



T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

BRCA-1 VE BRCA-2'DE SIK GÖRÜLEN NOKTA MUTASYONLARININ BÖLGEMİZDE GÖRÜLME SIKLIĞI

Dr. ARİF HAMİDİ
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DİYARBAKIR-2016



T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

BRCA-1 VE BRCA-2'DE SIK GÖRÜLEN NOKTA MUTASYONLARININ BÖLGEMİZDE GÖRÜLME SIKLIĞI

Dr. ARİF HAMİDİ
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ YÖNETİCİSİ
Prof. Dr. HÜSEYİN BÜYÜKBAYRAM

DİYARBAKIR-2016

ÖNSÖZ

Asistanlık eğitimim süresince yardım ve desteklerini esirgemeyen, bilimsel ve mesleki deneyimleri başta olmak üzere her konuda yol gösterici olan başta tez danışman hocam Prof. Dr. Hüseyin BÜYÜKBAYRAM'a, diğer hocalarım Doç. Dr. Uğur FIRAT, Doç. Dr. Selver ÖZŞENER ÖZEKİNCİ, Yrd. Doç. Dr. Ayşenur KELEŞ, Yrd. Doç. Dr. Gül TÜRKÇÜ, Yrd. Doç. Dr. Ulaş ALABALIK, Yrd. Doç. Dr. İbrahim İBİLOĞLU, Yrd. Doç. Dr. Gülay AYDOĞDU, Yrd. Doç. Dr. Engin Deniz YILMAZ'a,

İstatistiksel değerlendirmede yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. İsmail YILDIZ'a,

Beraber çalışmaktan ve tanışmaktan mutluluk duyduğum arkadaşlarım Uz. Dr. Gülseren ÖZEL, Uz. Dr. Songül YERLİKAYA KAVAK, Uz. Dr. Yılmaz YILDIZ, Uz. Dr. Yahya AVCI, Uz. Dr. Şeyhmus KAYA, Arş. Gör. Dr. Berat SOYLU, Dr. Mansur ALA, Arş. Gör. Dr. Fatma Şule KUTLAR DURSUN, Arş. Gör. Dr. Nursel COŞKUNSEL, Arş. Gör. Dr. Mustafa NACİR'e

Çalışmamın DNA izolasyon aşamasına yardımcı olan arkadaşlarım teknisyen Neval TANIŞ ÖZDEMİR ve Biyolog Osman AKAMAN olmak üzere bölümümüzde çalışan tüm arkadaşlarıma,

Genetik konularda yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Sevgi İRTEGÜN, M. Ali TEKİN ve Irmak İÇEN'e

Bu tezin hazırlanmasında maddi destek sağlayan "Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü (DÜBAP)'ne (TIP.15.017 no lu proje),

Son olarak her dönemde manevi desteğini hissedeceğim bugünlere gelmemde büyük katkıları olan başta annem, rahmetli babam ve canım kardeşlerim olmak üzere tüm aileme teşekkürlerimi sunuyorum.

MART- 2016

ARİF HAMİDİ

ÖZET

Dünya sağlık örgütünün verilerine göre meme kanseri dünyada kadınlar arasında en sık görülen malign tümör olup, tüm kadın kanserlerinin yaklaşık %25'ini oluşturmaktadır. Meme kanseri kadınlarda %14.7 ile ölüme en sık neden olan kanser tipidir. Her yaş grubunda görülebilmesine karşın genç yaşta ailesel olguların dışında nadir olarak görülmektedir. BRCA 1, 2 mutasyonları, nokta mutasyonlarından dolayı oluşan meme kanserlerinin çoğunluğunu ve genel meme kanserlerinin %3'ünden sorumlu tutulmaktadır. BRCA 1 ve BRCA 2 genlerinde kodlama bölgeleri boyunca dağılan yüzlerce farklı mutasyon bildirilmiştir. Bu mutasyonların belirlenmesinde bir çok metod kullanılmaktadır. Bunlardan biri de Real-time PCR yöntemidir.

Araştırmamızda Diyarbakır Dicle Üniversitesi Tıp fakültesi Patoloji Anabilim Dalında genç yaş (42 yaş altı) grubu kadınlarda meme kanseri tanısı almış 96 adet hasta değerlendirildi. Bu hastalara ait yaş, tümör lokalizasyonu, grade, ER, PR, HER-2 reseptör durumu ve rezeksiyon materyallerinde tümör çapı gibi parametreler değerlendirildi. Bu hastaların biyopsi ve rezeksiyon dokularına ait materyallerden elde edilen tümör dokularında, meme kanserinde sık olarak tespit edilen BRCA 1 (**rs80357713**, **rs80357906**, **rs28897672**) ve BRCA 2 (**rs80359550**) genlerine ait nokta mutasyonlarının bölgemizdeki sıklığını PCR özgül belirleme grubundan Hibridizasyon Prob Yöntemiyle "LightCycler" PCR cihazı kullanılarak belirlemeyi amaçladık.

Çalışmamızda elde ettiğimiz verilere göre 96 olgumuzdan sadece bir tanesinde BRCA 1 genine ait **rs80357906 [5382insC]** nokta mutasyonu saptadık. Bu sayı istatistiksel analizler için oldukça yetersiz bulunmuştur. Çalışmamızdaki olgu sayısı 96'dır. Literatürde yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında olgu sayımız oldukça azdır. Çalışmada heterojen bir hasta grubumuz vardı. Belirli bir histolojik tip veya moleküler alt tip ve spesifik gruplar belirlenip buna uygun olgu seçimi yapılarak çalışmanın tekrarlanması durumunda daha farklı sonuçlara ulaşılabileceği kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: BRCA-1; BRCA-2; meme kanseri; nokta mutasyon

ABSTRACT

According to the World Health Organization, breast cancer is the most common malignant tumor among women in the world, accounts for approximately 25% of all female cancers. A breast cancer is a cancer type which is the most common cause of death in women with accounting for 14.7%. Its incidence increases with age. Even though breast cancer can be seen in all age groups, yet the familial cases usually seen at an early age. The etiology of breast cancer is multifactorial due to biological and clinical heterogeneity. BRCA 1,2 mutations account for the majority of the breast cancers caused by the point mutations, and for 3% of the general breast cancers. Hundreds of different mutations distributed throughout the coding regions in BRCA 1 and BRCA 2 genes have been reported. Many methods are used to identify these mutations. One of them is the real-time PCR.

In our study, we aimed to detect common mutations identified in women with breast cancer at young age (below 42 years old) who evaluated parameters such as ER, PR, HER 2, age, tumor localization, tumor diameter and grade presented to Diyarbakir Dicle University Department of Pathology and using "LightCycler" PCR machine by Roche with Hybridization Probe Method from PCR Specific determination group in order to identify common mutations including BRCA 1 (rs80357713, rs80357906, rs28897672) ve BRCA 2 (rs80359550).

According to our data, out of 96 cases we detected only one rs80357906 [5382insc] point mutations related to BRCA 1 gene family. This number has been quite insufficient for statistical analysis. The number of patients in this study was 96. Compared with studies in the literature, the number of our cases is quite small. We had a heterogeneous group of patients in the study. We believe would have been possible to achieve to different results with repetition of study by choosing a particular histological type or molecular subtypes or specific groups of patients.

Key words: *BRCA-1; BRCA-2; point mutation; breast cancer*

Simgeler ve Kısaltmalar Dizini

ATM: Ataxia Telangiectasia Mutated

AR: Androgen reseptör

BARD1: BRCA1 associated RING domain 1

BASC: BRCA1-associated genome surveillance complex

BRCA 1: Breast cancer 1, early onset (Erken başlangıçlı meme kanseri 1)

BRCA 2: Breast cancer 2, early onset (Erken başlangıçlı meme kanseri 2)

CHEK2: Checkpointkinase2

CDH1: Cadherin1

ER: Östrojen reseptörü

EGFR: Epidermal growth factor receptor

FISH: Fluorescence in situ hybridization

HER 2: Human epidermal growth factor

NGS: Next generation sequencing

PALB2: Partner and Localizer of BRCA2

PCR: Polymerase chain reaction

PR: Progesteron reseptörü

SNP: Single Nucleotide Polymorphism (Tek Nükleotid Değişikliği)

İÇİNDEKİLER

Sayfalar

Önsöz.....	i
Özet	ii
İngilizce Özet (Abstract)	iv
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	vi
1. Giriş ve Amaç	1
2. Genel Bilgiler	3
2.1. Memenin embriyolojik gelişimi.....	3
2.2. Meme Anatomisi	4
2.3. Meme Histolojisi	5
2.4. Meme Kanseri	9
2.4.1 İnsidans.....	9
2.4.2 Epidemiyoloji.....	9
2.4.3 Etyoloji ve Patogenez.....	13
2.4.4 Sporadik meme kanseri.....	13
2.4.5 Herediter meme kanseri	13
2.4.6. Meme kanserinde rol oynayan genler.....	14
2.4.6.1 Meme kanserinde rol oynayan onkogenler.....	14
2.4.6.2 Meme kanserinde rol oynayan tümör supresör genler.....	15

2.4.7. BRCA 1 ve BRCA 2 geni.....	18
2.4.8. Meme Tümörlerinde Prognostik Faktörler.....	20
2.4.9. Meme Tümörlerinin Sınıflandırılması.....	21
2.5. Meme Tümörlerinde Prognostik Faktörler.....	29
3. Gereç ve Yöntem.....	36
3.1. Parafine Gömülü Dokulardan Genomik DNA İzolasyonu.....	36
3.2 DNA Saflığının Belirlenmesi ve Konsantrasyon Hesaplanması.....	38
3.3. BRCA 1 ve BRCA 2 Gen Mutasyonlarının Real-Time PCR ile Belirlenmesi.....	38
3.4. İstatistiksel Yöntem.....	41
4. Bulgular.....	45
5. Tartışma ve Sonuç.....	53
6. Kaynaklar.....	61

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri dünyada kadınlarda en sık görülen malign tümördür. Kadınlarda görülen tüm kanserlerin yaklaşık %23' ünü meme kanserleri oluşturmaktadır. Meme kanserinin dünyada ortalama insidansı yüz binde 38-40 iken, Avrupa'da bu oran yüz binde 66-67, ülkemizde ise ortalama yüzbinde 40 civarındadır [1]. İnvaziv duktal karsinom en sık görülen meme kanseri olup meme kanserlerinin %70-80'ini oluşturmaktadır. Meme kanseri 30 yaştan önce nadir görülür, ancak reproduktif dönemde hızlı bir artış gösterir, menopoza sonrasında daha düşük bir ivmeyle artış devam eder [2]. Dünya'da en çok tanı konulan kanserler akciğer (%13,0), meme (%11,9) ve kolon (%9,7) iken kanserden ölümlerin ise en çok akciğer (%19,4), karaciğer (%9,1) ve mideden (%8,8) gerçekleştiği belirtilmiştir [1]. Uluslararası Kanser Ajansı özellikle meme kanserindeki artışa dikkat çekmiştir. Kadınlarda meme kanser insidansının bir önceki tahminlere göre %20, meme kanserinden ölümlerin ise %14 arttığını belirtmiştir. Meme kanseri kadın kanserleri içinde en fazla görülen ve en fazla ölüme neden olan kanserdir. Dünyada kanser olan her 4 kadından biri meme kanseridir. Meme kanseri insidansı gelişmiş ülkelerde gelişmekte olan ülkelere göre daha yüksek, meme kanserinden ölüm ise gelişmiş ülkelerde gelişmekte olan ülkelere göre daha düşüktür [3]. Meme karsinomu tanısındaki bu keskin artışın, tarama programlarının hayata geçirilmesi, özellikle mamografinin geniş kullanım alanı bulmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Artık bir çok vaka 2 cm'den küçük ve/veya in situ formda yakalanabilmektedir. Tanı ve tedavideki ilerleme ile beraber meme kanserinden korunma stratejileri ve kanser gelişiminde artmış riskin belirleyicilerini belirlemeye yönelik olan çalışmalar artış göstermiştir [4].

