik türde meme karsinomu arasındaki ilişki bildirilmiştir. İlk adet görme yaşı ve ilk doğum yapma yaşında özellikle lobüler meme karsinomu ile bağlantısının olduğunu göstermiştir. Artan doğum sayısı duktal, lobüler, tübüler ve husussan müsinöz türler için az risk meydana getirmekle beraber medüller kanserde bir artışa neden olduğu görülmüştür. Artan faktörlerin hangi sistemle meme kanseri gelişimine etki sağladığı tam anlaşılamamaktadır. Bununla beraber gebelik ve laktasyon dönemindeki hormonal değişimlerin koruyucu etkisi olduğu düşünülmektedir (22).

Hormon yerine koyma tedavisi duktalden daha çok lobüler ve tübüler kanserde riskte yükselişe neden teşkil etmektedir (23). Lobüler meme dokusunun hormonlara duktal dokudan daha hassas olduğu düşünülmektedir (24).

## **b) Hormonal Etkenler**

Doğum kontrol hapı kullanımı süresi ile meme karsinomu riskinin artması bağlamında kayda değer bir ilişki görülmemiştir (25).

45 yaş altı kadınlarda yapılan çalışmalarda uzun süreli doğum kontrol hapı kullanımının meme kanserine yakalanma riskinde artışa neden olduğu görülmüştür (26).

### **2.4.2.Genetik Etkenler**

Meme kanserlerinin önemli çoğunluğunda tek tük vakalar görülmesine rağmen yaklaşık %5-10 büyüklüğünde genetik nedenlerle aileden gelen meme kanseri vakaları ortaya çıkmaktadır (27).

Meme kanserine yakalanmış olan annenin, kendi kızı ve kız kardeşlerinde de meme kanserine yakalanma ihtimali normal nüfustan 2 kat daha yüksektir. Meme kanseri öyküsü olanların ailesinde daha erken yaşlarda meme kanseri olma riski fazla olmakla birlikte bu tür kanserler bilateral olma eğilimindedirler (20,28). Son zamanlarda aileden gelen meme kanseri ile alakası olabileceği düşünülen kimi genler ayırt edilmiştir. (29,30).

Bu genlerden bir tanesinde BRCA-1, 17q21'e yerleşmiştir. Mutasyon neticesinde aileden gelen meme ve over karsinomlarında görev aldığı görülmüştür. BRCA-2 geni kromozom 13q12'ye yerleşik olup hastalığın erken dönemde meydana gelmesinde ve bilateral olması önem arz etmektedir. Bu genlerdeki germ hücre türü mutasyonlarını ihtiva eden kadınların hayatlarının her hangi bir zamanında meme kanserine yakalanma risklerinin %50-80 arasında değişkenlik göstermektedir (27). Meme karsinomuna yakalanmış bir kadında hayatı boyunca ikinci bir defa meme kanserine yakalanma olasılığı % 25-30'dur. Meme koruyucu cerrahi olan kadınlarda cerrahi sonrası geriye kalan meme dokusu kansere yakalanma riski ile karşı karşıyadır. Ama bu riskin karşı memede de oluşma risk her yıl % 0.5-1'dir (31).

### **2.4.3. Diyetin Etkisi**

İnsan diyetinde çok çeşitli doğal karsinojenler maddeler bulunmakta olup, bunların çoğunun oksijen radikalleri oluşturarak DNA hasarına yol açabileceği bilinmektedir (32).

Genel yargı yağdan zengin olan gıdalarla beslenmekle meme karsinomuna yakalanma riskini arttıracak yönündedir. Günlük öğünlerde hayvansal yağların % 10'dan fazla olması meme kanserine yakalanma riskini arttırdığı görülmektedir. Buna karşın günlük öğünler hayvansal yağın % 5'in altında olması ve özellikle hayvansal yağ içermeyen günlük öğün diyetleriyle beslenme, tümörün büyümesini dahi bastırdığını ve hatta engelleyebildiğini göstermektedir. (20,33).

Bitkisel liflerden zengin yiyeceklerin insan babağındanER emilimini engellediğı için meme kanserini engelleyebileceğı düşünölmektedir (34). Alkol tüketimi olan kadınlarda da meme kanseri göröleme oranı daha fazladır (20). Meme karsinomunda diyetin yapmanın etkisi çocuk veya Adölesan dönemde erken yaşlardameydana gelir. Geç yaşlarda yapılan diyet değışikliğinin riskin azalmasında hiç bir katkısı görölmemiştir (35).

### **2.4.4. Sosyal ve Ekonomik Durumun Etkisi**

Sosyal ve ekonomik pozisyonun meme karsinomu insidansı, ölüm oranı ve survisiyle münasebet olduğunu göstermiştir. Sosyal ve ekonomik seviyesi düşük ve kötü olan kadınlarda meme kanseri nedeni ileölüm oranının daha yüksek olduğu görölmüştür (36).

### **2.4.5. Radyasyona Maruziyet Kalma Durumu**

Meme kanserinde en çoktespit edilen en önemli etyolojik etken radyasyona maruz kalınmasıdır (35). İkinci Dünya Savaşı sonrasında radyasyona maruz kalmış genç kızlarda meme kanseri açısından kanıtlanmış bir risk görölmemiştir. Bununla beraber iyonize radyasyon yaşamın ileri evrelerinde bu riski arttırmaktadır (37). İyonize

radasyonun hemşireler, bayan uçuş görevlileri, kimyacılar ve yalıtım işçilerinde meme kanseri riskini arttırdığı bildirilmiştir (38).

## **2.5. Meme Kanserindeki Risk Unsurları**

### **2.5.1. Yüksek Risk Unsurları**

Meme kanserinde risk faktörleri yaş, coğrafik varyasyonlar, ilk adet ve gebelik yaşı, menapoz, aile hikayesi, önceki benign meme lezyonları, radyasyon, diyet, kilo, alkol kullanımı ve sigara olarak gösterilmektedir.

**Cinsiyet Etkisi:** (Dişi) Kadın olma.

**Yaş Etkeni:** İlerleyen yaşla birlikte risk giderek artmaktadır. Vakaların ekseriyeti 40 yaşın üstünde görüldüğü bildirilmiştir. Fakat, genç yaşta annesinde ya da kız kardeşinde kanser tespit edilmişse, bu kişide risk altında olup erken yaşlarda meme karsinomu gelişebilmektedir (39,40). Menopoz sonrası her 20 yılda bu insidans dört kat hızla ilerlemektedir. Meme kanserini akciğer kanseri ile karşılaştırıldığında gençlerde meme kanseri insidansının daha yüksek olduğu görülmüştür (37).

**Coğrafik Çeşitlilik Etkeni:** Batı ülkeleri ile uzak doğu ülkeleri karşılaştırıldığında meme kanserine yakalanma sıklığı birbirinden epeyce farklıdır ve bu fark her geçen gün azalmaktadır. Japonya'dan Hawai'ye göç eden göçmenlerle yapılan çalışmalarda, göçmenlerin meme kanseri oranının bir veya iki nesil sonra göç ettikleri yerlerin seviyesine yaklaştığı görülmüştür. Bu da çevresel faktörlerin genetik faktörlere göre daha önemli olduğunu düşündürüyor (37).

**İlk Adet Görme Yaşı (Puberte) ve Menapoz Durumu:** Menstruasyona başlama yaşı erken olan veya geç menopoza giren kadınlarda meme kanserine yakalanma riskinin yüksek olduğu rapor edilmiştir. 55 yaşından sonra doğal olarak adet kanamsı son bulan kadınların, 45 yaşından daha önce menapoza girmiş kadınlara göre yaklaşık olarak iki kat daha fazla meme karsinomu oluşma riski taşıdığı bildirilmiştir (41).

**İlk Hamile Kalma Yaşı Etkisi:** Daha önce hiç çocuk sahibi olamamış bir kadının ve ayrıca ilk doğumunu ileri yaşta gerçekleştiren kadınlarda yaşam süresindeki meme kanseri insidansının arttığı belirtilmiştir (42). 30 yaşından sonra ilk çocuğa sahip olan kadınların meme karsinomuna yakalanma riskinin, 20 yaşından önce ilk çocuğa sahip olan kadınlara göre iki kat daha fazla olduğu bildirilmiştir. En fazla risk taşıyanlar 35 yaşından sonra çocuk sahibi olan kadınların olduğu görülmüştür. Bunların hiç çocuk sahibi olamayan kadınlardan da 12 daha fazla risk altında oldukları bildirilmiştir. Erken yaşta ikinci çocuğa sahip olmanın meme kanseri riskini daha da azalttığı bildirilmektedir (43).

**Ailede Daha Önce Meme Kanseri Hikâyesinin Olması:** Batı ülkelerinde meme kanserlerinin % 10'undan fazlasının genetik yatkınlıkla alakalı olduğu belirtilmektedir. Meme kanseri oluşumunda genellikle sınırlı penetransla otozomal dominant olarak kalıtımın söz konusu olduğu görülmüş olup, yani her iki cinsiyetle hatta bazı ailelerin kendilerinde kanser gelişimi olmadan da anormal geni aktarabileceği bilinmektedir. Ancak meme kanseri oluşumu ile ilgili olabilecek genlerin sayısı günümüzde tam olarak bilinmemektedir. Yüksek riskli ailelerin (yani yakın akrabalarında beş veya daha fazla meme kanseri bulunması) çoğunda, sırasıyla 17 ve 13 nolu kromozomların uzun kollarına yerleşmiş olan BRCA1 ve BRCA2 genlerindeki bozukluklar sıklıkla bildirilmiş olup, üzerinde önemle durulmuştur (44). Genlerin her ikisinin de çok büyük genler olduğu ve mutasyonların hemen her pozisyonda meydana gelebileceği bilinmektedir. Kadının birinciden akrabası (annesi, kız kardeşi veya kızı) 50 yaşından önce meme kanserine yakalanmışsa, o kadının meme kanseri olma riskinin iki kat veya daha fazla yükseldiği görülmüştür. Eğer daha erken yaşta hastalık gelişimi göstermişse o zaman riskin daha da artabileceği bildirilmiştir (37).

**Daha Önce Gelişen Benign Meme Lezyonları:** Şiddetli atipik epitelyal hiperplazili kadınların, memelerinde herhangi bir proliferatif değişiklik olmayan kadınlara göre, beş ile altı kat kadar daha yüksek oranda meme karsinomu gelişimi riskine sahip oldukları görülmüştür. Bunun yanında ailesinde meme karsinomu öyküsü varsa bu riskin daha da artabileceği ihtimali belirtilmiştir (37).

**Kilo Durumunun Etkisi:** Postmenopozal dönemdeki kadınlarda fazla kilonun meme kanseri riskini iki kat arttırdığı bildirilmiştir. Bununla beraber premenapozal dönemdeki kadınlar arasında insidansın azaldığı gösterilmiştir (45).

**Alkol Kullanım Alışkanlığı Etkisi:** Bir takım çalışmalarda alkol tüketimiyle meme kanseri insidansı arasında bir bağlantı olabileceği düşünülmüş, örneğin yüksek oranda alkol kullanan kadınlarla yapılan bir çalışmada alkol tüketiminin meme kanseri riskini %15 arttırabileceği bildirilmiştir (46). Bununla birlikte meme kanseri insidansı ile alkol tüketimi arasındaki bu ilişkinin tam net olmadığı ve bu ilişkinin alkolden başka diğer etkenlerden de kaynaklanabileceği öne sürülmektedir (37).

**Sigara Kullanım Durumu:** Sigara kullanımının meme kanseri etiolojisindeki önemi tartışmalı bir konu olsa da, meme karsinomuna yakalanma riski ile sigara içimi arasında çok zayıf bir bağlantı olabileceği düşünülmektedir (47).

**Öncesinde Hastada Meme Karsinomu Öyküsünün Olması:** Hususan menopozdan önce oluşan karsinomlar önemlidir. Öncesinde meme karsinomu hastalığı geçiren ve tedavi alan kadınların, öteki memesinde kanser gelişme ihtimalinin meme karsinomu tanısı almamış kadınlara göre 3-4 kat daha fazla olduğu rapor edilmektedir (48).