Meme kanserinin histolojik subtipleri çok geniş bir yelpazede ele alınmış, heterojen bir hastalık grubudur. Klinik ve prognoz hastalar arasında farklılıklar arz eder. Tümörün büyüklüğü, histolojik derecesi ve aksiller lenf nodu metastazı gibi kriterlerin prognozu belirlemede yol gösterici olduğu belirlenmiştir [2].

Meme kanseri için major risk faktörleri yaş, cinsiyet, geçirilmiş meme hastalığı, ailede meme kanseri öyküsü ve genetik yatkınlık olarak belirlenmiştir. Meme kanseri oluşumunda bir çok tümör supresör genler, onkogenler ve DNA tamir genleri rol oynar. EGFR, HER-2/neu, Ras, c-Myc, Siklinler, siklin bağımlı kinazlar ve

inhibitörleri kanserde etkili onkogenlerdendir. Tümör supresör genlerden p53, ATM, PTEN, BRCA1 ve BRCA2 genlerinin meme kanserine yol açtığı belirlenmiştir. Meme kanserlerinin büyük çoğunluğu sporadik vakalar olarak görülürken, tüm olguların % 5–10'unu kalıtsal nedenli ailesel meme kanseri oluşturur. BRCA geninin keşfedilmesinden sonra yapılan çalışmalar sonucu BRCA1 ve BRCA2 genlerinin mutasyonunun tüm ailesel kanserlerin %40-50'sinden sorumlu olduğu ortaya konmuştur [5].

1990 yılında uluslararası destekli çalışmalarda, BRCA1 kromozom 17q ile bağlantılı bulundu ve 1994 yılında klonlandı [6]. BRCA1 geni; enbüyük ekzon bölgesi 11 olan 24 ekzonluk büyük bir gendir. Mutasyonlar genelde genin kodlama sekansı boyunca bulunan ve kırılmış proteinlerle sonuçlanan çerçeve kayması şeklinde bulunur. Yüzden fazla spesifik patolojik BRCA 1 mutasyonu tanımlanmasına rağmen belirli topluluklardaki mutasyonlar ortaktır. Mesela aşkenazi yahudilerinde, c.68_69delAG ve c.5266dupC (daha önce 185delAG/5382insC) nüfusun yaklaşık %1,2' sinde ortaya çıkmıştır. c.5266dupC mutasyonu ayrıca diğer Doğu Avrupa popülasyonlarında özellikle Polonya'da sık görülmüştür [7, 8].

Çalışmamızda 2010-2015 yılları arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında tanı almış, 45 yaş altı meme kanserinin çeşitli histolojik alt tipleriyle tanılı 96 vakaya BRCA1 ve BRCA2' de bazı popülasyonlarda arttığı gözlenen toplam 4 adet nokta mutasyonun varlığını araştırmayı amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Memenin embriyolojik gelişimi

Meme bezleri gebeliğin beşinci haftasında, primitif süt çizgisi olarak, epidermisin bant benzeri kalınlaşmayla kendini gösterir. Yedi haftalık embriyoda bu çizgi, aksilladan inguinal bölgeye kadar uzanır. Daha sonra bu bandın büyük kısmı regrese olur ve torakopektoral bölgede meme kabartısı şeklinde küçük bir bölüm olarak kalır. Ektopik meme dokusu Süt çizgisinin artıklarından aksilla ve vulva başta olmak üzere gelişebilir. Glandüler yapılar 7-8. haftada farklılaşmaya başlayıp daha sonra göğüs duvarı mezenkimine invajinasyon (disk evresi), üç boyutlu büyüme (küre evresi) ve 10-14. haftalarda koni evresi oluşur. 12-16. haftada göğüs duvarındaki mezenkimal hücrelerin diferansiasyonu ile meme başı ve areolanın düz kası meydana gelir. 16. haftada epitelyal tomurcuk ve gelecekteki sekretuar alveolü oluşturacak epitelin 16-24 filizin dallanması ortaya çıkar. Memenin bu gelişiminin hormonlardan bağımsız olarak gerçekleştiği düşünülmektedir. Üçüncü trimesterde fetal dolaşıma giren plasental steroid hormonlar dallanmış epitelyal dokunun kanalizasyonunu ortaya çıkartır. Parankimal diferansiyasyon 32-40. haftalar arasında oluşur. Termdeki fetusta 16-24 meme duktusu meydana gelmiştir. Doğumda, ana duktus, dallanan duktuslar ve az sayıda lobüler ünite görülebilir [2, 9-11]. Terme yakın dönemde fetal meme dokusu maternal ve plasental steroidlerden ve prolaktinden etkilenir ve kolostrum sekresyonu oluşur. Doğumda maternal seks steroidleri ve prolaktinin çekilmesi ile ve bu sekretuar aktivite hayatın 1. ayı veya 2. ayında sona erer. İnfanın cinsiyeti bu gelişim evresini etkilemez. Maternal steroidler ve prolaktin eksikliğinin devam etmesi ile glandlar basit duktular organizasyonlarına dönerler. Bundan sonra meme dokusunun gelişimi ve diferansiasyonu, steroid ve peptit hormonlara ve büyüme faktörlerine bağlıdır [12]. Memenin esas gelişimini sağlayan, pubertede testosteronun relatif yokluğudur. Meme dokusu tam olarak geliştikten sonra menopoza kadar menstrual siklus sırasında ve gebelikte döneminde çeşitli değişiklikler gösterir. Menopozda ise parankimal lobuloalveoler yapıların regresyonu ile karakterli involüsyonel değişiklikler meydana gelir [13, 14].

2.2. Meme Anatomisi

Meme pektoralis majör kasının önünde ön göğüs duvarında yer almaktadır ve tipik olarak vertikal aksta ikinci kottan altıncı kota ve horizontal aksta sternum kenarından orta aksiller çizgiye uzanım göstermektedir. Spence kuyruğu olarak meme dokusu aksillaya da uzanım gösterebilir. Meme lateralde serratus anterior kası ve inferiorda eksternal oblik kas ve superior rektus kası kılıfı üzerinde seyrederek. Yoğun fibröz doku demetleri olan, Cooper asıcı ligamanları deriden pektoral fasyaya uzanır ve memeye destek yapı oluşturur. Memenin anatomik olarak iyi tanımlanmış sınırı pektoral fasyayla birleştiği derin yüzüdür, mikroskobik bez dokusu pektoral fasyaya girebilir hatta aşabilir. Bu durum total mastektomi olgularında tüm meme dokusunun çıkarılmasıyla son bulmamasını açıklamaktadır [15]. Meme, tubuloalveolar tipte bezlerin oluşturduğu ortalama 15-20 lobdan meydana gelen, modifiye aksesuar bir ter bezidir. Santralinde 6. interkostal aralık hizasında meme başı ve bunun çevresinde pigmente bir alan olan areola yapısı mevcuttur [16].

Her bir meme; üst dış kadran, alt dış kadran, üst iç kadran, alt iç kadran ve areola olmak üzere bölümlere ayrılarak değerlendirilmektedir. Meme dokusunun ana kitlesi genellikle üst yarıda ve daha çok dış kadranda yer alır. Bu nedenle, meme kanseri ve başlıca benign lezyonlar daha çok bu kadranda tespit edilmektedir [3].

Meme; internal mammarian (torasik); interkostal, aksiller ve torakoakromial arterin pektoral dallarından beslenir. Bu damarlanmalar değişik varyasyonlar gösterir ve her iki memede simetrik değildir. Venleri de değişik varyasyonlar göstermekle beraber interkostal, aksiller, internal mammarian (torasik) venlerden oluşmaktadır. Meme dokusu innervasyonları 2-6. interkostal sinirlerin dallar ile sağlanır, üst bölümünün az bir alanındaki deri ise supraklaviküler sinir dallarından innerve olur. Memenin lenf drenajı yaklaşık %75-95'i aksiller lenf düğümlerine, %5-25'i internal mammarian lenf düğümlerine, çok az bir kısmı ise kostavertebral ekleme yakın

alandaki posterior interkostal lenf düğümlerine drene olur. Lenfatik sistem anatomik olarak üç bölgeye ayrılır [3].

Level 1: Pektoralis minörün lateral kenarının yanında, alt kenarının altında, aksiler ven boyunca uzanan lenf düğümleridir. Mammaria eksterna, aksiller ven ve skapuler lenf düğümü gruplarını içermektedir.

Level 2: Pektoralis minör kasının arkasında, medial ve lateral sınırları arasında uzanmakta olup, santral bölge lenf düğümlerini içerir.

Level 3: Pektoralis minör kasının medial sınırının medialinde ve superiorunda sıralanıp, subklaviküler, intraklaviküler, apikal lenf düğümlerini içerir.

Rotter lenf düğümleri: Pektoralis major ve minör arasında bulunur.

İnternal mammarian lenf düğümleri: İntertoraskik lenf nodları olarak da adlandırılan bu düğümler parasternal bölgede, interkostal aralıkta, internal mammar damarların medialinde uzanıp, lenfatik akımın %25 'ini sağlar [3].

2.3.Meme Histolojisi

Erişkin kadın memesi duktus ve asinus yapılardan oluşur. Asinuslar bir araya gelerek lobulleri oluşturur. Meme başında duktuslar laktiferöz sinüsleri oluşturmak üzere genişleyip buraya açılırlar. Bu sinüsler meme başının altında koni şeklinde genişleyerek son bulur. Duktus ve lobülüsler değişen oranda fibröz doku ve yağ dokudan oluşan stroma içerisinde yer alır. Laktasyonda olmayan erişkin memesinin çoğunluğunu stroma oluşturur, fibröz doku ve yağ doku oranı yaş ve bireye göre değişebilmektedir [17].

Duktal sistem: Meme ucundan sırası ile ana laktiferöz duktus, laktiferöz sinus, laktiferöz segmental duktus, subsegmental duktus, terminal duktus ve onun lobül içi dallarından meydana gelir. Ana laktiferöz duktuslar, meme başının deri yüzeyine açılır. Duktus orifisi ve duktusun küçük bir bölümü çok katlı yassı epitel ile döşeli olup, daha sonraki bölümü, laktiferöz sinus iki tabakalı küboidal epitel ile devam eder. Laktiferöz sinusdan sonraki duktusları ise içte tek sıralı epitel döşemekte olup, bu epitel silindirik ya da küboidal yapıdadır (Şekil 1,2) [9, 18, 19].

Meme lobülleri: Meme lobülü, her bir terminal duktusun küçük bir bölümü ve onun tomurcuklanması ile oluşan asinuslardan (duktüller) oluşur ve patolojik lezyonların çoğunun geliştiği bölge terminal duktüler lobüler ünit (TDLU) adını alır. Meme lobüllerinin boyutu ve lobül içindeki asinusların sayısı oldukça değişkendir. Asinuslar gebelik ve laktasyon dışında afonksiyoneldir. Asinuslar içte tek sıralı küboidal, dışta miyoepitelial hücreler ile döşelidir ve en dışta bazal membran mevcuttur [3].

Endometriumda olduğu gibi, her menstrüel siklusda memede az da olsa bazı morfolojik değişiklikler görülür. Folliküler fazda, lobüller rölatif olarak sakindir. Ovulasyondan sonra, progesteron düzeyindeki artışa bağlı olarak hücre proliferasyonu ve her bir lobüldeki asinus sayısı artmakla birlikte sitoplazmada vakuolizasyon gelişir. Lobül stromasında ödem belirginleşir, lenfosit sayısı artar, genelde memede premenstrüel dönemde hissedilir büyümeye neden olur. Menstrüasyonda, östrojen ve progesteron düzeyinin düşmesini epitel hücre ölümü (apoptoz) izler, stromal ödem, lenfositik infiltrasyon kaybolur, lobülün boyutu küçülür [3].