**Atipi ve Beraberinde Hiperplazi Görülmesi:** Benign meme vakalarının pek çok çeşidi meme karsinomu için predispozan etken olmamaktadır. Bu hadise, hususan fibrokistik meme hastalığı için geçerlidir. Atipik meme hiperplazili, proliferatif hastalığına yakalananlarda risk 5 katı daha fazla artmaktadır. Atipinin meydana geldiği risk, ailesin meme karsinomu hikâyesi olanlardan 10 kat fazla yüksek olduğu görülmüştür (35).

**Parite:** 30 yaşından sonra Nulliparlar ya da birinci doğumunu yapanlarda ve 18 yaşından önce ilk gebeliği gerçekleştirenlerle kıyaslandığında riskin 3-4 kat daha çok olduğu görülmektedir (49).

**Erkeklerde:** Klinefelter sendromu, jinekomasti ve aile içinde meme kanserine yakalanmış erkek hikâyesinin olması riski artırır (35).

### 2.5.2. Orta Dereceli Risk Unsurları

Adet kanaması hikâyesi (erken adet görme yaşının 12 yaşından küçük olması ve geç yaşta menopoza, 55 üstü) uzun süre oraal kontraseptif kullanmak ve HRT (Hormon Replasman Tedavisi) menapoza döneminde hormon tedavisinin risk teşkil etmesi tedavinin zaman aralığı, tercih edilen ilaçlar ve hastadan hastaya farklı özellikler göstermektedir. ER tek başına ve aralıklı kullanımının riski arttırmadığı görülmüştür. Uzun süreli ER kullanımı (5 yıldan fazla) riski arttırmakta ve kombine ER-PR kullanımı bile tek başına ER'den daha çok risk artışı neden olmaktadır (50). Yumurtalık, rahim ya da kalın barsak kanser öyküsü olanlar, şeker hastalığı (Diabetes mellitus) teşhisi olanlar, alkollü içki tüketimi alışkanlıkları, şişmanlık (Menapoza öncesi dönem).

### Riski Azalmasına Etki Eden Unsurlar

- Asya ırkından olma
- Erken yaşta menopoza girme
- 50 yaş öncesi bilateral Ooforektomi (50,51)
- Süt emzirme süresi (52,53)
- Gebe kalma yaşının < 20 (54)
- İlk adet kanamasının 14 yaşından sonra olması (14)
- Artan doğum sayısı (14,54)
- Fiziksel aktivite artışı (55,56)
- Selektif östrojen reseptör modülatörü kullanım oranı (57)

### 2.5.3. Risk Unsuru Olmayanlar

Benign meme lezyonları (58). Diyet yapmak (diyetsel fitoöstrojenler, çay, kahve, diğer kafeinli içecekler, sebzelerin ve meyvelerin risk açısından kayda değer bir etkisi saptanmamıştır) (59,60). İlaçların kullanımı (antibiyotikler, aspirin ve nonsteroid



antiinflamatuvarların tutarlı bir etkisi saptanmamıştır) (61).meydana gelendüşükler (62,63), sigara kullanımı (63).

## **2.6. Meme Kanserlerinin Gruplandırılması**

Meme karsinomubirçok morfolojik farklılıkgösterebilen heterojen bir hastalıktır. Lobüler karsinoma ve duktal karsinoma meme kanserlerindeen fazlagörülen türlerolmakla beraber, DSÖ Meme HTS (Tümörleri Histopatolojik Sınıflaması'nın) son serisinde20'nin üzerinde meme karsinomu histopatolojik türü tanımlanmıştır. Meme kanseri sınıflandırılırken, meme kanserini müsinoz, tübüler, lobüler ve medüller karsinomlar vebenzeri birçok hususi tümör türüne ve hususi olmayan duktal karsinom gibi türlere ayırmaktadır (64).Kanser hücreleri, etrafındaki bazal hücreleri geçtiğinde invaziv, geçmediğinde in situ olarak adlandırılırlar. En çok görülen meme kanseri türü İnvaziv duktal karsinomdur.Bütün meme kanseri hastalarının yaklaşık olarak %75'ini teşkil ettiğigörülmüştür (65).

## **2.7.Meme Kanserinin Safhaları**

Meme kanserli hastalar, hekime ilk başvurdukları zaman hastalıklarının yayılımı açısından farklılıklar gösterirler. Hayatta kalma süresi, tanı konulduğu andan itibaren hastalığın ne kadar yayıldığı (safha) ile ilişkilidir. Safha sadece hayatta kalma süresini belirlemekten ziyade, hastaya uygulanması planlanan tedavi protokolünün belirlenmesi için de çok önem arz etmektedir. TNM (*Tümör-Nod-Metastaz*) parametreleri hayatta kalma süresini daha önceden belirlemede en kuvvetli prognostik etmendir. Günümüzde çoğu yerlerde (UICC) Union İnternational Contre Cancere ve AJCC(American Joint Committee On Cancer'in) şekillendirdiği “(TNM) Tumor-Nodemetastasis Staging” sistemleri kullanımdadır. (66,67) AJCC (Amerikan Kanser Komitesi) dönemsel olarak evreleme standartlarını günceller. 2010'da meme kanseri evrelemesine yeni tertipler getirildi (68).

## **2.8.Meme Kanserinde Prognostik Unsurlar**

Prognostik etken terimi, kanserde tanının konulduğu anda mevcut, tedavinin yapılamadığı durumlarda hasta olmadan hayatta kalma ve genel hayatta kalmakla bağlantılı her çeşit ölçümü tabir etmektedir. Ayrıca tümörün doğal gidişatını daha öncesinde tespit etmek için kullanılabilir. Meme kanserlerinde bu gaye ile kullanılmak olan standart prognostik etkenler Koltuk altı (aksiller) lenf nodu tutulumu ve lenf nodu sayısı, tümörün büyüklüğü, histolojik derece, histolojik alt tıp, nükleer ve Progesteron reseptör (PR) ve Östrojen reseptör (ER) vaziyetini kapsamaktadır. Yaş, ırk, büyüme faktörleri, menapoz durumu, onkogenler, tümör supresor genler gibi belirteçler olası öteki prognostik etkenlerdir.

Üstünde birçok çalışmaya yapılmasına rağmen daha yeni etkenlerin bulunmasında önünde engel olmayan prognostik etkenler aşağıda verilen listedeki gibi çeşitli alt gruplarda ayrılmıştır (69).

### **2.8.1.Fiziksel Unsurlar**

Yaş, kilo, ırk

### **2.8.2.Klinik Unsurlar**

Tümörün kapladığı alan, deriye ve kasa yaptığı invazyon, komşu dokulara sabitlenmesi, Koltuk altı (aksiller) lenf nodu yakılanımı.

### **2.8.3.Patolojik Spesiyalite**

- ✓ Tümörün büyüme şekli, büyüklüğü ve tümörün yerleşim yeri
- ✓ Histolojik tür
- ✓ Tümörün derecesi
- ✓ Koltuk altı (aksiller) lenf nodu tutulumu
- ✓ Damar invazyonu

- ✓ Yaygın intraduktal birleşen
- ✓ Cerrahi sınırlar
- ✓ Deri tutulumu
- ✓ Aksiller lenf nodu değişiklikleri
- ✓ Elastozis
- ✓ Lenfosit infiltrasyonu
- ✓ Tümör nekrozu

Lenf nodlarının vaziyeti, tümörün kapladığı alan, histolojik tip ve histolojik derece meme karsinomundabilinen en mühim prognostik değişkenlerdir.

## **2.9. Meme Kanseri Çalışmalarında Kullanılan Hücre Hatları**

### **2.9.1.MDA-MB-231 Hücre Hattı**

Metastatik bir meme adenokarsinoması olan 51 yaşındaki beyaz bir kadın hastadan elde edilen MDA-MB-231 epitel hücre dizisi, biyomedikal araştırmalarda en sık kullanılan meme tümör hücre dizilerinden biridir. MDA-MB-231 hücre çizgisi, anti-kanser tedavisi değerlendirmesi için prelinik çalışmalarda yardımcı olan ve HER2 negatif olarak kabul edilen CDX (Hücre Hattı Türetilmiş Xenograft) MDA-MB-231 fare modelini oluşturmak için kullanılır. MDA-MB-231 fare ksenograft modelinin klinik öncesi çalışmaları, ileri evre hastalığı olan hastalar için gerekli olan meme kanseri tedavisinin değerlendirilmesinde değerlidir. Xenografting, dokunun bir türden diğerine naklidir. Ksenografting, klinik öncesi kanser araştırmalarında kıyaslama çalışmaları olarak kurulmuştur. Tipik olarak, bağışıklık yetersizliği olan fareler, insan denekleri için etkili bir şekilde hizmet eden çok çeşitli insan tümörlerine ev sahipliği yapar. Xenografting, tümör büyümesi ve ilaç verme aktivitesinin eksiksiz ve doğru bir çalışmasıdır.

## 2.9.2. MCF-7 Hücre Hattı Kökeni

MCF-7 Meme Kanseri Hücre Hattı; bir meme kanseri hücre soyu olan MCF-7 hücreleri, 69 yaşında invaziv duktal karsinomalı beyaz ırktan bir kadının plevral efüzyonundan 1970 yılında izole edilmiştir.

Hücre hattı Herbert Soule ve arkadaşları tarafından 1973 yılında Detroit'te kurulmuştur, enstitüye atıfta bulunarak MCF-7 Michigan Kanseri Vakfı - 7'nin kısaltmasıdır. Kanseri araştırmacıları için MCF7'nin daha öncesinde bir kaç aydan daha uzun yaşama yeteneğine sahip olan bir meme hücre hattı elde etmek mümkün değildi. Morfolojisi epitelial olup, insülin benzeri çoğalma faktörü bağlanma proteinleri sentezler. Ayrıca WNT7B onkogeninin ekspresyonu mevcuttur. HER-2 geninin ekspresyonu normaldir. Meme kanserli ve diğer birçok insanlarda görülen kanserlerin oluşumunda, hücre döngüsü kontrol noktalarından siklin D1'de oluşan mutasyonlar MCF-7 hücrelerinde de mevcuttur (70).

MCF-7 hücre hattında kaspaz -6, -7 ve -9 ekspresyonunun yanı sıra BCL-2 ekspresyonu da oldukça iyidir. Diğer taraftan p53 ve p21 genlerinin ekspresyonu ve düzenlenmesi normaldir (71).

MCF-7 hücrelerinin çoğalma mekanizmalarında; aşırı artmış ER ekspresyonu ve ER (Östrojen) bağlı proliferasyon, EGF'den bağımsız çoğalma, artmış Her-2/Neu/c-ErbB-2 ekspresyonu (72). Artmış N-ras ve Rb proteininin hızlı fosforilasyonu rol oynamaktadır (73).

Yaygın olarak incelenen, meme adenokarsinomundan türetilmiş bir epitel kanser hücre hattı olan MCF-7, farklılaşmış meme epitelinin özelliklerine sahiptir. MCF7 hücreleri, PI3K ve MAPK tutulumunu saptamak için ERK ve Akt fosforilasyonunun kolay tespiti için kullanılabilir. Ayrıca, sitoplazmik östrojen reseptörleri vasıtasıyla, bu hücreler östradiolü işleme yeteneğine sahiptir (74).

**MCF-7 Hücre Hattı İçin Kullanım Alanları:** MCF-7 hücreleri, meme epiteline özgü çeşitli ideal özellikleri koruyan hücre çizgisinin bir sonucu olarak in vitro meme kanseri çalışmaları için faydalıdır. Bunlar, MCF-7 hücrelerinin, hücre sitoplâzmasındaki östrojen reseptörleri yoluyla östradiol formundaki östrojeni işleme yeteneğini içerir. Bu, MCF-7 hücre çizgisinin bir östrojen reseptörü (ER) pozitif hücre çizgisi olmasına yol açar. MCF-7 ayrıca progesteron reseptörü pozitif ve HER2 negatiftir (75).

**MCF-7'nin Özellikleri:** Östrojen duyarlılığının korunmasına ek olarak, MCF-7 hücreleri de sitokeratin'e duyarlıdır. Desmin, endotelin, GAP ve vimentin'e karşı duyarlı değildirler. İn vitro büyüdüğü zaman, hücre çizgisi kubbe oluşturabilir ve epitelyal hücreler tek tabaka halinde büyür. Büyüme, tümör nekroz faktörü alfa (TNF alfa) kullanılarak inhibe edilebilir ve MCF-7 kanser hücrelerinin anti-östrojenlerle tedavisi, sonuçta hücre büyümesinde bir düşüşün etkisine sahip olan insülin benzeri büyüme faktörü proteinlerini modüle edebilir. Bilim adamları, MCF-7 hücrelerinin çoğaltılmasının kolay olmasına rağmen, genellikle yavaş büyüyen bir popülasyon olduğunu keşfettiler. MCF-7 iki katına çıkma süresi tipik olarak 30-40 saattir. MCF-7 hücreleri, tipik hücre büyüklüğü 20-25 mikron olan oldukça büyük yapışık hücrelerdir. Önerilen ortam, 2 mM L-glutamin, 0.01 mg / mL sığır insülini (% 90), fetal sığır serumu (% 10) ve 1.5 g / L sodyum bikarbonat, 0.1 mM esansiyel olmayan amino asitler ve 1 içeren Earle BSS içeren EMEM'dir. mM sodyum piruvat (76).

**MCF-7 hücre hattının kararlılığı:** Genetik olarak, MCF-7 çizgisi intial izole klonu ile tam olarak aynı değildir. Başlangıçta, o zamandan beri 16 kromozomla indirgenmiş 85 kromozom ihtiva eden bir karyotip olarak tanımlanmıştır. Günümüzün MCF-7 hücre çizgisinde 69 kromozom ihtiva eden bir karyotip bulunmaktadır. Ayrıca, Michigan Kanseri Vakfı'ndan MCF-7 hücre çizgisi ile ATCC hücre çizgisi arasında genetik farklılıklar vardır. Bu, ATCC hücre çizgisinin, diğer MCF-7 hücre çizgisinden farklı bir kaynaktan olduğunu gösterir (77).

### 2.9.3.CRL-4010

HME1 hücre çizgisi olan insan meme epiteli, indirgenmiş mamoplasti ameliyatı geçiren (meme kanseri öyküsü yok) 53 yaşındaki bir hastadan elde edildi. HME1 hücreleri, retrovirüs pBabepuro + hTERT vektörü ile enfeksiyonla ölümsüzleştirildi ve stabil klonlar seçilene kadar puromisin içeren tam büyüme ortamında kültürlendi.

- Organizma: Homo sapiens, insan
- Doku: Meme; Meme bezi; epitelyum
- Hücre Tipi: HTERT ile ölümsüzleştirilmiş epitel hücreleri
- Ürün Formatı: Dondurulmuş
- Morfoloji: Epitel benzeri
- Kültür Özellikleri: Yapışık
- Biyogüvenlik Seviyesi 2 [Hücreler SV40 viral DNA dizileri içerir]
- Biyogüvenlik sınıflandırması ABD Halk Sağlığı Hizmet Yönergeleri'ne dayanmaktadır, tesislerinin kendi ülkeleri için biyogüvenlik yönetmeliklerine uygun olmasını sağlamak müşterinin sorumluluğundadır.
- Hastalık Normal
- Yaş 53 yıl
- Cinsiyet Kadın
- Depolama koşulları Sıvı azot buhar fazı (78).

### 2.10.Aminoasitler

Amino asitler proteinlerin başlıca yapı taşlarını oluşturur. Doğada yaklaşık 300 amino asit olmasına karşın, bakterilerden insana kadar tüm canlı türleri 20 amino asidin ve bazen değişiklik gösteren cinslerden teşekkül etmiş proteinlerden oluşmaktadır. Proteinler içerisindeki tüm amino asitler  $\alpha$ -amino asitlerdir ve glisin dışında L-konfigurasyonunda bulunmaktadırlar (79,80).

$\alpha$ -Amino asitler  $\alpha$ -karbon atomuna bağlı bir amino grubu (-NH<sub>2</sub>), bir karboksil grubu (-COOH), bir hidrojen atomu (H) ve bir yan zincirden (R grubu) meydana gelirler.

Amino asitler R gruplarının çözünlük özelliklerine, yani iyonizasyon ve polaritelerine göre beş ana sınıfa ayrılmaktadırlar.

**Polar olmayan alifatik R gruplu amino asitler:** Glisin, izolösin, valin, lösin, alanin bu grupta yer alırlar. Bu amino asitlerin içerdikleri alifatik yan zincirler hidrofobiktir. Valin, lösin ve izolösin dallı zincirli amino asitlerdir. Başka bir gruba sokulması güç olan prolin ve onun modifiye şekli olan hidroksiprolin de bu gruba içerisine dahil edilebilir. Alifatik karakterde yan zinciri ve sekonder bir amino grubu vardır (81).

**R grupları aromatik olan amino asitler:** Fenilalanin, triptofan ve tirozin bu grupta içinde yer alır. Diğer amino asitler ışıktan soğurmaya sebep olmazken, bu sınıftaki amino asitler dalga boyu ultraviyoleye yakın bir bölgede (250-290 nm) ışıta soğurma ederler.

**Polar yüksüz R gruplu amino asitler:** Serin, glutamin, treonin, metiyonin, sistein ve asparagin sisteinin disülfid köprüleriyle bağlanması neticesinde oluşan sistin bu grup içinde yer alır. Su ile hidrojen demetleri yapabilen fonksiyonel grupları bulunan amino asitlerdir. Bu fonksiyonel gruplar serin ve treoninde hidroksil grubu (-OH), sistein ve metiyoninde sülfhidril grubu (-SH), asparaginde ve glutamin ise bunlar amid gruplarıdır.

**Negatif yüklü (asidik) R gruplu amino asitler:** Glutamik asit ve aspartik asit, asidik özellik gösteren amino asitlerdir. Fizyolojik pH değerinde negatif yüklüdürler. Bünyelerindeki ikinci karboksil grubu (-COOH) bu özelliklerini kazanmasına neden olmaktadır.

**Pozitif yüklü (bazik) R gruplu amino asitler:** Arginin lizin, ve histidin bu grupta yer alır. Bazik hidrofilik yan zincirler taşırlar. Özellikle argininin ve lizin yüksek bazik özelliğine sahiptirler.

**Standart olmayan amino asitler:** Protein yapısında yer alan 20 amino asitin fonksiyonunu artırmak için polipeptid zinciri sentezinden sonra değişikliğe uğramasıyla (modifikasyon) meydana gelirler. Hidroksiprolin, hidroksilizin, N-metillizin, fosfotreonin, fosfozerin, sistin gibi bu amino asitler önemli olanlardan bazılarıdır. Protein yapısındaki amino asitleri, standart olmayan amino asitlerden ayırt etmek için standart, primer veya doğal amino asitler olarak adlandırılırlar.

Amino asit metabolizması; organizmada var olan dinamik amino asit havuzuna amino asitlerin girişi üç yoldan sağlanmaktadır. Bunlardan birincisi besinlerle protein alınımı, ikincisi endojen proteinlerin hidrolizi ve üçüncü olarak endojen amino asit sentezi yolu ile olur. Gelişmiş canlılarda 20 çeşit amino asidin sentezinin sadece bir kısmı de novo sentez ile olmaktadır. Bunlara endojen (esansiyel olmayan) amino asitler adı verilmektedir. Organizmada sentez edilemeyen ve besinlerle alınan proteinlerden elde edilen amino asitlere eksojen (esansiyel) amino asitler adı verilmektedir. Metiyonin, fenilalanin, lizin, valin, lösin, izolösin, triptofan ve treonin esansiyel amino asitlerdir (80).

Piruvat ve sitrik asit döngüsünün ara maddeleri glikoneogenez ile glukoza dönüşebildiklerinden, bunları oluşturan amino asitlere glikoplastik yada glikojenik amino asitler adı verilmektedir. Bu amino asitler metiyonin, arginin, prolin, histidin, aspartik asit, asparagin, glutamik asit, glutamin, treonin, serin, sistein, valin, alanin ve glisindir.

Asetoasetat ve asetil KoA üzerinden yağa dönüşen amino asitlere keojenik yada ketoplastik amino asitler diye isimlendirilirler. Bu amino asitler lizin ve lösinidir. Fenilalanin, izolösin, triptofan ve tirozin hem glikojenik hem de ketojenik özellikte amino asitlerdir (80,81).



## 2.11.Kanser ve Aminoasitler

Tümörün ilerlemesi insanlarda ve hayvanlarda konakçı metabolizmasında büyük farklılıklarla bağlantılıdır (82,83). Tümörler daha çok konakçı metabolizmanın kaynaklarıyla beslenen parazitler gibi düşünülebilir. Bu durum konakçıyı kaşeksiye kadar götüren çok ciddi kilo kaybıyla neticelenir (84). Kanserdeki kaşeksinin temeli konakçının protein kitlesinde ciddi kayıplara neden olmasıdır. İskelet kas kütleindeki eksilme takribi olarak %75'i bulabilir (85). Malign tümörlerin varlığında genellikle glukoneogenez (86,87) azalmış, negatif azot dengesi (88), artmış, kas protein bileşimi artmış kas protein yıkımı gibi metabolik değişiklikler meydana gelmektedir (89,90). Neticede protein turnoveri tümörün gelişimi esnasında oldukça artar (91-92).

Plazma amino asitlerinin seviyeleri vücuttaki amino asitlerin akışın tesir eden tüm faktörlerin net tesirini göstermektedir (93). Tümörün varlığında oluşan değişikliklerin bu hastaların plazmalarındaki amino asitler tarafından iletiliyor olabileceği düşünülmektedir (94). Bu maksatla, plazma amino asit profilinin kanserle bağlantılı protein metabolizmasının varyasyonu için bir marker olarak rolü alabileceğine dair farklı araştırmalar yapılmıştır (81,83,84,86).

Kanserli hastalarla sağlıklı kontrol hastalarındaki plazma amino asit seviyeleri karşılaştırıldığında ise esansiyel olan ve olmayan amino asit dağılımlarında bir ayırım bulunmadığını; yalnız kanser hastalarında ornitin seviyesinin artmış olduğu olduğunu bildirmişlerdir. Sağlıklı bireylerle meme kanseri olan hastalar mukayese edildiğinde hastaların plazmalarında asparagin miktarının ise yüksek, valin ve glutamat miktarının düşük olması dışında önemli bir farkın olmadığı saptamışlardır. Kültür ortamlarının tümünde alanin miktarı artmıştır, glutamin ve sisteinde azalma vardı (95). Meme kanseri hastaları üstünde yapılan bir çalışmada ise asparaginin yüksek olduğu; valin ve glutamik asidin düşük olarak bulunmuştur. Bu gibi hastaların plazmalarında aspartatın düşük olduğu; glutamin asparagin ve hidroksprolinin yüksek olduğu bildirilmiştir (96). Cascino ve arkadaşlarının yaptığı farklı bir çalışmada amino asit profili araştırmasında, meme kanseri hastalarının plazmalarındaki triptofanın, ornitin, glutamik asit önemli seviyede yükselmiş olduğunu görülmüştür (83). Meme, gastrointestinal sistem ve baş ve

boyun kanseri hastalarının amino asit amino asit profilini analiz eden başka bir çalışma; yedi tane amino asidin (glutamin, treonin, histidin, sistein, alanin ve ornitin) plazma konsantrasyonlarının sağlıklı kontrollere göre daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bu üç (Meme, gastrointestinal sistem ve baş ve boyun kanseri) malign hastalıkta dolaşımdaki amino asit seviyelerinin, malignitenin yerleştiği organ bölgesinin teşhisi ile bağlantılı olduğu görülmüştür (82). Bu çalışmalar neticesinde bazı kanserlerin kendi yapısına özgü plazma amino asit profillerini oluşturma ihtimali bu hastalıkların teşhis ve nereden aldığı köken aldığı konusunda amino asitlerin önemli rollerinin olduğu düşündürmüştür (82,85). Daha önce açıklandığı üzere, günümüz kadınlarının önemli bir problemi olan ve bulunduğu bireylerin yaşamlarının sonraki dönemlerinde meme kanseri gelişimi yönünde belirgin bir risk faktörü olarak belirlenmiş farklı meme kanseri hücre tiplerinin (MCF-7, MDA-MB-231 VE CRL-4010) serbest aminoasit profilinin incelenmesi ve amino asit profilini ortaya koyan bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Hücre Kültürü

##### 3.1.1. Materyal / Metot

**Hücreler ve Kültür Koşulları:** Çalışmada ATCC'den temin edilip stokladığımız; İnsan meme kanser hücreleri (MCF-7, MDA-MB-231) ve normal meme (CRL-4010) hücreleri kullanıldı. Kullanılan hücrelerin beslenmesi ve büyümesi için DMEM-F12 ve RPMI-1640 besi ortamı, %10 FBS ve %1 L-glutamin, %1 penisilin/streptomisin kullanıldı.