Gebelikte, hem morfolojik hem de fonksiyonel aktivite birliktedir. İlk 20 haftasında proliferatif aktivite, ikinci yarısında ise sekretuar ve laktasyonel değişiklikler artar, hücrelerde lipid ve sekretuar materyal belirir, miyoepitelial hücreler azalır. Gebeliğin sonunda, meme dokusunun hemen hemen tümü, ince bağ dokusu stroma ile birbirinden ayrılmış lobüllerden oluşur [3].

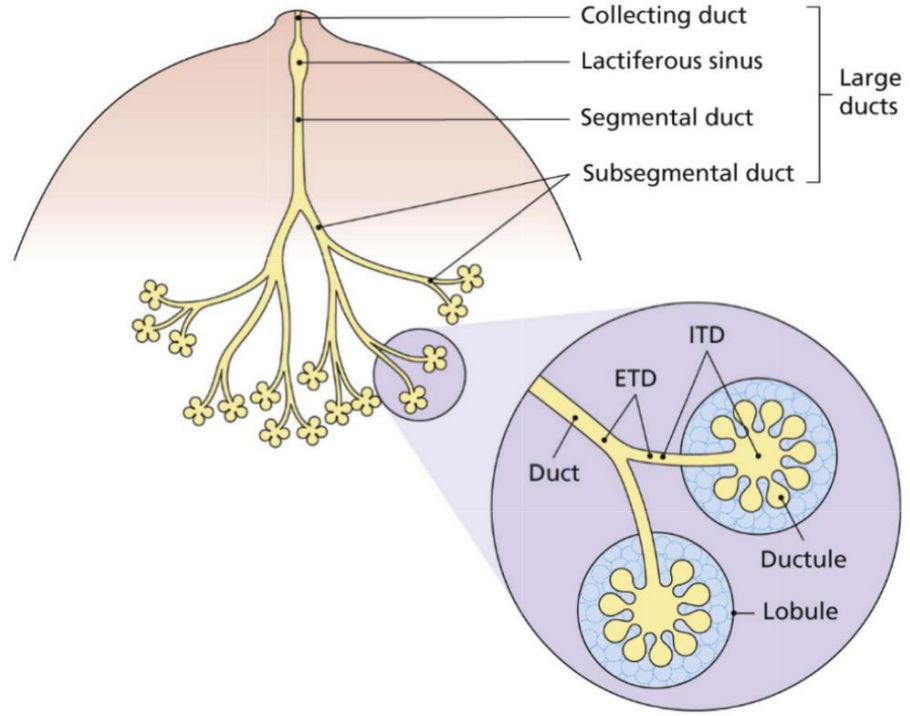
Doğumdan hemen sonra, prolaktin hormon etkisi ile süt sekresyonu başlar. Asinusların epiteli içinde ve lümende sekresyon birikir. Laktasyonun bitiminden sonra, meme lobüllerinde geri dönüş (involyasyon) başlar, lobüller atrofiye olur, bu değişik sürede ve memede farklılıklar göstererek sürer. Lobül stromasında fibröz dokuda artış, hyalinizasyon, epitelde düzleşme, intralobüler stromada yağ ve bağ dokusu, lenfosit ve makrofajlarda artış görülür. Bazen tam regresyon olmayabilir, lobüllerde sayısal artış ve büyüklük kalabilir [3].

Meme dokusunda üçüncü dekattan sonra başlayan, menopozdan sonra daha da artan atrofi olur, lobüldeki asinusların epitel ve myoepitel hücreleri azalır, lümen daralır, bazal membran kalınlaşır, çevresinde kalın sklerotik, hiyalinize bağ dokusu bulunur, daha sonra lobül içi stroma hiyalinize nodüle dönüşür, memede yağ dokusu artar. Bazen meme dokusunda birkaç duktusda hafif, orta düzeyde kistik yapı gelişir ve “kistik atrofi” olarak isimlendirilir. Birçok yaşlı meme dokusunda, miyoepitelial hücrelerde belirginleşme meydana gelir, ayrıca hipertrofi ve hiperplazi görülür [3].

Meme stroması: Memenin interlobüler geniş alanlarında, yağ dokusu ve yoğun kompakt fibrokonnektif doku bulunmaktadır. Lobül içi bağ dokusu ise daha gevşek, daha hücrelidir, bu stromanın özelleşmiş ve meme stromasının hormona duyarlı bölümü olduğu düşünülür, ince bir bant biçiminde duktusların çevresinde de devam eder [3].

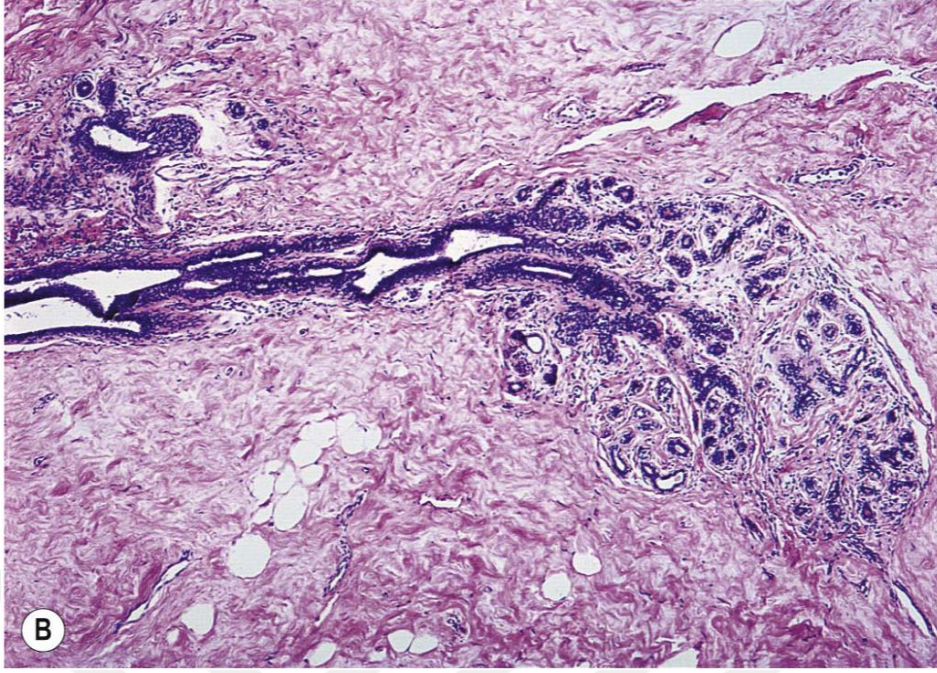
Meme başı ve areola: Çok katlı yassı epitel ile örtülüdür. Epidermisde saydam hücreler bulunur, bu hücreler ‘Paget hücreleri’ ile karıştırılmamalıdır. Areolada çok sayıda sebace bezler (Montgomery bezleri) mevcuttur ve bunlar laktiferöz duktuslar ile ilişkili olup, gebelikte daha belirgin olmaya baslarlar. Montgomery tüberküleri adı verilen kabartılar yapar ve meme başının yağlı olmasını sağlar. Meme başında ayrıca duktuslar çevresinde düz kaslar, sinir uçları, Meissner korpüskülleri, bazen meme asinusları da izlenmektedir [3].

Şekil 1 : Terminal düktüler lobuler unitin şematik görünümü [9]



ETD: Ekstralobuler terminal dukt, ITD: İntralobuler terminal dukt.

Şekil 2: Terminal düktüler lobuler unit histolojik görünümü [9]



2.4. Meme Kanseri

2.4.1. İnsidans :

Dünya sağlık örgütünün verilerine göre meme kanseri dünyada kadınlar arasında en sık görülen malign tümör olup, tüm kadın kanserlerinin yaklaşık %25'ini oluşturur. Dünyada her yıl 1.500.000'dan fazla kadın meme kanseri tanısı almaktadır. Kadınlarda %14.7 ile ölüme en sık neden olan kanser tipidir [1]. Meme karsinomu tanısında özellikle 1980 yılından sonra belirgin bir artış gözlenmektedir. Bunun, mamografinin geniş kullanım alanı bulması ve yeni görüntüleme yöntemlerinin kullanılmasına bağlı olduğu düşünülmektedir [4]. Böylece çoğu vaka daha 2 cm'den küçük ve/veya in situ formda iken tespit edilebilmektedir [20].

2.4.2. Epidemiyoloji:

Meme kanseri insidansı, bir çok epitelyal tümör gibi, yaşla birlikte paralel bir artış gösterir, her yaşta görülebilmesine karşın genç yaşta ailesel olguların dışında nadir olarak görülür. Dördüncü dekatta 1/231 iken yedinci dekatta 1/29'dur [3]. İnsidans oranları dünyanın farklı bölgelerine göre neredeyse 4 kat değişkenlik

göstermektedir. Orta Afrika ve Doğu Asya'da 100.000 kişide 27 arasında değişkenlik gösterirken bu oran Kuzey Amerika'da 100.000 kişide 92'ye çıkmaktadır. Meme kanseri genel olarak kanserden dolayı ölümlerde 5.sırada yer alıyor (522.000 ölüm). Az gelişmiş yerlerde ise kansere bağlı ölümlerde 1.sıradadır (324.000 ölüm) (Toplam% 14.3). Şimdi ise daha gelişmiş bölgelerde kansere bağlı ölümlerde akciğerden sonra 2. sırada gelmektedir. (198.000 ölüm, % 15.4). Dünya bölgeleri arasında mortalite oranlarındaki dağılım, insidans oranlarındaki dağılımdan daha azdır. Bunun sebebi gelişmiş bölgelerdeki meme kanseri tedavisinin daha iyi sonuçlar vermesinden dolayıdır, ki bu oranlar Doğu Asya'da 100.000'de 6 iken Batı Afrika'da 100.000'de 20'dir. Hastalığa yakalanma riski hem gelişmekte olan hem de gelişmiş ülkelerde artmaya devam etmektedir [1].

Risk faktörleri:

Cinsiyet: En önemli risk faktörüdür. Erkeklerde meme kanseri görülme sıklığı yaklaşık olarak %1'dir [3].

Yaş: Meme kanseri 25 yaşın altında nadir olup, bu yaştan sonra risk menapoza kadar devamlı artar. Sonraki dönemde bunu yavaş bir yükselme izler. 75-80 yaş en yüksek risk düzeyi yaşıdır [3].

Menarş yaşı: Menarş yaşı 11 yaşından daha önce olanlarda, 14 yaşından sonra olanlara göre %20 oranında meme kanseri riski artmıştır. Geç menapoz da riski arttıran bir diğer faktördür [2].

İlk doğum yaşı: 20 yaşından önce ilk doğumu yapanlar, nullipar veya 35 yaşından sonra ilk doğum yapanlarla karşılaştırıldığında yarı yarıya daha az risk altındadırlar. Bu, Afro-Amerikan kadınlar için güçlü bir risk faktörü değildir [2].

Birinci derecede akrabalarda meme kanseri hikayesi: Kanserden etkilenmiş birinci derecede akraba (anne, kız kardeş veya kız) sayısı, özellikle genç hastalarda riski artırır. Ancak çoğu kadında aile öyküsü yoktur. Meme kanseri olan hastaların sadece %13'ünde bir tane birinci derece akraba öyküsü mevcut olup, birden fazla

birinci derece akraba öyküsü oranı ise %1'dir. Buna karşılık, bir aile öyküsü olan kadınların %87' inde meme kanserine yakalanma olmaz [2].

Atipik Hiperplazi: Önceki meme biyopsisinde atipik hiperplazi tanısı almış hatalarda risk artmıştır. Diğer proliferatif fakat atipi içermeyen lezyonlarda ise risk çok azdır [2].