Hücreler  $-80^{\circ}\text{C}$  den alınarak su banyosunda  $37^{\circ}\text{C}$ ' de çözünmesi sağlandı. Tüpler %70 lik alkol ile dezenfekte edilerek steril kabin içerisine alındı. Çözdürülen hücre solüsyonu, falkon tüpe alınan besi ortamına dikkatlice transfer edilip 5000 rpm 5 dk santrifüj edildi, oluşan pellet ve süpernatant karıştırılmadan dikkatlice kabin içerisine alındı. Vakum sistemi kullanılarak pellete dokunmadan süpernatant kısmı uzaklaştırıldı. Pellet halindeki hücrelerin üzerine 2 ml ortam eklenip pipet ile süspanse edilerek homojen hale getirilip,  $75\text{ cm}^2$  'lik flaska 8 ml ortam eklenip üzerine hücre solüsyonu eklendi.  $37^{\circ}\text{C}$  'de, %5  $\text{CO}_2$  ve % 95 nemli ortamda 24 saat inkübe edildi ve hücre çoğalması gözlemlendi.

Hücreler  $75\text{ cm}^2$  'lik flasklarda % 80'e ulaştıktan sonra ortam çekildi, hücrelerin üzerine 1X'lik Tripsin-Edta' dan 2,5 ml eklendi. Flasklar 4 dakika  $37^{\circ}\text{C}$  etüvde bekletildi ve flaska tutunan hücrelerin kalkması sağlandı. Hücrelerin kalkıp kalkmadığı mikroskopla incelendi. Hücreler kalktıktan sonra tripsini inaktive etmek için 1:3 oranında besi ortamı eklendi. Hücre süspansiyonu 50 ml'lik steril falkon tüpe alındı. 1200 rpm 5 dk santrifüj edilerek süpernatantları uzaklaştırılarak pellet elde edildi. Elde edilen pellet soğuk lizis buffer ile homojenize edildikten sonra 14.000 rpm 'de santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant  $-80^{\circ}\text{C}$ 'lik derin dondurucuda saklandı.

**LC-MS/MS ile aminoasit analizi:** Elde edilen süpernatant örneğindeki aminoasit analizi JASEM marka ticari kit yöntemi ile yapıldı. Elde edilen süpernatant örneklerinden 50 µl alınarak üzerine 50µl internal Standart eklenip vortekslendi. Üzerine kit içerisinde bulunan Reagent-1 solüsyonundan 700µl eklenip 15000 rpm 'de santrifüj edilerek proteinlerin çöktürülmesi sağlandı. Elde edilen süpernatant örneklerinden 100 µl insörtlü viallare konularak LC-MS/MS (Shimadzu 8045, Japan) cihazında analiz edildi.

### **3.2. İstatistiksel Yöntem**

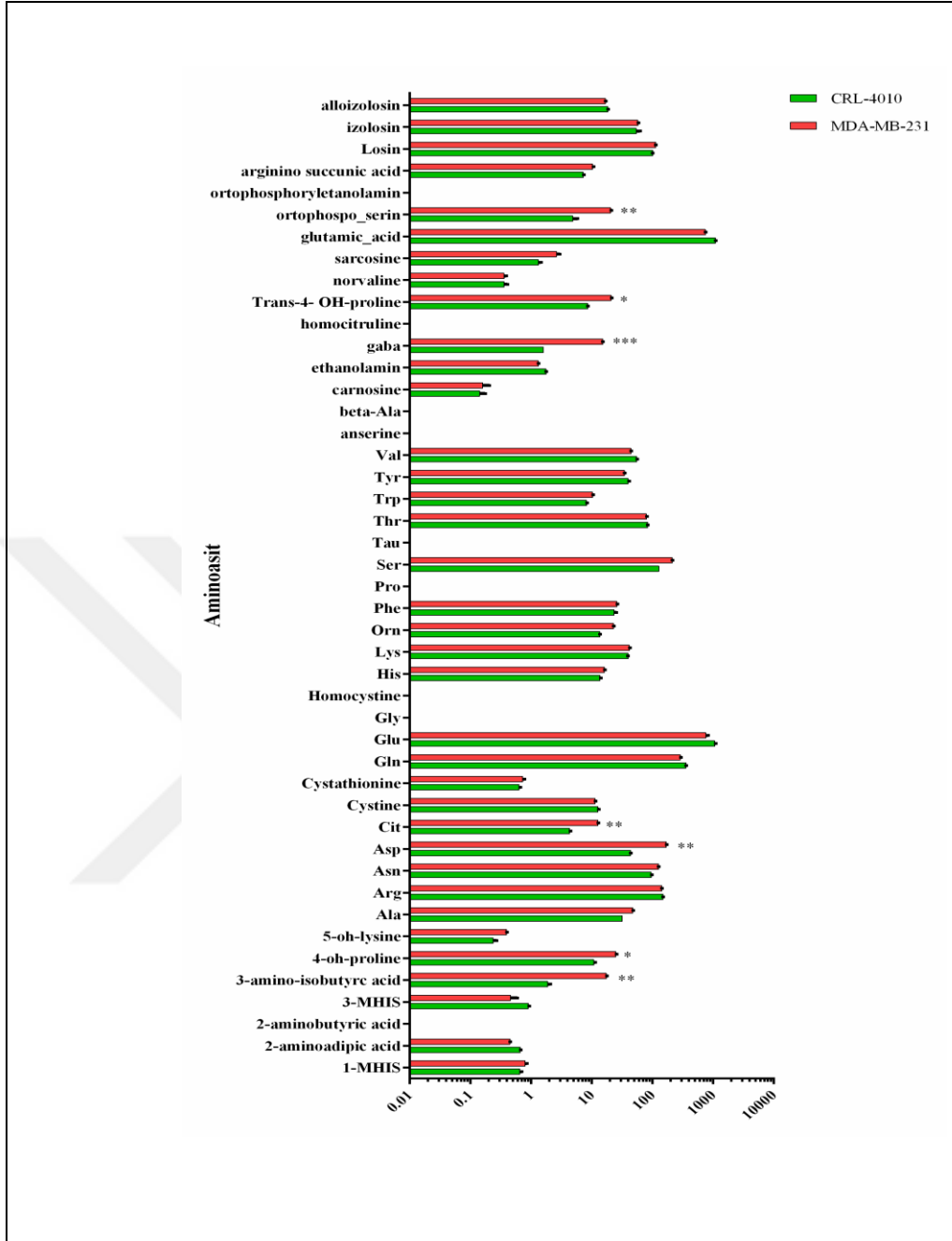
Çalışmalar tamamlandıktan sonra; öncelikle veriler değerlendirildi. Daha sonra verilerin normal dağılımlı olup olmadıklarına bakılıp, duruma göre tek yönlü varyans analizi yapıldı. Grupların karşılaştırmalarında; verilerin normal dağılıma sahip olup olmadığını tespit etmek için Shapiro-Wilk tanıtıcı testi kullanıldı. Shapiro-Wilk testi sonucunda gruplarda normal dağılım gösterenler için ( $p>0,05$ ) Student-T test, normal dağılım göstermeyenler için ise ( $p<0,05$ ) Mann-Whitney U testi kullanıldı. İstatistiksel analizler için Graph Padprism 6(GraphPad Software, Inc, San Diego, USA) kullanıldı ve anlamlılık oranı ( $p<0,05^*$ ,  $p<0,01^{**}$  ve  $p<0,001^{***}$ ) olarak değerlendirildi.

## 4.BULGULAR ve SONUÇLAR

Farklı meme hücrelerinin hücre içi serbest aminoasit profili LC-MS/MS yöntemiyle incelendi. ER+ olan MCF-7 hücresi ile ER- olan MDA-MB-231 hücrelerinin hücre içi serbest aminoasit profili Tablo1 'de verilmiştir.

**Tablo 4.1.** Meme hücre hatlarının hücre içi serbest aminoasit değerleri

	<b>CRL-4010</b>	<b>MCF-7</b>	<b>MDA-MB-231</b>
Carnosine	0,142 ± 0,032	0,546 ± 0,061	0,159 ± 0,046
Norvaline	0,359 ± 0,048	0,833 ± 0,148	0,356 ± 0,030
Cystathionine	0,633 ± 0,030	54,262 ± 1,771	0,725 ± 0,052
1-MHIS	0,654 ± 0,046	1,408 ± 0,035	0,800 ± 0,051
2-aminoadipic acid	0,663 ± 0,012	0,445 ± 0,018	0,447 ± 0,007
3-MHIS	0,898 ± 0,030	0,435 ± 0,028	0,455 ± 0,133
Sarcosine	1,313 ± 0,133	10,486 ± 0,102	2,614 ± 0,340
Gaba	1,594 ± 0,002	3,526 ± 0,067	15,213 ± 0,066
ethanolamin	1,756 ± 0,034	2,539 ± 0,229	1,311 ± 0,010
3-amino-isobutyrc acid	1,868 ± 0,205	3,921 ± 0,044	17,337 ± 0,446
Cit	4,304 ± 0,150	3,855 ± 0,374	12,679 ± 0,263
ortophospo_serin	4,865 ± 0,964	4,505 ± 0,371	20,430 ± 0,691
arginino succinic acid	7,205 ± 0,153	62,078 ± 2,209	10,389 ± 0,309
Trans-4- OH-proline	8,578 ± 0,089	62,529 ± 0,208	20,831 ± 0,687
4-oh-proline	10,763 ± 0,557	68,239 ± 0,849	24,843 ± 0,743
Cystine	12,638 ± 0,457	21,635 ± 0,669	11,332 ± 0,234
Orn	13,625 ± 0,099	46,522 ± 0,199	22,884 ± 0,111
5-oh-lysine	0,238 ± 0,030	0,271 ± 0,020	0,394 ± 0,009
Ala	31,733 ± 0,108	214,574 ± 20,735	47,316 ± 0,722
Tyr	39,665 ± 1,461	75,788 ± 2,737	34,550 ± 0,482
Asp	43,600 ± 0,115	84,770 ± 1,891	169,805 ± 2,565
Thr	83,329 ± 0,380	145,219 ± 1,751	79,992 ± 1,238
Asn	95,203 ± 2,946	345,969 ± 0,485	126,459 ± 0,421
Ser	127,385 ± 0,084	387,966 ± 0,654	213,634 ± 1,153
Arg	149,310 ± 0,854	244,725 ± 1,277	143,175 ± 0,317
Gln	355,233 ± 2,997	591,586 ± 2,338	287,679 ± 8,037
Alloizolosin	18,352 ± 0,307	27,593 ± 0,363	16,830 ± 0,142
Glu	1056,178 ± 42,997	651,338 ± 39,546	760,652 ± 62,711
glutamic_acid	1089,517 ± 16,118	657,676 ± 1,109	743,540 ± 7,246



Şekil 4.1 MCF-7 ve CRL-4010 hücrelerin serbest aminoasitlerinin karşılaştırılmalı şekli

MDA-MB-231 (ER<sup>-</sup> meme kanseri) ve CRL-4010 (normal hücre) hücre hatlarından elde edilen örnekler kıyaslandığında, meme kanseri hücrelerinde kontrol hücre grubuna göre; Trans-4-OH-proline, 4-OH-proline (p<0,05\*); ortophospo-serin, citrulin, aspartat (asp), 3-amino-isobütirik asit (p<0,01\*\*); Gaba (p<0,001\*\*\*) serbest aminoasit düzeylerinin anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir.

ER+ meme kanseri hücreleri (MCF-7) ile normal meme hücre (CRL-4010) lerinin serbest aminoasit profili grafik 4.1 'de verilmiştir. MCF-7 ve CRL 4010 hücre hatlarından elde edilen örnekler kıyaslandığında, meme kanseri hücrelerinde kontrol hücre grubuna göre; izolosin, losin, valin, tirozin( Tyr), triptofan( Trp), treonin( Thr), lizin( Lys), histidin( His), glutamin( Gln), aspartat( Asp), 1-MHIS (p<0,05\*); norvalin, carnosin, serin, asparjin( Asn), arjinin( Arg), alanin( Ala) (p<0,01\*\*); arginino succinic asit, sarcosin, trans-4-OH-proline, cystathionine, 4-oh-proline (p<0,001\*\*\*) düzeyinde anlamlı olarak arttıkları tespit edilmiştir.