Fibrokistik değişiklikler ve proliferatif hastalıklar: Fibrokistik değişikliklerde gözlenen epitel proliferasyonu geniş bir aralık göstermektedir. College of American Pathologists fibrokistik değişikliği olan vakaları gösterdikleri epitelyal proliferasyona göre dört gruba ayırmış olup gruplardaki kanser gelişme riski belirtilmiştir;

Grup 1: Hafif veya hiç hiperplazi göstermeyenlerde (Adenozis, duktal ektazi, fibroadenom, fibrozis, mastitis, atipisiz hiperplazi, kistler, basit apokrin metaplazi, skuamöz metaplazi) invaziv karsinom riski artmamaktadır.

Grup 2: Orta derecede hiperplazi gösterenlerde (kompleks fibroadenom, atipik orta-şiddetli hiperplazi, sklerozan adenozis, soliter papillom) risk 1,5-2 kat artmaktadır.

Grup 3: Atipik duktal veya lobüler hiperplazi gösterenlerde risk 4-5 kat artmaktadır.

Grup 4: Duktal veya lobüler karsinoma insitu olanlarda risk 8-10 kat artmaktadır [21]. Proliferatif meme hastalığı artan risk ile birliktedir. Özellikle atipik hiperplazi önemli bir risk faktörü olarak karşımıza çıkar. Meme kanseri öyküsü olmayan kadınlarda riski 5 kat arttırır. Familial öykü varlığında risk 11 kat artma eğilimi gösterir [3].

İrk: Amerika verilerine göre hispanik olmayan beyaz kadınlar en yüksek riske sahiptir. Önümüzdeki 20 yıl içinde 50 yaşında meme kanseri gelişme riski, bu grup için 1/15 iken Afro Amerikanlar için 1/20, Asya/ Pasifik adaları için 1/26, Hispanikler için 1/27 olarak öngörülmektedir. P53 mutasyonu Afro Amerikan kadınlarda genelde siktir. Hispanik olmayan beyaz kadınlarla karşılaştırıldığında hispanik kadınlarda daha az görülür. Bu farklılıklarla, etnik gruplar arasındaki genetik varyasyonun meme kanserinden en azından kısmen sorumlu olduğu tahmin

edilmektedir. Bir bilinen örnek de BRCA-1 ve BRCA-2 mutasyonlarının insidansının farklı etnik gruplarda farklı frekanslarda ortaya çıkmasıdır [2].

Ekzojen östrojen: Postmenapozal hormon replasman tedavisi, meme kanseri riskini 1,2 ila 1,7 kat arttırmaktadır. Oral kontraseptiflerin endometrium ve over kanseri riskini azalttığı kanıtlanmasına karşın meme kanseri gelişiminde riski arttırdığına yönelik ikna edici bir çalışma gösterilmemiştir [2].

Meme yoğunluğu: Direkt grafide yüksek radiodansite meme kanseri için güçlü bir faktördür. Dens memelerde direkt grafide kanser tespiti zordur, bu tür hastalarda MR(Manyetik rezonans) yararlı bir yöntem olabilir [2].

Radyasyona maruz kalma: Radyasyon, DNA hasarına yol açarak karsinogenezisin erken evrelerinde etkili olur. Radyasyona maruz kalma sonucu ortaya çıkan meme kanserlerinde 10-15 yıl gibi uzun bir latent süre vardır [3]. Memenin radyasyona maruz kalması; tedavi nedeniyle, atom bombası veya nükleer kazalar sebebiyle, meme kanseri riskini artırır. Bu risk, 20-25 yaşından küçük genç hastalarda ve yüksek radyasyon dozuyla %30 oranında artar. 25 yaş üstü kadınlarda bu oran daha da düşüktür [2].

Karşı Meme ya da Endometrium Karsinomu varlığı: Karşı meme ya da endometrium karsinomunun varlığı meme kanseri riskini artırır. İnvaziv meme kanseri olan hastalarda diğer memede karsinom görülme riski genel popülasyona oranla 5 kat daha fazladır. Özellikle ailesel öyküsü olanlarda risk daha da yüksektir [2]. Lobüler karsinomlu vakalarda bu risk %25-%50'ye yükselmektedir [22].

Coğrafyanın Etkileri: Meme kanserinin görülme oranı ülkeler arasında sayısız farklar gösterir. Asya ve diğer ülkelere kıyasla kanserin en yüksek görülme oranına sahip ABD ve Avrupa ülkelerinde, meme kanseri insidansı 4-7 kat daha fazladır [3].

Diyet alışkanlığı: Büyük çalışmalar, meme kanser gelişme riski ile herhangi bir yiyeceğin korelasyonu arasındaki ilişki bulma konusunda başarısız olmuştur. Kafeinin meme kanser riskini azalttığı, orta veya ağır derecede alkol tüketiminin ise riski arttırdığı belirtilmiştir. Yüksek östrojen düzeyleri ve daha düşük folat düzeyleri bu ilişkiye sebep olabilir [2].

Obezite: Anovulatuvar sikluslu ve siklusun geç döneminde düşük PR seviyelerine sahip 40 yaş altı şişman kadınlarda risk düşüktür. Postmenapozal şişman kadınlarda ise risk artmıştır. Bu durumdan yağ depolarındaki östrojen sentezi sorumlu tutulmaktadır [3].

Egzersiz: Premenapozal kadınlarda, obez olmayan kadınlarda ve miadında gebelik geçirenlerde riski mükemmel bir biçimde azaltır [2].

Emzirme: Ne kadar uzun süreli olursa risk o ölçüde azalır. Laktasyon ovulasyonu baskılar [2].

Çevresel toksinler: Organoklorin pestisit gibi bazı çevresel kontaminasyonların östrojenik etki nedeniyle riski arttırdığı söylense de henüz kanıtlanmış bir çalışma yoktur [2].

Tütün: Sigaranın meme kanseri ile ilişkisi tam olarak saptanmamakla beraber periduktal mastit ile ilişkisi vardır [2].

2.4.3. Etiyoloji ve Patogenez

Biyolojik ve klinik heterojen özelliğe sahip olan meme kanserinin etyolojisi multifaktöriyeldir. Meme kanserinde oluşan denetimsiz hücre çoğalması genellikle genomik instabilite belirtileri ve belirli epitelyal özelliklerin ortadan kalkması gibi değişiklikler sergileyebilmektedir. Bu yüzden kanser gelişimine neden olan moleküler mekanizmaların ve her hastanın tümörünün özelliklerinin belirlenmesi ve buna en uygun tedavi yönteminin uygulanması büyük önem taşıymaktadır. Risk faktörlerinin tamamı meme kanser etyolojisinde yer almakla beraber deney hayvanlarında ve in vitro meme tümörleri üzerinde yapılan çalışmalar, meme kanseri gelişiminde belli başlı  etkenin; genetik, hormonal ve evre olmak üzere önemli rol oynayabileceğini ortaya koymuştur [3].

Meme kanseri gelişiminde rol oynayan majör risk faktörleri hormon ve genetik yapıdır. Meme karsinomlarını bu yüzden, muhtemel hormonal maruziyet sonucu sporadik ve germline mutasyonla ilişkili herediter olarak ikiye ayırabiliriz [2].

2.4.4. Sporadik Meme Kanseri:

Sporadik meme kanserinde temel risk faktörleri hormon maruziyeti ile ilişkili olmakla beraber cinsiyet, menarş ve menopoz yaşı, reproduktif öykü, emzirme ve ekzojen östrojenler diğer risk faktörleridir. Çoğu postmenopozal kadınlarda gelişir ve östrojen reseptörlerini daha fazla eksprese ederler. Östrojen, hem metabolitleri ile hem de DNA hasarı yapan serbest radikaller oluşturarak meme kanseri gelişiminde rol oynarlar. Ancak sporadik meme kanseri gelişiminde hormone maruziyet dışında başka mekanizmalar da rol oynamaktadır. Çünkü belli sayıda meme karsinomunda östrojen reseptörü negatiftir. Ayrıca yüksek östrojen maruziyeti olmayan kadınlarda da sporadik meme karsinomu gelişebilir [2].

2.4.5. Herediter Meme Kanseri:

Primer meme kanserlerinin yaklaşık olarak % 12'sini ailesel meme kanserinden sorumlu genler oluşturmaktadır. Etkilenen birinci derecede akraba sayısı birden fazla ise, kişiler menapozdan önce etkilenmişse ve/veya çok sayıda kanserleri varsa veya aile bireylerinde bu gen için başka spesifik kanserler varsa genlerdeki mutasyon nedeniyle oluşan meme kanseri olasılığı artar. Yüksek riskli meme kanser genindeki tekli mutasyonlar bazı ailelerde artmış riskin sonucudur. BRCA 1,2 mutasyonları, nokta mutasyonlarından dolayı oluşan meme kanserlerinin çoğunluğunu ve genel meme kanserlerinin %3'ünden sorumlu tutulmaktadır. BRCA 1 ve BRCA 2 taşıyıcısı olan kadınlarda hayat boyu meme kanseri olma riski % 30-90 arasında değişmektedir. BRCA 1 mutasyonu ayrıca over karsinomu gelişme riskini de % 20-40 gibi yüksek oranda artırır. BRCA 2 mutasyonu over karsinomu için daha az risk taşır (%10-20), fakat erkek meme kanseri ile daha sık ilişki gösterir. BRCA 1 ve BRCA 2 gen mutasyonu taşıyıcıları ayrıca prostat ve pankreas ve diğer epitelyal kanserler için de yüksek risk eğilimindedir. Diğer genlere bağlı yatkınlık BRCA 1 ve BRCA 2 genine göre daha nadirdir ve herediter meme kanserlerinin %10'unu oluşturmaktadır [2].

2.4.6. Meme Kanseri rol oynayan genler:

Meme kanserinde rol oynayan genleri onkojen ve tümör supresor genler diye ikiye ayırabiliriz.

2.4.6.1. Meme kanserinde rol oynayan onkogenler:

1. Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü (EGFR) ve ERBB2:

EGFR geni kromozom 7'de yerleşmiş olup ERBB2 geni daha çok bilinen ismiyle Her-2/neu, (v-erb-b2 avian eritroblastik lösemi viral onkogen homolog 2) kromozom 17'nin uzun kolunda lokalizedir [23]. Bunlar epidermal büyüme faktör reseptör ailesinin üyeleridir. Batı dünyasında yapılan çalışmalarda meme kanserli hastalarının yaklaşık %7-36'sında EGFR protein ekspresyonunun var olduğu vurgulandı. Ama gen amplifikasyonu meme kanserli hastaların sadece yaklaşık %6'sında tespit edilmiştir [24]. Diğer taraftan Suudi Arabistan'da yapılan çalışmalarda EGFR proteinin meme kanseri ile ilişkisi %1,3 gibi düşük bir oran çıkmıştır. Bu, EGFR ile ilişkili meme kanseri vakalarının bir etnik yatkınlığa bağlı olduğunu düşündürmüştür [25]. Meme kanseri vakalarının yaklaşık olarak % 25-30'unda ERBB2 geni amplifiyedir [26]. Bu gen hücre yüzeyinde yer alan ERBB2 büyüme faktör reseptör proteinin sentezi için gerekli bilgiyi sağlar. ERBB2 hücre adezyonu, hücre özelleşmesi ve hücre mobilitesinde çok önemli bir role sahiptir [27]. Bu genin ekstra kopyası, hücre yüzeyindeki ERBB2 reseptör proteinin aşırı ekspresyonu ile ilişkilidir. ERBB2 reseptör proteinin aşırı uyarılması, kanserli tümör hücrelerine sürekli sinyal sağlayarak bölünmesine ve hızla çoğalmasına zemin hazırlar. ERBB2 geninin aşırı ekspresyonu metastaz yapmış meme kanseri riskinde artış ile ilişkili bulunmuştur [28].