**Tablo 4.2.** Meme hücre hatlarının hücre içi serbest esansiyel aminoasit değerleri

	<b>CRL-4010</b>	<b>MCF-7</b>	<b>MDA-MB-231</b>
Phe	23,414 ± 2,031	40,687 ± 0,473	25,875 ± 0,729
Trp	8,180 ± 0,212	17,025 ± 0,820	10,375 ± 0,256
Lys	39,508 ± 0,189	68,064 ± 0,704	41,793 ± 1,129
İzolosin	54,295 ± 8,252	113,117 ± 1,324	57,813 ± 1,333
His	13,676 ± 0,405	35,031 ± 0,743	16,209 ± 0,268
Val	54,777 ± 1,225	119,218 ± 0,162	44,447 ± 0,273
Losin	100,856 ± 0,608	192,965 ± 1,587	113,628 ± 0,324

Meme kanseri (MDA-MB-231, MCF-7) ve normal hücrelerin (CRL-4010) esansiyel aminoasit değerleri tablo 4.2'de verilmiştir. LC-MS/MS ile yapılan analiz sonucunda normal hücrelerin esansiyel aminoasit değerleri MCF-7 hücreleriyle kıyaslandığında MCF-7 hücrelerinde tüm esansiyel aminoasitlerin anlamlı bir şekilde yüksek olduğu gözlenirken, MDA-MB-231 hücrelerinde yalnızca Trp, His ve Lysin amino asitlerinin kontrole göre yüksek olduğu tespit edilmiştir.

## 5. TARTIŞMA

Kadınlarda kanserlere bağlı ölüm sebebi olarak akciğer kanserlerinin meme kanseri oranını geçtiği biliniyorsa da, meme kanseri tanısı alan kadınlar batı dünyasında kanser çeşitleri içerisinde en çok ve en yaygın kanser olmayı sürdürmektedir. ABD'de her 10 kadından birinde meme kanseri gözlemlendiği bilinmektedir. Kadınlarda 54 yaşlarına kadar kansere bağlı ölüm sebebi olarak ilk sırada meme kanseri bulunmaktadır (97).

Meme kanseri %99 kadınlarda görülürken, %1'de erkeklerde görülebilmektedir. Cinsiyet bu kanser türü için önemli bir risk faktörüdür. Bunun sebebi ise meme dokusunun kadınlarda fazla miktarda bulunmasıdır. Kadınların gelişimsel dönemlerindeki östrojen ve progesteron hormonlarındaki değişimdir (98).

Meme kanseri, dünyada her yıl hastalığa yakalanan yarım milyondan fazla kadının yaklaşık 11,500'ü İngiltere'de dahil olmak üzere dünya çapında kansere bağlı kadın ölümlerinin önde gelen nedeni olmaya devam etmektedir. Bunun nedenlerinden biri meme kanserinin tek bir hastalık varlığı olmamasıdır.

Meme kanseri, tümörün reseptör durumuna, özellikle östrojen reseptörüne (ER), progesteron reseptörüne (PR) ve insan epidermal büyüme faktörü reseptör-2'ye (HER2) dayalı olarak tedavi edilir (99).

Uyarlanmış terapiler ER-pozitif hastalık için hormon terapileri (örneğin tamoksifen ve enzim aromataz inhibitörleri gibi) ve HER2-pozitif meme kanseri için trastuzumab (Herceptin) gibi bazı meme kanserlerinin tedavisinde önemli bir başarı sağlamıştır. ; ancak, bu rejimlere karşı ilaç direnci yaygındır (100-102).

Ayrıca, hastalığın daha agresif alt türlerinden biri olan üçlü negatif meme kanseri için hala iyi bir hedefli tedavi yoktur (103,104).



Ayrıca, birincil meme kanseri yüksek oranda tedavi edilebilirken evre I / II meme kanseri tanısı alan kadınların% 80-99'u 5 yıla kadar hayatta kalır; şu anda metastatik meme kanseri için mevcut bir tedavi bulunmamakta olup, bu durum İngiltere'deki hastaların tahmini% 40'ını etkilemektedir ve hayatta kalma oranının 20'de % 65'e düşmesi muhtemeldir (105,106).

Meme kanserinin tedavi seçeneklerinin geliştirilmesine yol açabilecek yeni markırların elde edilmesi gerekmektedir. Bu nedenle en sık kullanılan model sistemlerinden biri, insan hücre hatlarının kullanılmasıdır (107). Bu tür çalışmalarda sıklıkla MDA-MB-231 hücreleri gibi çok agresif kötü huylu tümörler kullanılmaktadır. Bu çalışmada ER+ (MDA-MB-231), ER- (MCF-7) ve normal meme dokusu (CRL-4010) hücrelerinin serbest aminoasit profilleri incelenerek yeni bir markır olarak kullanılma potansiyeli incelenmiştir.

Son yıllarda, kanserli hastalarda serbest aminoasit profilleri'nin önemli derecede değiştiği tespit edilmiştir (108-112). Serbest aminoasit profilindeki değişim kanser oluşum mekanizması üzerindeki etkileri hakkında çok az şey bilinmemesine rağmen kanserlerin etiyolojisi ve patogenezini anlamak için umut verici bir biyolojik belirteç olabilir (113).

Kanser hücreleri, glutamin (Gln), Gly, aspartik asit (Asp) ve serin (Ser) gibi bazı amino asitleri DNA sentezi , yeni kan damarları ve yeni proteinleri sentezlemek için kullanmaktadır (114). Sentezlenen bu proteinler büyümeyi teşvik edici hormonlar veya tümör büyüme faktörleri olarak çalışır (115-116). Amino asit talebindeki artış, kanser hastalarında serbest aminoasitlerinin düşük seviyelerde olmalarına yol açabilir (118).

Vissers *ve diğ.* (119) farklı kilo kaybı seviyelerine sahip olan üç tip kanser hastasında, yani meme kanseri (kilo kaybı olmadan), kolon kanseri (ara sıra kilo kaybı) ve pankreas kanseri (sık kilo kaybı) üzerinde PFAA konsantrasyonlarını analiz etmiştir. Tümör tipleri ve evreleri, kilo kaybı ya da vücut kitle indeksi ne olursa olsun arginin (Arg) seviyelerinde önemli bir azalma buldular. Bu bulgu, Arg. mevcudiyetinin

azalmasının, malign bir tümör varlığının spesifik bir özelliği olduğunu ortaya koymuştur.

Ayrıca tüm kanser hastalarında dallı zincirli aminoasitlerin konsantrasyonlarının yaş ve cinsiyet eşleşmeli kontrollere göre daha düşük olduğunu ortaya koymuşlardır. Plazma Serbest aminoasit (PFAA) düzeyindeki değişikliklerin evreye ve kanser tipine bağlıdır. Gu ve ark. (120) tarafından yapılan çalışmada gastrik kanserli 56 hastada profilleri, 28 hastada meme kanserli, 33 hastada tiroid kanserli ve yaşları 137 olan sağlıklı kontrollerde incelendi.

Meme kanseri hastalarında histidin (His) düzeyinin anlamlı derecede azaldığı tespit edildi. Gastrik kanser hastalarında Ser, Ala, Val, lizin (Lys), His, BCAA ve TAA seviyeleri anlamlı derecede azaldı. Bununla birlikte, tiroid kanseri hastalarında, metiyonin (Met), Leu, Tyr ve Lys düzeylerinde anlamlı artış görülmüştür. Farklı kanser türlerinin yanı sıra, hastaların PFAA paternindeki farklılıklar da farklı hastalık aşamalarından kaynaklanmaktadır.

Son zamanlarda, erken evre kanser teşhisinde yeni bir kanser risk hesaplama yöntemi olarak Amino Index Kanser Tarama (AICS) teknolojisi kullanılmıştır. AICS'yi oluşturmak için treonin (Thr), asparagin (Asn), Ser, Gln, Pro, Gly, Ala, sitrulin (Cit), Val, Met, Ile, Leu, Tyr, Phe, His, triptofan (Trp), ornitin (Orn), Lys ve Arg ölçülmüş ve istatistiksel olarak analiz edilmiştir(121,122).

Bir vaka raporunda kolorektal kanser riski hesaplaması için, Ser, Pro, Val, Met, Ile ve Lys plazma seviyeleri kullanıldı. AICS skoru 8,3 olarak bulundu, bu da hastanın 10 kat artmış kanser riskine sahip olduğunu gösterdi. Hastaya kolonskopi yapıldığında, kısmi karsinomu olan yükselen kolonda 10 mm'lik bir adenoma benzeri lezyon gözlemlendi(121).

AICS yöntemi kullanılarak karsinomun erken teşhisi, tam rezeksiyona izin vermiştir, bu da PFAA profillerinin kanserler için hızlı ve kolay bir teşhis aracı sağlayabileceğini düşündürmektedir.

Fukutake ve ark. (122) pankreas kanseri riskini hesaplamak için Ser, Asp, Ile, Ala, His ve Trp'yi kullandı ve pankreas kanseri olan hastaları ( $n = 360$ ) kontrol deneklerinden ( $n = 360$ ) başarıyla ayırdı (= 8372). Ayrıca 19 amino asit seviyesini analiz ettiler ve Ser seviyesinde anlamlı bir artış ve Thr, Asn, Pro, Ala, Cit, Val, Met, Leu, Tyr, Phe, His, Trp, Lys ve Arg seviyelerinde önemli düşüşler yaptılar. Pankreas kanseri hastalarında gözlemlendi. Küçük örneklem büyüklüğü olan diğer bazı çalışmalar, pankreas kanseri hastalarında dolaşımdaki aminoasit seviyelerinde benzer düşüşler olduğunu bildirmiştir; bu, tümörlerde PFAA'ların artan kullanımının bir sonucu olarak yorumlanmıştır. Aminoasit seviyelerinin azalması için bir başka olasılık yetersiz beslenme ile ilişkilidir (122).

Bununla birlikte, plazma veya serum örneklerinde aminoasit düzeylerini inceleyen ve meme kanserli hastalardan alınan serum çalışmalarında çelişkili sonuçlar ortaya çıkmıştır. Poschke ve diğ. meme kanseri hastasında Glu, Ser, Gln, Ala, Val, Phe, Ile ve Leu düzeylerinde artış bildirmiştir(123).

Muhtemel bir açıklama, bu çalışma popülasyonundaki tümör evresinin, aminoasit havuzunu azaltmayacak şekilde erken evre olarak kategorize edildiği olabilir. Artan Ser seviyesi, muhtemelen tümör hücrelerinde Ser biyosentezinde yer alan enzimatik aktivitenin artmasından kaynaklandı. Artan Glu ve Ala seviyeleri tümör hücreleri tarafından üretilebilir. Meme kanseri hastalarında Orn, Glu ve Trp gibi Amino asit seviyelerinde benzer artışlar daha önce gözlemlendi. Ancak, diğer bir çalışmada 196 meme kanserli hastasında Gln, Tyr, Phe, His ve Trp'nin azaldığını, Thr, Ser, Pro, Gly, Ala, Orn ve Lys'in arttığını göstermiştir (124).

Yukarıda belirtilen çelişkili sonuçlar, yaş, cinsiyet, etnik köken, diyet ve katılımcıların yaşadığı ülkeler, PFAA profilleri için uygulanan farklı ölçüm teknikleri, farklı hastalıklar aşaması ve potansiyel için veri ayarlamaması gibi katılımcı özelliklerinde farklılıklara atfedilebilir. Bu arada, PFAA profilleri, diyet proteinlerinin miktarı ve / veya bileşimi, kas proteinlerinin metabolizması ve farklı dokulardaki değişken protein rezervi gibi çeşitli faktörlerden etkilenebilir.

Serbest aminoasit profili kanser ilişkisine dayalı çalışmaların çoğunluğu yukarıda belirtildiği üzere plazma serbest aminoasit profilinin kanser teşhisi ile ilişkisi incelenmiştir. Yapılan literatür taramasında şüana kadar hüresel aminoasit düzeyinin araştırılmadığı tespit edilmiştir. Bu denemle bu çalışmamız bir ilki oluşturmaktadır.

Yaptığımız çalışmada MCF-7 hücrelerinde birçok aminoasit'in yüksek seviyede olduğu gözlenirken MD-MB-231 hücrelerinde ise aminoasit miktarının kontrole göre daha düşük düzeyde olduğu gözlenmiştir.

Dolaşımdaki amino asit profillerinin miktarlarının malign tümörlülerde değiştiği görülmektedir. Bu değişim amino asit miktarlarında azalma veya artma şeklinde olabilmektedir. Laboratuar ortamında CRL 4010 hücrelerinde aminoasit profillerinin normal seviyelerde olduğu görülmektedir. Bu neticelerin malign hücrelerin ekstraselüler amino asit profilleri üzerinde doğrudan etkiye sahip olabileceğinin bir kanıtıdır.

Tümör hücreleri kendilerini kopyalayabilme yeteneğine sahiptirler. Bunun için tümörüm türüne ve gelişim aşamasına bağlı olarak amino asitleri, lipitleri, veya glikozu kullanmaktadırlar (12qq4). Tümörler gelişebilmek için esansiyel aminoasitlere (EAA); membran lipit komponentlerinin biresimi için serine, pirimidin ve purin biresimi için glisin, glutamin ve aspartik asit gibi amino asitlere ihtiyaçları vardır. Netice itibariyle seçici amino asitlere ihtiyaç duymaktadırlar. Bundan dolayı dokularda protein turnoveri için aşamalı bir kas kaybına sebep olmakla beraber başlıca esansiyel aminoasit olmak üzere amino asitlerden konakçının daha az faydalanılmasına neden olur.

Bu çalışmada ise ilk defa farklı meme kanseri türlerinde serbest amino asit profili incelenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda normal meme hüresinin serbest aminoasit profili MDA-MB-231 hücreleri ile karşılaştırıldığında ortophospo\_serin, Trans-4- OH-proline, gaba, Cit, Asp, 4-oh-proline ve 3-amino-isobutyrc acid seviyesinin anlamlı şekilde yükseldiği gözlenirken, MCF-7 hücrelerinde ise neredeyse tüm aminoasitlerin anlamlı bir şekilde yüksek olduğu gözlenmiştir.

Yaptığımız çalışmada da kanser vakalarına paralel olarak treonin, metiyonin, lösin, izolösin, triptofan ve fenilalanin gibi birçok esansiyel aminoasit; glutamik asit, glisin, tirozin, serin ve alanin, prolin gibi NEAA'ler meme kanseri oluşumu yönünden yüksek risk grubunu teşkil eden meme kanserlerinde diğer gruba oranla daha yüksek olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak; Çeşitli meme kanser türleriyle yapmış olduğumuz çalışma sonucunda bazı aminoasitlerin kanserli hücrelerde daha yüksek bulunması, bu aminoasitlerin meme kanserli hücrelerde meme kanseri gelişimi yönünde önemli bir role sahip olabileceğini göstermiştir.



## 7. KAYNAKLAR

1. Atıcı E. Tıp Tarihinde Kanser ve Lösemi. Türk onkoloji dergisi 2007; 22(4):197-204.
2. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Hücrenin Moleküler Biyolojisi. Türkiye Bilimler Akademisi 2008;769-793.
3. Esquivel CC, Esquivel SJ, Morales GJA, Sánchez DM, Ventura GJL, Hernández LE, et al. Inflammatory Environmental, Oxidative Stress in Tumoral Progression. Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases-A Role for Antioxidants 2013; 187.
4. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: the Next Generation. Cell 2011; 144(5):646-674.
5. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Hücrenin Moleküler Biyolojisi. 4. Baskı ed. Ankara: Türkiye Bilimler Akademisi; 2008.
6. Alberts B, Bray D, Hopkin K, Johnson AD, Lewis J, Raff M, et al. Essential Cell Biology. Garland Science; 2013.
7. Solakoğlu Z. Apoptoz Varlığı ya da Yokluğu bir Hastalık Nedeni. Klinik Gelişim 2009; 22(3):20-25.
8. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Hücrenin Moleküler Biyolojisi. 4. Baskı ed. Ankara: Türkiye Bilimler Akademisi; 2008.
9. Çayırıcı M. Memenin İnvaziv Duktal Karsinomlarında Siklin D1 ve p21 WAF1'in Prognostik Faktörler ve Tamoksifen Direnci ile İlişkisi. Uzmanlık Tezi. İstanbul: Sağlık Bakanlığı Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2007.
10. Polyak K. Breast Cancer Gene Discovery. Expert reviews in molecular medicine 2002; 4(18):1-18.
11. Kelsey JL, Gammon MD, John EM. Reproductive Factors and Breast Cancer. Epidemiologic reviews 1993; 15(1):36.
12. Kelsey JL, Gammon MD, John EM. Breast Cancer and Breastfeeding: Collaborative Reanalysis of Individual Data from 47 Epidemiological Studies in 30 Countries, Including 50302 Women with Breast Cancer and 96973 Women without the Disease. Lancet 2002;360:187-95.
13. Hartge P, Chatterjee N, Wacholder S, Brody LC, Tucker MA, Struwing JP. Breast Cancer Risk in Ashkenazi BRCA1/2 mutation carriers: effects of reproductive history. Epidemiology 2002;255-261.

14. Macmahon B, Trichopoulos D, Brown J, Andersen AP, Aoki K, Cole P, et al. Age at menarche, probability of ovulation and breast cancer risk. *International journal of cancer* 1982; 29(1):13-16.
15. Hoover R, Gray LA, Cole P, Mac Mahon B. Menopausal estrogens and breast cancer. *New England Journal of Medicine* 1976; 295(8):401-405.
16. Mac Mahon B, Cole P, Lin TM, Lowe CR, Mirra AP, Ravnihar B, et al. Age at first birth and breast cancer risk. *Bulletin of the World Health Organization* 1970; 43(2):209.
17. Değerli Ü (editör). *Meme Kanseri. Genel Cerrahi. 6. Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 1998. s.288-96.*
18. Özişik Y, Baltalı E. *Meme kanseri. Yasavul Ü (editör). Hacettepe İç Hastalıkları Kitabı. 2. Baskı. Ankara: Semih Ofset; 2004. s.1426-35.*
19. Thomas DB. Do hormones cause breast cancer. *Cancer* 1984; 53(S3):595-604.
20. Reeves GK, Beral V, Green J, Gathani T, Bull D. Million Women Study Collaborators. Hormonal therapy for menopause and breast-cancer risk by histological type: a cohort study and meta-analysis. *The lancet oncology* 2006; 7(11):910-918.
21. Stalsberg H, Thomas DB, Noonan EA, Berry G, Maclellan R, Martinez L, et al. Histologic types of breast carcinoma in relation to international variation and breast cancer risk factors. *International journal of cancer* 1989; 44(3):399-409.
22. Collaborative Group on hormonal faktors in breast cancer. Breast cancer and hormonal contraceptives, collaborative reanalysis of individual data on 53.297 woman with breast cancer and 100.239 women without breast cancer-from 54 epidemiological studies. *Lancet* 1996; 47:1713-27.
23. Bernstein L, Ross RK. Endogenous hormones and breast cancer risk. *Epidemiologic reviews* 1993; 15(1):48-65.
24. Polyak K. Breast cancer gene discovery. *Expert reviews in molecular medicine* 2002; 4(18):1-18.
25. Sayek İ. (editor). *Meme Hastalıkları. Temel Cerrahi. 1. Cilt. 3. Baskı. Ankara: Güneş kitabevi; 1996. s.864-72.*
26. Albain KS, Allred DC, Clark GM. Breast cancer outcome and predictors of outcome: are there age differentials?. *Journal of the National Cancer Institute. Monographs* 1994;(16):35-42.
27. Anderson DE. Some characteristics of familial breast cancer. *Cancer* 1971; 28(6):1500-1504.

28. Haagensen CD (ed). Diseases of Breast. 3rd edition. Philadelphia: WB Saunders;1986.
29. Rohan TE, Howe GR, Friedenreich CM, Jain M, Miller AB. Dietary fiber, vitamins A, C, and E, and risk of breast cancer: a cohort study. *Cancer Causes & Control* 1993; 4(1):29-37.
30. Kayhan Ö, Özkan N, Malazgirt Z. Genel Cerrahi. 1 baskı. Hacettepe Ankara: Taş Kitapçılık; 1996.
31. Scmizu Y, Kato H, Schull WJ. Study on mortality of A bomb survivors. *Radit Res* 1990;121-41.
32. Manavoğlu O (ed). Klinik Onkoloji El Kitabı. 1. Baskı. Ankara: Palme Yayıncılık; 2004. s.218-29.
33. Baquet CR, Commiskey P. Socioeconomic factors and breast carcinoma in multicultural women. *Cancer* 2000; 88(S5):1256-1264.
34. Claus EB, Risch N, Thompson WD. Autosomal dominant inheritance of early-onset breast cancer. Implications for risk prediction. *Cancer* 1994); 73(3):643-651.
35. Campbell JB. Breast cancer-race, ethnicity, and survival: a literature review. *Breast cancer research and treatment* 2002; 74(2):187-192.
36. Boyd NF, Guo H, Martin LJ, Sun L, Stone J, Fishell E, et al. Mammographic density and the risk and detection of breast cancer. *New England Journal of Medicine* 2007; 356(3):227-236.
37. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52 705 women with breast cancer and 108 411 women without breast cancer. *The Lancet* 1997; 350(9084):1047-1059.
38. Olson JE, Sellers TA, Iturria SJ, Hartmann LC. Bilateral oophorectomy and breast cancer risk reduction among women with a family history. *Cancer detection and prevention* 2004;28(5):357-360.
39. Eisen A, Lubinski J, Klijn J, Moller P, Lynch HT, Offit K, et al. Breast cancer risk following bilateral oophorectomy in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: an international case-control study. *Journal of Clinical Oncology* 2005; 23(30):7491-7496.
40. Newcomb PA, Storer BE, Longnecker MP, Mittendorf R, Greenberg ER, Clapp RW, et al. Lactation and a reduced risk of premenopausal breast cancer. *New England Journal of Medicine* 1994; 330(2):81-87.



41. Beral V, Bull D, Doll R, Peto R, Reeves G, van den Brandt PA, et al. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast cancer: Breast cancer and abortion: collaborative reanalysis of data from 53 epidemiological studies, including 83000 women with breast cancer from 16 countries. *Lancet* 2004; 363(9414):1007-1016.
42. Lambe M, Hsieh CC, Trichopoulos D, Ekblom A, Pavia M, Adami HO. Transient increase in the risk of breast cancer after giving birth. *New England Journal of Medicine* 1994; 331(1):5-9.
43. Mc Tiernan A, Kooperberg C, White E, Wilcox S, Coates R, Adams Campbell LL, et al. Recreational physical activity and the risk of breast cancer in postmenopausal women: the Women's Health Initiative Cohort Study. *Jama* 2003; 290(10):1331-1336.
44. Mc Tiernan A. Physical activity and the prevention of breast cancer. *Medscape women's health* 2000; 5(5):1.
45. Biglia N, Defabiani E, Ponzzone R, Mariani L, Marengo D, Sismondi P. Management of risk of breast carcinoma in postmenopausal women. *Endocrine-related cancer* 2004; 11(1):69-83.
46. Hartmann LC, Sellers TA, Frost MH, Lingle WL, Degnim AC, Ghosh K, et al. Benign breast disease and the risk of breast cancer. *New England Journal of Medicine* 2005; 353(3):229-237.
47. Michels KB, Holmberg L, Bergkvist L, Wolk A. Coffee, tea, and caffeine consumption and breast cancer incidence in a cohort of Swedish women. *Annals of epidemiology* 2002; 12(1):21-26.
48. Keinan Boker L, van Der Schouw YT, Grobbee DE, Peeters PH. Dietary phytoestrogens and breast cancer risk. *The American journal of clinical nutrition* 2004; 79(2):282-288.
49. Smith Warner SA, Spiegelman D, Yaun SS, Adami HO, Beeson WL, Van Den Brandt PA, et al. Intake of fruits and vegetables and risk of breast cancer: a pooled analysis of cohort studies. *Jama* 2001; 285(6):769-776.
50. Peeters PH, Keinan Boker L, van der Schouw YT, Grobbee DE. Phytoestrogens and breast cancer risk: review of the epidemiological evidence. *IARC scientific publications* 2002; 156: 331.
51. Kaye JA, Jick H. Antibiotics and the risk of breast cancer. *Epidemiology* 2005; 688-690.
52. Velicer CM, Heckbert SR, Lampe JW, Potter JD, Robertson CA, Taplin SH. Antibiotic use in relation to the risk of breast cancer. *Jama* 2004; 291(7):827-835.