2. RAS Geni: RAS gen süper ailesinin 3 tane üyesi vardır. Bunlar; H-RAS, K-RAS, N-RAS genleridir ve farklı kromozomlarda lokalizedir. RAS proteinlerinin hücre büyümesi, farklılaşması, hücrenin yaşamını devam etmesi ve hücre dışı sinyal iletimi gibi görevleri vardır [29].

3. c-Myc (Myelomatosis viral onkogen homolog): Nükleus düzenleyici protein kodlayan bir onkogendir. Bu gendeki mutasyonlar malign transformasyona yol açarlar. Bu genin amplifikasyonunda meme kanseri görülme olasılığı artmıştır [30].

4. Cyclin D1 ve Cyclin D2 Geni: Cyclin bağımlı kinazlar hücre döngüsünü kontrol eden proteinlerdir. G1/S fazı kontrol noktasında görevlidirler. Bu proteini kodlayan

CCND 1 ve CCNE 1 mutasyonlarında lenfoma (daha çok mantle cell lenfoma) ile bir çok kanser ve meme kanseri riski artar [2].

2.4.6.2. Meme kanserinde rol oynayan tümör supresör genler:

1. P53 geni: Orta yaşlı kadınlarda meme kanserine neden olan ve BRCA 1 mutasyonuna bağlı meme kanserli hastaların sayısına neredeyse eşit olan p53, tümör supresor proteinidir. Bu gen, 17. kromozomun kısa kolunda (17p13) yer almaktadır. [31]. TP53 ayrıca Li-Fraumeni Sendromu gibi aralarında meme de bulunan bir çok kanserin erken yaşta ortaya çıkmasıyla karakterizedir. TP53 geni hücre döngüsü, hücre onarımı ve apoptozis dahil çeşitli faktörlerden ileri derecede sorumludur [32].

TP53 mutasyonlarının meme kanserlerinin % 20-40'ının gelişmesinde büyük bir rol oynadığı bildirilmiştir. Meme kanseri stromal ya da epitelyal olabilir. TP53 mutasyonları meme kanserinin özellikle stromal tip karsinogenezi etkilidir. p53 mutasyonları sporadik meme kanserine de bağlı olabilir ve dolayısıyla onların tanısında yararlı olabilir [33].

2. ATM geni: Otozomal resesif geçişli, bir çok sistemin etkilendiği bir bozukluktur. Gen, 11q23.1'de lokalizedir. İlerleyici nörolojik bozukluklar (ataksi telenjiyektazi) ve özellikle malign lenfoproliferatif hastalıklar ve meme kanser riskinde artmaya yol açan immünolojik problemler birlikte seyreder [3].

3. Androjen Reseptör Gen (AR): Bu gen, Xq11.2q12'de lokalizedir. Erkek meme kanseri risk faktörleri arasında yer alır. Androjen üretiminde görev alan bir proteini kodladığı için vakaların bir bölümünde androjen sensitivitesi ya da yetmezliği görülür [3].

3. PTEN: PTEN geninin germline mutasyonunun meme kanserinde yüksek riske sahip Cowden sendromuna yol açtığı biliniyor. Cowden sendromu ailelerin yaklaşık %80'inde PTEN germline mutasyonu mevcuttur. Ayrıca kadın Cowden sendromlu hastaların ömür boyu meme kanserine yakalanma riski %25-50'dir [34].

4. CDH geni: Selüler adezyon molekülü olan E-cadherin CDH-1 geni tarafından kodlanmaktadır ve bu gen 16q kromozomunda lokalizedir [35]. Ayrıca kromozom

16'nın uzun kolunda heterozigozite kaybının meme kanserine yol açtığı bilinmektedir. Bu kaybın lobüler meme kanserindeki E-cadherin alelleri için önemli bir mutasyona yol açtığı düşünülmektedir [36]. Ancak duktal karsinomlarda E-cadherin mutasyonu şu ana kadar kaydedilmemesine rağmen bu karsinomlarda da E-cadherin protein ekspresyonu belirgin bir şekilde azalmıştır [37].

5. Checkpointkinase2 (CHEK2) Geni: Sitogenetik olarak 22. Kromozomun uzun kolunda yer alır (22q12.1) [38]. Bu CHEK2 geni, protein kontrol noktası kinaz olarak adlandırılan bir protein üreten tümör süpresör gendir. Bu protein DNA hasarlandığı zaman aktive olur. DNA hasarına yanıt olarak, TP53 dahil olmak üzere birçok başka protein ile birlikte çalışır ve hücre bölünmesini durdurur [39]. Kalıtsal ve sporadik meme kanseriyle ilişkili bulunmuştur [40].

6. Serine/threonine kinase 11 (STK11) Geni: STK11 / LBK1 mutasyonları östrojen reseptörü pozitif ilişkili meme kanserinde duyarlı kişilerde tespit edilmiştir. Ayrıca Peutz-Jeghers Sendromu ile ilgili mutasyonlarla meme kanserinin güçlü bir ilişkisi saptanmıştır. STK11 / LBK1 mutasyonu olan Peutz-Jeghers Sendromu hastalarda meme, over ve akciğer kanseri gibi bir çok risk faktörü bildirilmiştir. Bunların dışında meme kanseri orta yaşlı kadınlarda önemli bir yere sahiptir [41].

7. RAD 50 ve RAD 51: RAD 50 geni 5. Kromozomun uzun kolunda lokalizedir (5q31). RAD 51 geni ise 15. Kromozomun uzun kolunda yerleşmiştir.(15q15.1) RAD 50 geninde mutasyon olduğu zaman RAD 50 proteinin küçük ve işlevsel olmayan bir proteini ortaya çıkar. RAD 51 proteini, DNA zararlarını onarmak için BRCA 1, BRCA 2 ve PALB2 gibi bir çok başka protein ile etkileşime girer. BRCA 2 proteini nükleustaki DNA' nın hasarlı bölgelerini RAD 51 proteinine transport eder. RAD 51 geni meme kanseri ile birlikte pek çok kanser ile ilişkilendirilmiştir [42].

8. Partner and localizer of BRCA2 (PALB2) Geni: PALB2 geni, BRCA 2'nin partneri ve yerleştiricisi diye adlandırılan proteinin sentezi için talimat verir. 16. Kromozomun kısa kolunda lokalizedir (16p12.2). Defektif PALB2 proteini, hasarlı DNA'yı onarmak için BRCA2 protein ile etkin bir şekilde çalışamaz [43].

9. BRCA1 associated RING domain 1 (BARD1) Geni: BRCA1 associated RING domain 1 (BARD1) geni 2. Kromozomun uzun kolunda yerleşmiştir (2q34-2q35) [44]. Bu gen, hücre büyümesi ve bölünmesi için gerekli proteinin sentezi için talimat verir. BARD 1 ve BRCA 1 proteinleri hasarlı DNA'yı onarmak için beraber çalışırlar. Araştırma sonuçları BARD 1 proteininin BRCA 1 proteinine bağlandığını göstermiştir. BARD 1 BRCA 1 proteinini stabilize eder ve BRCA 1 direkt DNA hasarlı bölgelere müdahale eder [45].

10. BRCA1 Interacting Protein C- terminal Helicase (BRIP1) Geni: BRIP 1 geni 17. Kromozomun uzun kolunda lokalizedir (17q22.2) [46]. Normalde BRIP 1 hasarlı DNA tamirinde yardımcı olur. Çekirdek içinde BRIP 1 BRCA 1 ile etkileşime girer ve beraber DNA kırıklarını onarır böylece zararlı mutasyonların birikimini önler. BRIP 1 geni helikaz gibi DNA'nın belirli bölgelerine takılarak ve geçici olarak çift ipliğin ayrılmasında görev alır. DNA'nın hasarlı bölgelerindeki çift ipliği söker ve BRCA 1'in hasarlı bölgeye ulaşmasına ve tamir etmesine izin verir [47].

2.4.7. BRCA 1 ve BRCA 2 geni:

BRCA 1 ve BRCA 2 her ikisinin de uzunluğu 80 kb üzerinde olan büyük genlerdir. Kodlama bölgeleri boyunca dağılan yüzlerce farklı mutasyon bildirilmiştir. Meme kanseri riskini arttıran mutasyonların sıklığı genel popülasyonda sadece % 0.1-0.2'dir ve önemsiz polimorfizmler yaygındır. Sonuç olarak, genetik test zordur ve genellikle güçlü bir aile öyküsü olan bireyler veya belli etnik gruplara mensup olanlar ile anlamlı sonuçlar doğurur. Örnek olarak Askenazi Yahudileri soyundan olan insanların %2-3'ünde ikisi BRCA 1 biri BRCA 2 olmak üzere üç spesifik mutasyon taşıyıcılığı tanımlanmıştır. Klinik açıdan mutasyon taşıyıcılarını tanımlamak profilaktik mastektomi ve/veya ooferektomi ile mortaliteyi azaltmak için önemlidir. BRCA1 ilişkili meme kanserleri genellikle kötü diferansiye, "medüller özellikler" gösteren (itici tarzda sınırsız büyüme paterni ve lenfositik yanıtı olan) ve "triple negatif" fenotip olarak tanımlanan hormon reseptörleri, HER2 / neu negatif

olgularla ilişkilidir. BRCA 1 genleri ayrıca sık sık inaktif X kromozomun kaybı veya aktif X kromozomun reduplikasyonu sonucu Barr cisminin yokluğuyla ilişkilidir. BRCA 2 ile ilişkili meme kanserleri de nispeten kötü diferansiye olma eğilimindedir ancak BRCA 1 kanserlerine göre daha sık ER pozitifliği gözlenir [2].

BRCA-1: BRCA 1 geni kalıtsal geçişli meme kanseri gelişiminde büyük önem taşımaktadır. Meme kanseri ile ilişkisi, büyük bir soyağacı grubunda çalışılan erken başlangıçlı meme kanseri ailelerin çalışması bitince kuruldu [48]. BRCA 1 geni 17q12-q21’de lokalizedir. 22 tane kodlanan büyük ekzon bölgesi içerir. En büyüğü ekzon 10 bölgesidir. Bu 1863 aminoasitten oluşan çok büyük bir protein molekülünü kodlar [49]. BRCA1 geni, caretaker (bakıcı) tümör süpresör gen grubuna aittir [50]. İnsanlarda BRCA 1 geni dört ana bölgeye sahiptir. Proteinin N-ucunda bir RING çinko parmak bölgesi ve C-ucunda iki ‘BRCT’ tekrar bölgesi ve bir de serin bölgesi bulunmaktadır. Proteinin amino terminal bölgesinde RING çinko parmak bölgesi BARD 1 proteinin RING çinko parmak bölgesiyle bağlantı halindedir. BRCA 1/BARD 1 kompleksi ubiquitinasyondan sorumlu olan E3 ligaz aktivitesi taşır [51]. Karboksil terminalde iki tane BRCT tekrarı vardır. BRCT bölgesi, RNA polimeraz II, p53, RB gibi proteinlerle etkileşerek başta transkripsiyonel aktivasyon ve kromatin düzenlenmesi olmak üzere, birçok hücresel işlevde özellikle DNA tamirinde görev aldığı düşünülmektedir [52]. BRCA1 geninin kodladığı protein, diğer tümör baskılayıcılar, DNA hasar sensörleri, sinyal dönüştürücülerle birlikte BASC (BRCA1 associated genom surveillance kompleks) BRCA1 ile ilişkili genom denetim birimi denilen yapıyı oluşturur. DNA hasarı oluştuğunda BASC kompleksi BRCT bölgesine bağlanır ve DNA tamir edici diğer protein ve enzimler için etkileşim bölgesi oluşturur. Bu bölge tamir işlemi bittikten sonra ayrılır [53].