53. Jacobs EJ, Thun MJ, Connell CJ, Rodriguez C, Henley SJ, Feigelson HS, et al. Aspirin and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs and breast cancer incidence in a large US cohort. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers* 2005; 14(1):261-264.
54. Terry MB, Gammon MD, Zhang FF, Tawfik H, Teitelbaum SL, Britton JA, et al. Association of frequency and duration of aspirin use and hormone receptor status with breast cancer risk. *Jama* 2004; 291(20):2433-2440.
55. Beral V, Bull D, Doll R, Peto R, Reeves G, van den Brandt PA, et al. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast cancer: Breast cancer and abortion: collaborative reanalysis of data from 53 epidemiological studies, including 83000 women with breast cancer from 16 countries. *Lancet* 2004; 363(9414):1007-1016.
56. Hamajima N, Hirose K, Tajima K. for the Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Alcohol, tobacco and breast cancer-collaborative reanalysis of individual data from 53 epidemiological studies, including 58,515 women with breast cancer and 95,067 women without the disease. *Br J Cancer* 2002; 87:1234-45.
57. Ellis IO, Galea M, Broughton N, Locker A, Blamey RW, Elston CW. Pathological prognostic factors in breast cancer. II. Histological type. Relationship with survival in a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1992;20(6):479-489.
58. Frykberg ER. Lobular carcinoma in situ of the breast. *The breast journal* 1999; 5:296-300.
59. Silverstein MJ. Ductal carcinoma in situ of the breast. *Bmj* 1998; 317(7160):734-739.
60. Singletary SE, Allred C, Ashley P, Bassett LW, Berry , Bland KI, et al. Revision of the American Joint Committee on Cancer staging system for breast cancer. *Journal of clinical oncology* 2002; 20(17):3628-3636.
61. Tavassoli FA. Normal development and anomalies. In: Tavassoli FA (ed). *Pathology of the Breast*. 1st edition. Connecticut: Appleton & Lange; 1992; p.1-24.
62. Leitner SP, Swern AS, Weinberger D, Duncan LJ, Hutter RV. Predictors of recurrence for patients with small (one centimeter or less) localized breast cancer. *Cancer* 1995; 76(11):2266-2274.
63. Clayton F, Hopkins CL. Pathologic correlates of prognosis in lymph node-positive breast carcinomas. *Cancer* 1993; 71(5):1780-1790.

64. İlvan Ş. Meme Karsinomu Patolojisi. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Meme Kanseri Sempozyum Dizisi 2006; 54:65-71.
65. Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, Coates AS, Thürlimann B, Senn HJ. Meeting highlights: international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2005. *Annals of oncology* 2005; 16(10):1569-1583.
66. ESMO. Minimal Clinical Recommendation for diagnosis, adjuvant treatment and follow-up of primary breast cancer. *Ann. Oncol* 2001; 12: 1047-8.
67. Lapidus RG, Nass SJ, Davidson NE. The loss of estrogen and progesterone receptor gene expression in human breast cancer. *Journal of mammary gland biology and neoplasia* 1998; 3(1):85-94.
68. Gullick WJ, Love SB, Wright C, Barnes DM, Gusterson B, Harris AL, et al. C-erbB-2 protein overexpression in breast cancer is a risk factor in patients with involved and uninvolved lymph nodes. *British Journal of Cancer* 1991; 63(3):434.
69. Minn AJ, Gupta GP, Siegel PM, Bos PD, Shu W, Giri DD, et al. Genes that mediate breast cancer metastasis to lung. *Nature* 2005; 436(7050):518.
70. Rossi FF, Cangiano C, Muscaritoli M, Conversano L, Torelli GF, Cascino A. Tumor-induced changes in host metabolism: a possible marker of neoplastic disease. *Nutrition* 1995;11(5):595-600.
71. Kubota A, Meguid MM, Hitch DC. Amino acid profiles correlate diagnostically with organ site in three kinds of malignant tumors. *Cancer* 1992;69(9):2343-2348.
72. Cascino A, Muscaritoli M, Cangiano C, Conversano L, Laviano A, Ariemma S, et al. Plasma amino acid imbalance in patients with lung and breast cancer. *Anticancer research* 1995;15(2):507-510.
73. ABD Halk Sağlığı Hizmet Yönergeleri’de dayanmaktadır.
74. Norton JA, Gorschboth CM, Wesley RA, Burt ME, Brennan MF. Fasting plasma amino acid levels in cancer patients. *Cancer* 1985; 56(5):1181-1186.
75. Watanabe A, Higashi T, Sakata T, Nagashima H. Serum amino acid levels in patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1984; 54(9):1875-1882.
76. Zhang PC, Pang CP. Plasma amino acid patterns in cancer. *Clinical chemistry* 1992; 38(6):1198-1199.
77. Secreto G, Recchione C, Ballerini P, Callegari L, Fariselli G, Attili A, et al. Cations and Active Androgens in Breast Cyst Fluid a. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1990; 586(1):88-92.

78. Stryer L. Protein, Structure and Function. Biochemistry. 4. ed. New York: WH Freeman and Company; 1995. p.18-23.
79. Onat T, Emerk K, Sözmen EY, editörler. İnsan Biyokimyası'nda Amino Asitler, Peptid ve proteinler. Ankara: Palme Yayıncılık; 2002. s.602-5.
80. Rossi FF, Cangiano C, Muscaritoli M, Conversano L, Torelli GF, Cascino A. Tumor-induced changes in host metabolism: a possible marker of neoplastic disease. Nutrition 1995; 11(5):595-600.
81. Costa G. Cachexia, the metabolic component of neoplastic diseases. Cancer Research 1977; 37(72):2327-2335.
82. Brennan MF, Burt ME. Nitrogen metabolism in cancer patients. Cancer Treat Rep 1981; 65:67-78.
83. Gold J. Cancer cachexia and gluconeogenesis. Ann NY Acad Sci 1974; 230:103-10.
84. Waterhouse C, Jeanpretre N, Keilson J. Gluconeogenesis from alanine in patients with progressive malignant disease. Cancer research 1979; 39(61):1968-1972.
85. Lundholm K, Edström S, Ekman L, Karlberg I, Bylund AC, Scherstén T. A comparative study of the influence of malignant tumor on host metabolism in mice and man. Evaluation of an experimental model. Cancer 1978; 42(2):453-461.
86. Norton JA, Shamberger R, Stein TP, Milne GWA, Brennan MF. The influence of tumor-bearing on protein metabolism in the rat. Journal of Surgical Research 1981; 30(5):456-462.
87. Carmichael MJ, Clague MB, Keir MJ, Johnston ID. Whole body protein turnover, synthesis and breakdown in patients with colorectal carcinoma. British Journal of Surgery 1980; 67(10):736-739.
88. Edén E, Ekman L, Bennegård K, Lindmark L, Lundholm K. Whole-body tyrosine flux in relation to energy expenditure in weight-losing cancer patients. Metabolism 1984; 33(11):1020-1027.
89. Jeevanandam M, Lowry S, Horowitz G, Brennan M. Cancer cachexia and protein metabolism. The Lancet 1984; 323(8392):1423-1426.
90. Abumrad NN, Miller B. The physiologic and nutritional significance of plasma-free amino acid levels. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition 1983; 7(2):163-170.

91. Torre LA, Siegel RL, Ward EM, Jemal A. Global cancer incidence and mortality rates and trends—an update. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers* 2016;25(1):16-27.
92. Curtis C, Shah SP, Chin SF, Turashvili G, Rueda OM, Dunning MJ, et al. The genomic and transcriptomic architecture of 2,000 breast tumours reveals novel subgroups. *Nature* 2012; 486(7403):346.
93. Cardiff RD, Kenney N. A compendium of the mouse mammary tumor biologist: from the initial observations in the house mouse to the development of genetically engineered mice. *Cold Spring Harbor perspectives in biology* 2011; 3(6):003111.
94. Osborne CK, Schiff R. Mechanisms of endocrine resistance in breast cancer. *Annual review of medicine* 2011; 62:233-247.
95. Palmieri C, Patten DK, Januszewski A, Zucchini G, Howell SJ. Breast cancer: current and future endocrine therapies. *Molecular and cellular endocrinology* 2014; 382(1):695-723.
96. LuqueCabal M, GarcíaTejido P, FernándezPérez Y, SánchezLorenzo L, Palacio Vázquez I. Mechanisms behind the resistance to trastuzumab in HER2-amplified breast cancer and strategies to overcome it. *Clinical Medicine Insights: Oncology* 2016; 10.
97. Kalimutho M, Parsons K, Mittal D, López JA, Srihari S, Khanna KK. Targeted therapies for triple-negative breast cancer: combating a stubborn disease. *Trends in pharmacological sciences* 2015; 36(12):822-846.
98. Gu G, Dustin D, Fuqua SA. Targeted therapy for breast cancer and molecular mechanisms of resistance to treatment. *Current opinion in pharmacology* 2016; 31:97-103.
99. Neve RM, Chin K, Fridlyand J, Yeh J, Baehner FL, Fevr T, et al. A collection of breast cancer cell lines for the study of functionally distinct cancer subtypes. *Cancer cell* 2006; 10(6):515-527.
100. Wang TJ, Larson MG, Vasan RS, Cheng S, Rhee EP, McCabe E, et al. Metabolite profiles and the risk of developing diabetes. *Nature medicine* 2011; 17(4):448.
101. Rutten EP, Franssen FM, Engelen MP, Wouters EF, Deutz NE, Schols AM. Greater whole-body myofibrillar protein breakdown in cachectic patients with chronic obstructive pulmonary disease. *The American journal of clinical nutrition* 2006; 83(4):829-834.

102. Zhang Q, Takahashi M, Noguchi Y, Sugimoto T, Kimura T, Okumura A, et al. Plasma amino acid profiles applied for diagnosis of advanced liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C infection. *Hepatology research* 2006; 34(3):170-177.
103. Fukutake N, Ueno M, Hiraoka N, Shimada K, Shiraishi K, Saruki N, et al. A novel multivariate index for pancreatic cancer detection based on the plasma free amino acid profile. *PLoS One* 2015; 10(7):0132223.
104. Yatabe J, Yatabe MS, Ishibashi K, Nozawa Y, Sanada H. Early detection of colon cancer by amino acid profiling using AminoIndex Technology: a case report. *Diagnostic pathology* 2013; 8(1):203.
105. Noguchi Y, Zhang QW, Sugimoto T, Furuhashi Y, Sakai R, Mori M, et al. Network analysis of plasma and tissue amino acids and the generation of an amino index for potential diagnostic use. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2006; 83(2):513-19.
106. Huang J, Plass C, Gerhauser C. Cancer chemoprevention by targeting the epigenome. *Current drug targets* 2011; 12(13):1925-1956.
107. Stattin P, Bylund A, Rinaldi S, Biessy C, Déchaud H, Stenman UH, et al. Plasma insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor-binding proteins, and prostate cancer risk: a prospective study. *Journal of the National Cancer Institute* 2000; 92(23):1910-1917.
108. Burroughs KD, Dunn SE, Barrett JC, Taylor JA. Insulin-like growth factor-I: a key regulator of human cancer risk?. *Journal of the National Cancer Institute* 1999; 91(7):579-581.
109. Proenza AM, Oliver J, Palou A, Roca P. Breast and lung cancer are associated with a decrease in blood cell amino acid content. *The Journal of nutritional biochemistry* 2003; 14(3):133-138.
110. Vissers YL, Dejong CH, Luiking YC, Fearon KC, von Meyenfeldt MF, Deutz NE. Plasma arginine concentrations are reduced in cancer patients: evidence for arginine deficiency?. *The American journal of clinical nutrition* 2005; 81(5):1142-1146.
111. Gu Y, Chen T, Fu S, Sun X, Wang L, Wang J, et al. Perioperative dynamics and significance of amino acid profiles in patients with cancer. *Journal of translational medicine* 2015; 13(1):35.
112. Yatabe J, Yatabe MS, Ishibashi K, Nozawa Y, Sanada H. Early detection of colon cancer by amino acid profiling using AminoIndex Technology: a case report. *Diagnostic pathology* 2013; 8(1):203.