Şekil 3: Brca 1 ve Brca 2 nin yapısı [54].

bölgesinin rekombinant tamir mekanizmasında önemli rol oynadığına inanılmaktadır [60]. Öte yandan PALB2, BRCA 2 amino terminali ile etkileşime girer ve nükleer yapılarda BRCA 2 stabilitesinin artışına neden olur [43].

2.4.8. Meme Kanser Progresyonunda Hücresel Değişiklikler

Bir karsinogenez modelinde normal hücrenin malign olması için bir kaç yeni yetenek kazanması gerektiği vurgulanmıştır [2]. İlk belirlenen değişikliklerden biri, hücre sayısının normal regülasyonunun kaybı ve sonuç olarak meme dokusunda epitelyal hiperplazi ya da sklerozan adenozis meydana gelmesidir. Daha sonra bunu hücrelerin klonal popülasyonunda ortaya çıkan genetik instabilite sonucu atipik hiperplazi oluşumu izler. Karsinomun progresyonundan sonra, çok sayıda sellüler değişiklikler ortaya çıkabilir ve bu selüler değişiklikler içerisinde onkogen ekspresyonunda artma (örneğin cerbB2 [Her2/neu], INT2, c-ras, c-myc), tümör süpresör genlerinin fonksiyonları ya da ekspresyonunda kayıp (örneğin NM23, p53, RB), hücre yapısındaki değişiklikler (örneğin vimentin ekspresyonunda artma, fodrin ekspresyonunda azalma), hücre adezyon kaybı (örneğin lobüler karsinomlarda izlenen E-kaderin kaybı, az diferansiye karsinomlarda görülen integrinlerdeki kayıp), hücre siklus proteinlerinin ekspresyonundaki artma (örneğin siklinler, Ki-67, proliferasyon sağlayan hücre nükleer antijeni), anjiyogenetik faktörlerin ekspresyonunda artma (örneğin vasküler endotelial büyüme faktörü, fibroblast büyüme faktörü) ve proteaz ekspresyonunda artma (örneğin katepsin D, stromelisinler) vardır. Tüm meme kanserlerinde olmasa da bazılarında ortaya çıkan, malign fenotipin multiple değişikliklerinin bir birikimine bağlı olduğunu düşündürmektir [3].

2.4.9. Meme Tümörlerinin Sınıflandırılması:

Meme tümörleri için Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2012’de yeni bir histolojik sınıflandırma yayınlamıştır [61].

Epitelyal tümörler

- **Mikroinvaziv karsinom**

İnvaziv meme karsinomu

- **İnvaziv karsinom NST (spesifik tip olmayan)**
 - Pleomorfik karsinom
 - Osteoklastik dev hücreli karsinom
 - Koryokarsinomatöz özellikleri olan karsinom
 - Melanositik özellikleri olan karsinom
- **İnvaziv lobüler karsinom**
 - Klasik lobuler karsinom
 - Solid lobuler karsinom
 - Alveoler lobuler karsinom
 - Pleomorfik lobuler karsinom
 - Tubulolobuler karsinom
 - Mikst lobuler karsinom
- **Tübüler karsinom**
- **Kribriform karsinom**
- **Müsinöz karsinom**
- **Medüller özellikli karsinom**
 - Medüller Karsinom
 - Atipik medüller karsinom
 - Medüller özellikli Non-spesifiye tip invaziv karsinom (NST)

- **Apokrin diferansiyasyonlu karsinom**
- **Taşlı yüzük diferansiyasyonlu karsinom**
- **İnvaziv mikropapiller karsinom**
- **Non-spesifik tip metaplastik karsinoma**
 - Düşük grade adenoskuamöz karsinom
 - Fibromatozis benzeri metaplastik karsinom
 - Skuamöz hücreli karsinom
 - İğsi hücreli karsinom
 - Mezenkimal diferansiyasyonlu metaplastik karsinom
 - Kondroid diferansiyasyonlu
 - Osseöz diferansiyasyonlu
 - Mezenkimal diferansiyasyonlu diğer tip
 - Mikst metaplastik Karsinom
 - Myoepitalyal Karsinom
- **Nadir tipler**
 - Nöroendokrin Özellikli Karsinom
 - Sekretuar Karsinom
 - İnvaziv papiller Karsinom
 - Asiner hücreli Karsinom
 - Mukoepidermoid Karsinom

- Polimorf Karsinom
- Onkositik Karsinom
- Lipidden Zengin Karsinom
- Glikojenden Zengin Şeffaf Hücreli Karsinom
- Sebasöz Karsinom
- Tükürük bezi / deri eki tip tümörler

Epitelyal-myoepitelyal tümörler

- **Pleomorfik adenom**
- **Adenomyoepitelyoma**
- **Adenoid kistik karsinom**

Prekürsör lezyonlar

- **Duktal karsinoma in situ**
- **Lobüler neoplazi**
- Lobüler karsinoma in situ
- Atipik lobüler hiperplazi

İntraduktal proliferatif lezyonlar

- **Olağan Duktal Hiperplazi**
- **Flat Epitelyal Atipi içeren Kolumnar Hücreli Lezyonlar**
- **Atipik Duktal Hiperplazi**

Papiller lezyon

- **Intraduktal papillom**
 - Atipik hiperplazili intraduktal papillom
 - Duktal karsinoma in situ intraduktal papillom
 - Lobüler karsinoma in situ intraduktal papillom
- **Intraduktal papiller karsinom**
- **Enkapsüle papiller karsinom**
 - Enkapsüle invazyon gösteren papiller karsinom
- **Solid papiller karsinom**
 - In situ
 - Invaziv

Benign epitelyal proliferasyonlar

- **Sklerozan adenozis**
- **Apokrin adenozis**
- **Mikroglanduler adenozis**
- **Radial skar/kompleks sklerozan lezyon**
- **Adenomlar**
 - Tubuler adenom
 - Laktasyon adenomu
 - Apokrin adenom
 - Duktal adenom

Mezenkimal Tümörler

- **Noduler fasiit**
- **Myofibroblastom**
- **Desmoid-tip fibromatozis**
- **Inflamatuvar myofibroblastik tumor**
- **Benign vaskuler lezyonlar**
 - Hemanjiom
 - Anjiomatozis
 - Atipik vasküler lezyonlar
- **Psödoanjiomatöz stromal hiperplazi**
- **Granuler hücresel tümör**
- **Benign periferik sinir kılıfı tümörleri**
 - Nörofibrom
 - Schwannom
- **Lipom**
 - Anjiolipom
- **Liposarkom**
- **Anjiosarkom**
- **Rabdomyosarkoma**
- **Osteosarkom**

- **Leiomyoma**
- **Leiomyosarkom**

Fibroepitelyal Tümörler

- **Fibroadenom**
- **Filloides tümör**
 - Benign
 - Borderline
 - Malign
 - Periduktal stromal tümör, düşük grade
- **Hamartom**

Meme başı tümörleri

- **Nipple adenom**
- **Siringomatöz adenom**
- **Meme başının Paget hastalığı**

Malign lenfoma

- **Diffüz büyük B hücreli lenfoma**
- **Burkitt lenfoma**
- **T hücreli lenfoma**
 - ALK negatif Anaplastik büyük hücreli lenfoma
- **Ekstranodal marjinal-zon B hücreli lenfoma MALT tip**

- **Foliküler lenfoma**

Metastatik tümörler

Erkek meme tümörleri

- **Jinekomasti**
- **Karsinom**
 - **İnvaziv karsinom**
 - **In situ karsinom**

Klinik Paternler

- **İnflamatuvar karsinom**
- **Bilateral meme karsinom**

2.4.6. Meme Tümörlerinde TNM Sınıflaması [62].

T-Primer tümör

TX Primer tümör değerlendirilemez durumda

T0 Primer tümör yok

Tis İn situ karsinom:

- **DCIS**
- **LICS**
- **Meme başının Paget hastalığı, tümör eşlik etmiyorsa (Paget tümöre eşlik ediyorsa tümör boyutuna göre değerlendirilir)**

T1 Tümör boyutu 2 cm veya daha küçük

T1mic Mikroinvazyon 0,1cm veya daha küçük

T1a 0,1-0,5 cm arası

T1b 0,5-1 cm arası

T1c 1-2 cm

T2 2-5 cm arası

T3 5 cm den büyük

T4 Tümör ne boyutta olursa olsun göğüs duvarı ya da meme derisine yayılım(pektoral kas tutulumu hariç)

T4a Göğüs duvarına yayılım

T4b Meme derisinde ülser ya da ödem, meme derisinde satellit nodüller

T4c T4a+T4b

T4d İnflamatuvar karsinom

N-Bölgesel Lenf Nodu (Patolojik)

NX Bölgesel lenf nodu değerlendirilemiyor

N0 Lenf nodu metastazı yok

N1 İpsilateral aksiller 1-3 adet lenf nodunda tümör metastazı

N2 İpsilateral aksiller 4-9 adet lenf nodunda tümör metastazı ya da internal mamarien lenf nodu metastazı

N2a Aksiler lenf nodunda fikse tümör metastazı

N2b İpsilateral internal mamarien lenf nodunda tümör metastazı

N3 İpsilateral infraklavikuler lenf nodu metastazı beraberinde 10'dan fazla aksiller ya da internal mamarien lenf nodu tutulumu

N3a Sadece infraklavikuler lenf noduna metastaz

N3b İnternal mammarien lenf nodu ve aksiller lenf nodu metastazı

N3c Supraklavikuler lenf nodu metastazı

M-Metastaz

MX Uzak metastaz değerlendirilemiyor

M0 Uzak metastaz yok

M1 Uzak metastaz varlığı

2.5. Meme Tümörlerinde Prognostik Faktörler

Dünyada her 8 kadından birinde hayatlarının herhangi bir döneminde meme kanser gelişimi söz konusu olmaktadır. İnvaziv meme karsinomlarını tedavi etmek için çok çeşitli ve agresiv tedavi rejimlerinin kullanılması prognozu doğru bir şekilde belirlemeyi önemli kılmaktadır. Çünkü böylesi tedavilerin çok yaygın toksik etkileri vardır. Bir çok prognostik faktör aşağıda belli gruplar altında belirtilmiştir [16, 63, 64].

Yaş: Tanı esnasında 50 yaştan küçük olanlarda prognoz iyi seyirli olamakla beraber 50 yaşından sonraki kadınlarda sağ kalım oranı düşük bulunmuştur. Bununla birlikte

bazı çalışmalarda çok genç yaştaki kadınlarda (<35 yaş) prognozun yaşlı kadınlarla aynı olduğu, bunların nüks ve uzak metastaz açısından yüksek riske sahip ve daha agresif oldukları tespit edilmiştir [9].

İrk: Siyah kadınlarda meme kanserlerinde her stage için daha düşük bir sağ kalım oranı mevcut olmakla birlikte ayrıca bu kadınlarda kanser daha genç yaşta ortaya çıkmakta ve daha kötü diferansiye olma eğilimi göstermektedir [16, 65].

Vücut Ağırlığı (Kilo): Son veriler bize, tedavi süresince ağırlık artışının meme kanserinin rekürrens riskini artırdığını ve surviyi azalttığı yönündedir. Ayrıca vücut yağ dağılımı ve obezitenin, meme ve endometrial kanser riskini artırdığı gösterilmiştir [66, 67].

Yerleşim yeri: Mevcut birçok çalışmada prognoz ile tümörün kadranlara göre yerleşimi arasında bir ilişki tespit edilememiştir. Ancak son zamanlarda yayımlanan bir çalışmada medial yerleşimli tümörler, lateral yerleşimlilerle karşılaştırıldığında %50 daha fazla nüks ve ölüm riski bulunmuştur [9].

Gebelik ve oral kontraseptifler: Gebelik ve laktasyon sırasında ortaya çıkan meme kansinimleri, düşük hormon reseptörü ekspresyonu ve yüksek Cerb-B2 ekspresyonu ile birliktelik gösterir. Bu nedenle agresiv bir tümör olduğuna dair yaygın bir kanı mevcuttur [68]. 45 yaş altındaki genç kadınlarda uzun süreli oral kontraseptif kullanımının meme kanseri riskinde artışa sebep olduğu gösterilmiş ve oral kontraseptif kullanılan her yıl için meme kanseri riskinin % 3,1 arttığı tespit edilmiştir [69, 70].

Tümör Boyutu ve Büyüme Şekli: Meme kanserinde tümör boyutu en önemli prognostik faktörlerden biridir; lenf nodu tutulumu ve metastaz ile birlikte evrelemede kullanılmaktadır. Artan tümör hacmi ile aksiller lenf nodu tutulumu arasında bir ilişki mevcuttur. Tümör çapının 2 cm ya da daha küçük olduğu olgularda prognoz belirgin olarak daha iyidir. Artan tümör hacmiyle birlikte lenf nodunun tutulma oranı artmakta ve 5 yıllık sağ kalım oranı düşmektedir [3, 71]. Saigo ve Rosen'ın negatif lenf nodlu, ≤ 1 cm çaplı invaziv karsinomlu ve modifiye radikal mastektomili 111 hastanın en az 10 yıllık takip oranlarını belirttikleri çalışmalarında: hastaların %75'i hiçbir hastalık belirtisi vermeden yaşamış, %4'ü rekürren karsinomu olup yaşamış, %6'sı hastalıktan ve %15'i de diğer sebeplerden kaybedilmiştir [72]. Atıcı ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada meme kanserlerinde tümör büyüklüğü ile hastalıksız yaşam ve sağ kalım arasında anlamlı bir ilişki bulmuşlardır. Buna göre 2 cm' den küçük, 2-5 cm arası ve 5 cm' den büyük tümörlü hastalar için 3 yıllık takipler sonucu sırası ile % 100, % 77, % 83 hastalıksız yaşam ve %100, % 84, % 93 sağ kalım oranları belirlemişlerdir [14]. Genelde rekürrens riski tümör boyutunun artışı ile koreledir ve kanserin boyutu 1 cm' den büyük olduğunda adjuvan sistemik tedavi için potansiyel bir adaydır [63]. Multisentrik gelişen tümörlerde nüks daha sıktır. Prognoz da daha kötüdür. Yapılan çalışmalarda multisentrik olmayan tümörlerde 5 yıllık mortalite % 25, multisentrik olanlarda ise % 15 olarak gösterilmiştir [13]. Düzgün sınırlı tümörler infiltran sınırlı tümörlerden

daha iyi prognoza sahiptir [9]. Bazı çalışmalarda bilateral tutulumlu karsinomlarda, unilateral tutulumlulara oranla yaşam süresinin kısaldığı gösterilmiştir [10].

Tümörün Histopatolojik Tipi: Meme karsinomunun tubuler, papiller, müsinöz, adenoid kistik karsinom, medüller karsinom gibi belirli tipleri esas olarak düşük dereceli kanserlerdir. Aksiller lenf nodu metastazı göstermediklerinden ya da düşük sıklığı nedeniyle genel olarak iyi prognoz ve düşük rekürrens oranları gösterirler. Bunlarda hastalıksız yaşam oranları % 100' dür. Duktal ve lobuler karsinomlarda ise bu oran % 92 civarındadır [16, 63]. Taşlı yüzük hücreli karsinom, inflamatuvar karsinom ve karsinosarkom kötü diferansiye agresiv neoplazmlardır. En agresiv tümörlerden biri olan inflamatuvar karsinom için 5 yıllık sağ kalım oranı % 11'dir. Medüller karsinomda 10 yıllık survi % 51, İDK'da % 46, infiltratif lobuler karsinomda % 53 olarak belirlenmiştir [10].

Tümörün Histolojik Derecesi (Grade): Yaşam süresi üzerine olan etkisi en iyi araştırılmış olan parametre tümörün histolojik grade'idir. Bloom ve Richardson 1957'de 1544 vakalık bir seride yine daha önceki grade' lendirme sistemlerindeki kullanılan özellikleri ele alan bir puanlama sistemi ile grade' lendirme önermiştir. Bu sistem WHO tarafından da benimsenmiş, bazı ufak değişikliklerle günümüzde de geçerliliğini korumaktadır [9]. Günümüzde en çok kabul gören sistem, Elston tarafından modifiye edilmiş Bloom-Richardson sistemidir. Bu sistemde tümörde tubul yapısı, nükleer özellikler ve mitoz sayısı ayrı ayrı değerlendirilerek skorlanır ve elde edilen sonuca göre tümörün histolojik diferansiasyonu I, II, III olarak değerlendirilir. Medüller karsinomlar hariç tüm invaziv meme karsinomlarında derecelendirme yapılabilir [73]. Tablo 1'e göre toplam puan 3–5 ise derece 1 (iyi diferansiye), toplam puan 6–7 ise derece 2 (orta diferansiye), toplam puan 8–9 ise derece 3 (az diferansiye) olarak değerlendirilir. Yapılan bir çalışmada 5 yıllık yaşam oranları Grade I, II ve III tümörler için sırası ile % 81,9, % 63,4, % 49,5 olarak belirlenmiştir [74]. Bu ve ilişkili gradeleme sistemlerinin faydasının inandırıcılığı ve tekrarlanabilir güvenilirliği sayesinde bu sistemin rutin patoloji raporlarına eklenmesine yönelik bir yaklaşım vardır [75].

Tablo 1: Meme tümörlerinde histolojik differansiasyon kriterleri

Özellik	Puan
Tubul yapısı	
Tubul yapıları tümörün %75'inden fazla	1
Tubul yapıları tümörün %75-10'u	2
Tubul yapıları tümörün %10'nundan az	3
Nükleer pleomorfizm	
Küçük, düzenli, uniform	1
Şekil ve boyutta orta derecede fark	2
Şekil ve boyutta belirgin fark	3
Mitoz sayısı (10 BBA)	
0-9	1
10-19	2
20'den fazla	3

Aksiller Lenf Nodu Tutulumu: En önemli prognostik faktörlerden biridir [9]. ALN metastazı olan ve olmayan olguların sağkalım oranları arasında belirgin bir fark olmasının yanı sıra, ALN tutulumunun düzeyi, sayısı, metastatik odadaki tümörün boyutu, lenf nodundan kapsül dışına yayılım da sağ kalım oranını olumsuz yönde etkilediği bildirilmiştir [9, 76, 77]. Metastatik lenf nodu sayısı arttıkça prognoz kötüleşir. Metastatik lenf nodu yoksa prognoz en iyi, 1-3 lenf nodu pozitifse orta, 4 ve daha fazla lenf nodu metastazı varsa prognoz kötüdür [9].

Lenfovasküler invazyon: İnvaziv karsinomlar etrafında vasküler invazyonun gösterilmesi erken lokal nüks ve uzak metastazlar açısından önemlidir. Aksiller lenf nodu (+) olan 33 hastanın % 69'undave aksiller lenf nodu (-) olan 30 hastanın sadece % 26' sinda vasküler invazyon görülmüştür. Başka bir çalışmada lenfatik invazyon gösteren hastaların % 32' sinde, aynı invazyonu göstermeyen hastaların da % 10,3' ünde nüks görülmüştür [10]. Lenfatik vasküler invazyon gösteren meme kanserli

hastalarda hastaliksız yaşam % 83, lenfatik vasküler invazyon göstermeyen hastalarda ise % 98' dir [63].

Cerrahi Sınırlar: Bazıları cerrahi sınır ile tümör arasındaki 5 mm' lik bazıları da birkaç yağ hücresi ya da ince fibröz bağ dokusunun bulunmasını negatif kabul etmektedir. Cerrahi sınırdaki tümörün (+) bulunması, tedaviye etkileri ve lokal nüks açısından önemlidir [10].

Deri Tutulumu: Meme karsinomlarında deri invazyonunun varlığı azalmış sağ kalım oranları ile birlikte. Özellikle inflamatuvar karsinom olarak tanımlanan dermal lenf damarlarının tümöral invazyonu özellikle kötü bir prognostik işarettir. Ayrıca meme başı tutulumu da aksiller metastazlarının yüksek insidansı ile ilişkilidir. Meme başı ve areola tutulumu; tümör büyüklüğü, tümör areola uzaklığı ve histolojik türle ilişkili bulunmuştur [9].

Aksiller Lenf Nodu Değişiklikleri: Lenfosit hakimiyeti, stimülasyon yokluğu ve sinüs histiositozis düşük rekürrens oranı ile birlikte (% 9). Buna karşın lenfosit azlığı, germinal merkez belirginliği ve mikrometastazların varlığı orta derecede (% 23) ve makrometastazların varlığı yüksek bir rekürrens oranı ile ilişkilidir (%58) [78].

Tümör Nekrozu: Tümör nekrozunun varlığı lenf nodu metastazı oranında artış ve yaşam süresinde azalmayla ilişkilidir [64]. Nekroz, tümör boyutu ve derecesi ile ilişkilidir. Ayrıca tümör nekrozu kötü prognozla birlikte [10]. Nekroz yokluğu yıllık survi oranlarında %10'luk bir farkla önemli ölçüde daha iyi prognoz sağlar [64].

Evre: Tümörün evresi tek başına sağ kalımın önemli bir belirleyicisidir. Evre ile survi arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Amerika Birleşik Komitesi klinik evrelemede aşağıdaki şemayı uygulamaktadır [10]:

Evre 0 : Duktal karsinoma in situ ya da lobüler karsinoma in situ (beş yıllık sağ kalım oranı %92).

Evre I : Nodal tutulumsuz ya da uzak metastazsız 2 cm ya da daha küçük çaptaki invaziv karsinomlarda (mikroinvazyonlu karsinoma in situ dahil) (beş yıllık sağ kalım oranı %87).

Evre II : 5 cm ya da daha küçük hacimli hareketli, tutulmuş lenf nodülü ve uzak metastaz göstermeyen veya nodal tutulum ya da uzak metastazsız 5 cm' den büyük bir tümör (beş yıllık sağ kalım oranı % 75)

Evre III : 5 cm' den büyük çapta nodal tutulumlu meme kanseri; ya da fiks aksiler nodüllü herhangi bir meme kanseri; aynı taraf internal meme lenf nodülü tutulumu ile birlikte olan herhangi bir meme kanseri; deri tutulumu, pektoral ve göğüs duvarı fiksasyonlu, ödemli ya da uzak metastazsız klinik iltihabi meme kanseri (beş yıllık sağ kalım oranı % 46)

Evre IV : Uzak metastazlı herhangi bir meme kanseri (aynı taraf supraklavikuler lenf nodülleri dahil) (beş yıllık sağ kalım oranı % 13)

Proliferasyon hızı ve anöploid: Elston tarafından oluşturulan kombine gradeleme tablosuna katılmıştır. Aslında o sistemin en önemli komponentidir. İmmünohistokimyasal olarak saptanabilen bazı belirleyiciler (Ki-67) yanı sıra akım sitometri yöntemiyle DNA değerlerine bakılarak bir tümörün proliferasyon hızına ilişkin bilgiler elde edilebilmektedir. Tümör hücrelerinde DNA miktarının artması ya da yüksek Ki-67 proliferasyon indeksi kötü prognoz göstergesi olarak kabul edilmektedir [9]. Ki-67, G0 hariç tüm hücre siklusunda nükleusta mevcut bir nükleer antijene karşı gelişen monoklonal antikordur. DNA içeriğine bakmaksızın herhangi bir siklus fazında bulunan tüm hücreler G0 fazına girebildiği için, Ki-67 fraksiyon tayinlerinin bir tümörün proliferasyon hızı ile ilgili en anlamlı bilgileri verebileceği söylenebilir. Lenf nodu metastazı izlenmeyen meme kanserleri ortalama %13 Ki-67 büyüme fraksiyonuna sahipken, dörtten az lenf nodu metastazı izlenen tümörlerde bu fraksiyon %20'dir [79].