113. Miyagi Y, Higashiyama M, Gochi A, Akaike M, Ishikawa T, Miura T, et al. Plasma free amino acid profiling of five types of cancer patients and its application for early detection. *PloS one* 2012; 6(9):24143.
114. Okamoto N, Miyagi Y, Chiba A, Akaike M, Shiozawa M, Imaizumi A, et al. Diagnostic modeling with differences in plasma amino acid profiles between non-cachectic colorectal/breast cancer patients and healthy individuals. *International Journal of Medicine and Medical Sciences* 2009; 1(1):001-008.
115. Maeda J, Higashiyama M, Imaizumi A, Nakayama T, Yamamoto H, Daimon T, et al. Possibility of multivariate function composed of plasma amino acid profiles as a novel screening index for non-small cell lung cancer: a case control study. *BMC cancer* 2010; 10(1):690.
116. Okamoto N. Use of “AminoIndex technology” for cancer screening. *Ningen Dock* 2012; 26(6):911-922.
117. Fukutake N, Ueno M, Hiraoka N, Shimada K, Shiraishi K, Saruki N, et al. A novel multivariate index for pancreatic cancer detection based on the plasma free amino acid profile. *PLoS One* 2015; 10(7):0132223.
118. Schrader H, Menge BA, Belyaev O, Uhl W, Schmidt WE, Meier JJ. Amino acid malnutrition in patients with chronic pancreatitis and pancreatic carcinoma. *Pancreas* 2009; 38(4):416-421.
119. Kobayashi T, Nishiumi S, Ikeda A, Yoshie T, Sakai A, Matsubara A, et al. A novel serum metabolomics-based diagnostic approach to pancreatic cancer. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers* 2013; 22(4):571-579.
120. Poschke I, Mao Y, Kiessling R, de Boniface J. Tumor-dependent increase of serum amino acid levels in breast cancer patients has diagnostic potential and correlates with molecular tumor subtypes. *Journal of translational medicine* 2013; 11(1):290.
121. Medina MÁ, Márquez J, Núñez I. Interchange of amino acids between tumor and host. *Biochemical medicine and metabolic biology* 1992; 48(1):1-7.
122. Márquez J, Sánchez Jiménez F, Medina MA, Quesada AR, de Castro IN. Nitrogen metabolism in tumor bearing mice. *Archives of biochemistry and biophysics* 1989; 268(2):667-675.
123. Cascino A, Muscaritoli M, Cangiano C, Conversano L, Laviano A, Ariemma S, et al. Plasma amino acid imbalance in patients with lung and breast cancer. *Anticancer research* 1995; 15(2):507-510.

124. Miyagi Y, Higashiyama M, Gochi A, Akaike M, Ishikawa T, Miura T, et al. Plasma free amino acid profiling of five types of cancer patients and its application for early detection. PloS one 2011; 6(9):24143.






## 6. EKLER



EK-1: Etik Kurul Onay Formu

Evrak Tarih ve Sayısı: 22/03/2019-13397

<b>HARRAN ÜNİVERSİTESİ</b> <b>TIP FAKÜLTESİ</b> <b>Etik Kurul Kararı</b>	
<b>TARİH</b>	: 11.03.2019
<b>OTURUM</b>	: 03
<b>SAAT</b>	: 13:00

HRÜ/19.03.46	<p><b>Karar:</b> Üniversitemiz Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Dr. Öğr. İsmail KOYUNCU'nun yürüttüğü olduğu "Farklı Meme Kanseri Hücre Tiplerinin (MCF-7, MDA-MB-231,CRL-4010) Serbest Amino Asit Profiline İncelenmesi" başlıklı çalışma için Etik kurul iznine gerek duyulmadığına;</p> <p>Oy birliği ile karar verilmiştir.</p> <p style="text-align: center;"> <b>ASLI GİBİDİR</b> <b>Prof. Dr. Zelma YILMAZ</b> <b>Etik Kurul Başkanı</b></p>
--------------	---

Bu belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununa göre Güvenli Elektronik İmza ile imzalanmıştır



T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU VE BEYAN BELGESİ

**Öğrencinin**  
Numarası :145302005  
Adı, Soyadı :Mevlut BAHÇEVAN  
Anabilim Dalı :.Tıbbi Biyokimya  
Programı : Yüksek Lisans  
Tezin Adı : "Farklı Meme Kanseri Hücre Tiplerinin (MCF-7, MDA-MB-231 ve CRL-4010) Serbest Aminoasit Profilinin İncelenmesi"

SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Yukarıda başlığı belirtilen Farklı Meme Kanseri Hücre Tiplerinin (MCF-7, MDA-MB-231 ve CRL-4010) Serbest Aminoasit Profilinin İncelenmesi çalışmamın; *kapak sayfası, giriş, ana bölümler ve sonuç* kısımlarından oluşan toplam 53 sayfalık kısmına ilişkin, 17/10/2019 tarihinde şahsım/ danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orjinallik raporuna göre, benzerlik oranı %..20'dir.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kabul/Onay ve Bildirim sayfaları hariç,
- 2- Kaynakça hariç
- 3- Alıntılar hariç
- 4- 5 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Yukarıda bilgileri verilen tezin, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından kabul edilen lisansüstü orjinallik raporu alınması uygulama esasları ile belirlenen azami benzerlik oranlarını aşmadığını ve bütün bilgilerin, akademik kurallara uygun olarak toplanıp sunulduğunu, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçları andığımı, blok şeklinde alıntılar yapmadığımı ve tüm alıntılarım bilimsel atıf kuralları çerçevesinde kaynağını gösterdiğimi, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi ile Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesinin 8. maddesinde yer alan etik ihlallerden her hangi birisinin yer almadığını, etik ihlal tespiti halinde, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca, diplomamın iptal edilmesini kabul ediyorum.

Gereğini saygılarımla arz ederim. 17/10/2019

**Tezi Hazırlayan Öğrencinin**

Adı-Soyadı: Mevlut BAHÇEVAN

İmzası:

Yukarıda yer alan raporun ve beyanım doğruluğunu onaylarım. 17/10/2019

**Danışmanın**

Unvanı-Adı-Soyadı: Dr. Öğr. Üyesi İsmail KOYUNCU

İmzası:   
Yrd. Doç. Dr. İsmail KOYUNCU  
H.R.Ü. Araştırma ve Uygulama  
Tıbbi Biyokimya A.B.D.

# EK-3: İntihal raporu

17.10.2019

Turnitin

## Turnitin Orjinallik Raporu

İşleme kondu: 17-Eki-2019 15:04 +03  
NUMARA: 1194688656  
Kelime Sayısı: 9708  
Gönderildi: 1

Benzerlik Endeksi  
**%20**

Kaynağa göre Benzerlik  
İnternet Sources: %11  
Yayımlar: %2  
Öğrenci Ödevleri: %12

FARKLI MEME KANSERİ HÜCRE  
TIPLERİNİN (MCF-7, MDA-MB-231 VE  
CRL-4010) SERBEST AMİNOASİT  
PROFİLİNİN İNCELENMESİ Mevlüt  
Bahcevan tarafından

7% match (26-Tem-2016 tarihli internet)

<http://docplayer.biz.tr/3434651-Olasliginin-bu-hastaliklarin-teshis-ve-onu-mlerinin-aciklanmasinda-onemli-roller-ustlenebilecegini-dusundurmustur-10-18.html>

3% match (17-Tem-2019 tarihli öğrenci ödevleri)  
Submitted to Selçuk Üniversitesi on 2019-07-17

2% match (05-Haz-2017 tarihli öğrenci ödevleri)  
Submitted to Selçuk Üniversitesi on 2017-06-05

1% match (20-Kas-2015 tarihli internet)  
[http://www.stetoskop.net/Tibbi\\_Makale\\_file\\_print\\_sid-694.html](http://www.stetoskop.net/Tibbi_Makale_file_print_sid-694.html)

1% match (28-Haz-2015 tarihli internet)  
[http://aclibsim.bitapublib.com/doi/10.1002/1097-4644\(201505\)11:3462:1-10945621.pdf?sequence=2-1](http://aclibsim.bitapublib.com/doi/10.1002/1097-4644(201505)11:3462:1-10945621.pdf?sequence=2-1)

< 1% match (05-Eki-2019 tarihli internet)  
[https://www.nature.com/articles/nutd2016557code=9bb76bcf-07cd-4bfc-83d2-7e3d28457ae3&error=cookies\\_not\\_supported](https://www.nature.com/articles/nutd2016557code=9bb76bcf-07cd-4bfc-83d2-7e3d28457ae3&error=cookies_not_supported)

< 1% match (24-Haz-2019 tarihli öğrenci ödevleri)  
Submitted to Eastern Mediterranean University on 2019-06-24

< 1% match (27-May-2015 tarihli internet)  
<http://www.fachbereichswissenschaften.uni-wuerzburg.de/~jz6/1.76.pdf>

< 1% match (08-May-2018 tarihli öğrenci ödevleri)  
Submitted to Eastern Mediterranean University on 2018-05-08

< 1% match (30-Tem-2015 tarihli internet)  
<http://luray.vcu.edu/~wheeler/S754.pdf>

< 1% match (14-Şub-2017 tarihli öğrenci ödevleri)  
Submitted to Erciyes Üniversitesi on 2017-02-14

< 1% match (16-Ağu-2019 tarihli öğrenci ödevleri)  
Submitted to Anadolu University on 2019-08-16

< 1% match (27-May-2019 tarihli öğrenci ödevleri)  
Submitted to Marmara University on 2019-05-27

< 1% match (18-May-2015 tarihli internet)  
<http://dspace.trakya.edu.tr/servlet/bitstream/11112/1/ZEYNEP%20PEHLI%CA%80VATO%CA%9ELU.pdf>

< 1% match (09-Tem-2019 tarihli öğrenci ödevleri)  
Submitted to Selçuk Üniversitesi on 2019-07-09

< 1% match (25-Ara-2017 tarihli öğrenci ödevleri)  
Submitted to İstanbul University on 2017-12-25

< 1% match (10-Haz-2019 tarihli öğrenci ödevleri)  
Submitted to Okan Üniversitesi on 2019-06-10

< 1% match (12-Tem-2019 tarihli internet)  
<https://link.springer.com/article/10.1007/s00726-016-3215-2>

< 1% match (yayımlar)  
K. B. C. J. Hanry, "Plasma-free amino acid profiles are predictors of cancer and diabetes development", Nutrition & Diabetes, 2017

< 1% match (23-Mar-2016 tarihli internet)  
<http://aclibsim.deu.edu.tr/xmlui/bitstream/handle/12345/12890/340728.pdf?isAllowed=y&sequence=1>

< 1% match (18-Tem-2016 tarihli öğrenci ödevleri)  
Submitted to Anadolu University on 2016-07-18

T.C  
YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
ULUSAL TEZ MERKEZİ

TEZ VERİ GİRİŞ FORMU

Referans No	10306334
Yazar Adı / Soyadı	MEVLUT BAHÇEVAN
T.C.Kimlik No	15806898218
Telefon	5323821344
E-Posta	mbahcevan@hotmail.com
Tezin Dili	Türkçe
Tezin Özgün Adı	FARKLI MEME KANSERİ HÜCRE TİPLERİNİN (MCF-7, MDA-MB-231 VE CRL-4010) SERBEST AMİNOASİT PROFİLİNİN İNCELENMESİ
Tezin Tercümesi	INVESTIGATION OF THE FREE AMINOACIDE PROFILE OF DIFFERENT BREAST CANCER CELL TYPES (MCF-7, MDA-MB-231 AND CRL-4010)
Konu	Biyokimya = Biochemistry
Üniversite	Harran Üniversitesi
Enstitü / Hastane	Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Bilim Dalı	Biyokimya Bilim Dalı
Tez Türü	Yüksek Lisans
Yılı	2019
Sayfa	52
Tez Danışmanları	DR. ÖĞR. ÜYESİ İSMAİL KOYUNCU
Dizin Terimleri	
Önerilen Dizin Terimleri	Meme kanseri, MCF-7, MDA-MB-231, CRL-4010 Serbest aminoasit profili

01.11.2019

İmza: 