Hormon reseptörleri: İnvaziv kanserlerde %37-80 oranında ER, %45-69 oranında PR pozitifliği bildirilmiştir. ER pozitif hücrelerin oranı, tümörün diferansiasyon derecesi ve hormonal tedaviye vereceği yanıt ile ilişkilidir. Tedaviye en yüksek

cevap oranı hem ER, hem PR pozitif tümörlerdedir [80, 81]. Bir tümörde ER ve PR'nin her ikisinin varlığı sadece ER (+) olan tümörlü hastalarda izlenen ortalama %52'lik hormonal tedavi yanıtı %75-80'e kadar çıkarır [2, 9, 82, 83]. Meme kanserlerinde androjen reseptör ekspresyonu % 20-85 arasındadır. AR primer ve metastatik meme kanserlerinde en sık eksprese edilen steroid hormon reseptörüdür. Genel olarak ER ve PR ile belirgin korelasyon gösterir [84, 85].

Tümör baskılayıcı genler ve onkogenler: Malign transformasyondan direkt olarak yapısal değişikliğe uğramış onkogenler veya protoonkogenlerin artmış ekspresyonu sorumludur. Yapısal değişiklikler, nokta mutasyonu, translokasyon, inversiyon, kromozomal yeniden düzenlenmeler ve gen amplifikasyonu şeklinde olabilir [2]. Klinik olarak önemi olan bazı onkogenler şunlardır:

a) BRCA1 geni: 17q 12-q21' de lokalizedir. 70 yaş civarında BRCA1' e bağlı meme kanseri gelişim riski %85' dir. BRCA1 ile ilgili meme kanserleri daha erken evrede ve daha genç yaş gruplarında görülmektedir. Bu tümörler yüksek proliferasyon oranlarına sahiptir ve yüksek derecelidirler [86].

b) BRCA2 geni: 13q 12-q13' de lokalizedir. Herediter kanserlerin % 35-40'ından sorumludur [86].

c) c-myc: Meme kanserlerinde % 17-32 oranında saptanır. Değişmiş c-myc, tümör derecesi, aksiller lenf nodu durumu, yaş ve hormon reseptör düzeyleri ile belirgin bir ilişki göstermez [86].

d) p53 geni: Hücre siklusunda G1 fazından S fazına ilerlemeyi inhibe eden tümör baskılayıcı gendir. Bu gende mutasyon ve delesyonlar sonucu olan değişiklikler malign transformasyona neden olur. Agresif biyolojik davranış, büyük tümör boyutu, sık aksiller lenf nodu metastazı ile ilişkilidir [86].

e) cerb-B2: Meme kanserlerinde cerb-B2' nin prognostik ve prediktif önemi bulunmaktadır. Meme kanserli hastalarda % 25-30 oranında cerb-B2 amplifikasyon ve overekspresyonu bildirilmiştir. Birçok çalışmada özellikle lenf nodu pozitif olan hastalarda cerb-B2 amplifikasyon/overekspresyonunun hastalıksız yaşam ve sağ kalım süresi üzerine negatif etkisi olduğu bildirilmiştir. Yani cerb-B2 pozitifliği

tümörün agresiv davranışı ve kötü prognoz ile yakından ilişkilidir [87]. Bu onkogenin immünohistokimyasal veya FISH yöntemi ile belirlenen overekspresyonu, Herceptine yanıtın mükemmel belirteciyken, kemoterapiye yanıtın zayıf bir belirtecidir [88].

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında, 2010-2015 Mayıs tarihleri arasında, arşiv kayıtlarından, meme kanseri tanısı almış 40 yaş ve altı 200 adet hasta çıkarıldı. Bu vakalara ait tüm preparatlar ışık mikroskobu (Nikon-Eclipse 80i) ile tekrar değerlendirildi ve canlı tümör oranı en az %50 olan 100 blok seçildi. Olgularımızın ER, PR, C-erbB-2 sonuçları daha önceden laboratuvarımızda Ventana Benchmark XT (Ventana, Tucson, AZ) cihazı ile çalışılmış ve raporlarında mevcuttu. Bu sonuçlar çalışmada kullanıldı. DNA izolasyonu için olguların parafine gömülü doku bloklarından her olgu için ayrı ayrı olmak üzere, 1.5 ml'lik ependorf tüplere 5µm' luk kesitler alındı, sonra bu tüplerden ve akabinde Real time-PCR yöntemi ile nokta mutasyonlarına bakıldı.

3.1.Parafine Gömülü Dokulardan Genomik DNA İzolasyonu

Meme kanseri teşhisi konmuş 100 hastaya ait, %10 'luk formaldehitte tespit edilmiş parafine gömülü doku örneklerinin genomik DNA izolasyonu (The cobas® DNA Sample Preparation Kit, Roche) kit yardımı ile aşağıda belirtilen şekilde gerçekleştirilmiştir:

1. Her olguya ait parafin bloklardan 5 µm kalınlıkta 2-6 adet kesit alınıp 1.5 ml'lik ependorf tüpü içerisine aktarıldı.
2. Deparafinizasyon amacıyla, tüm örnekler 500 µl ksilen eklenip, 2-3 saniye boyunca vortekslendi. Daha sonra 5 dakika süresince oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.

- 3.** İnkübasyon sonrası, örnekler 500 µl saf etanol eklenip, 10 saniye vortekslendi ve oda sıcaklığında 5 dakika süresince inkübasyona bırakıldı.
- 4.** İnkübasyon süresi sonunda 16000xg'de 2 dakika boyunca santrifüj edildi.
- 5.** Mikropipet yardımıyla pelete dokunulmadan süpernatant uzaklaştırıldı.
- 6.** Rezidüe ksileni uzaklaştırmak için tüm örnekler tekrar 1000 µl saf etanol eklendi, 10 saniye boyunca vortekslendi.
- 7.** Oda sıcaklığında 16000xg'de 5 dk süresince santrifüj edildi. Mikropipet yardımıyla pelete dokunulmadan etanol uzaklaştırıldı.
- 8.** Etanolün tamamen uzaklaşması için ependorf tüplerin ağzı açık bırakılarak, 56°C'de ısıtıcı bloklarda 10 dakika boyunca inkübe edildi.
- 9.** İnkübasyon sonrası doku peleti, 180 µl doku lizis tamponunda (Tissue Lysis Buffer) süspanse edildi. 70 µl proteinaz K eklendi ve vortekslenerek karıştırıldı. Dokunun lizise uğraması için 56°C'ye ayarlı ısıtıcı bloklarda 1 saat inkübasyona bırakıldı.
- 10.** İnkübasyon süresi sonunda tüpler vortekslenerek, 90°C'ye ayarlı ısıtıcı bloklara aktarılıp tekrar 1 saat boyunca inkübasyona bırakıldı.
- 11.** Süre sonunda tüpler oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı ve spin yapıldı.
- 12.** Spin sonrası örnekler 200 µl DNA PBB (parafin binding buffer) eklendi. 3 kez pipetlenerek iyice etkileşimi sağlandı ve oda sıcaklığında 10 dakika boyunca inkübe edildi.
- 13.** İnkübasyon süresi sonunda tüm tüplere sırasıyla 100 µl izopropanol eklenip, 3 kez pipetlenerek etkileşimi sağlandı.
- 14.** Yaklaşık 550 µl'lik karışım, kitle sağlanan spin kolonlara aktarıldı ve 8000 xg'de 1 dk santrifüj edildi. Kolonlar kitle sağlanan temiz toplama tüplerine yerleştirildi ve filtrat içeren toplama tüpleri atıldı.

15. Dikkatlice yeni toplama kolonları açıldı ve filtre tüpler yeni toplama kolonlarına aktarıldı. Her bir örneğin üzerine 500 µl yıkama tamponu (Wash buffer I) eklendi. 8000xg'de 1 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası kolonlarda toplanan filtrat dökülerek, toplama kolonlarının uçları peçete ile kurutuldu. Filtreler temizlenen toplama tüplerine yerleştirildi.

16. Üzerlerine 500 µl yıkama tamponu (Washing buffer II) eklendi. 8000xg'de 1 dakika santrifüj edildi ve filtreler yeni toplama kolonlarına aktarıldı.

17. 16000xg'de 1 dakika santrifüj edildi.

18. Filtreler steril önceden etiketlenmiş mikrosantrifüj tüplerine yerleştirildi ve filtrat içeren toplama tüpleri atıldı. 80 µl elusyon tamponu (Elution buffer) filtreler eklendi. Oda ısısında 30 dakika inkübe edildi ve 8000xg'de 1 dakika santrifüj edildi.

19. Elde edilen DNA örnekleri -20°C'de saklandı.

3.2 DNA Saflığının Belirlenmesi ve Konsantrasyon Hesaplanması

BioDrop µLITE spektrofotometre (BioDrop µLITE Product Code 80-3006-51/United Kingdom) ile DNA'nın saflığı ve miktarı 260nm / 280nm dalga boyunda ölçüldü ve spektrofotometrik olarak değerlendirilmiştir. Optik dansite₂₆₀ / Optik Dansite₂₈₀ oranının 1,8 olması DNA'nın saflığını göstermektedir. Çalışmamızda saflık oranları 1,8 civarı olan DNA'lar kullanılmıştır.

3.3 BRCA 1 ve BRCA 2 Gen Mutasyonlarının Real -Time PCR ile Belirlenmesi

BRCA1 ve BRCA2 genlerine özgü **rs80357713 185delAG**, **rs80357906 [5382insC]**, **rs28897672** ve **rs80359550** bölgelerine ait mutasyon analizleri için kullanılan primerler ve hibridizasyon problemlerinin dizaynı yapıldı ve sentezletildi (TIB Molbiol, Berlin, Almanya). Çalışmada kullanılan primer setleri ve hibridizasyon prob dizilimleri ve bunların karışımında kullanılan miktarları aşağıdaki Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2 BRCA1 ve BRCA2 mutasyon analizlerine özgün reaksiyon karışımı

İçerik	Toplam Hacim
PCR-grade su	10,4 µl
MgCl ₂	1,6 µl
Reagent mix	1 µl
Master Karışım*	2 µl
DNA Örneği	5 µl(~50ng)
Toplam Hacim	20 µl

SNP (single nucleotid polimorfizm) analizi için LightCycler 480 II Real-Time PCR sistemi (Roche, Almanya) kullanıldı. Dizayn edilen primer-prob setleri kullanılarak gerçek-zamanlı PCR protokolünün optimizasyon çalışmaları yapıldı. Optimizasyon çalışmaları ile hem amplifikasyon hem de erime eğrisi analizleri için protokoller belirlendi. Öncelikle hedef bölge çoğaltıldı ve sonrasında ampikonun identifikasyonu, erime eğrisi analizi (melting curve analysis) ile yapıldı. PCR protokolü aşağıda gösterilmiştir (Tablo 3)

Tablo 3. BRCA1 ve BRCA 2 mutasyon analizi için gerçek-zamanlı PCR protokolü

Program İsmi		Denatürasyon		
Devir	1	Analiz modu		
Hedef(°C)	Kazanım modu	Süre (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Kazanımlar (per °C)
95	None	00:10:00	4.40	

Program İsmi		Döndürme		
Devir	45	Analiz modu	Niceleme	
Hedef (°C)	Kazanım modu	Süre (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Kazanımlar (per °C)
95	None	00:00:10	4.40	
60	Tek	00:00:10	2.20	
72	None	00:00:30	4.40	
Program İsmi		Erime		
Devir	1	Analiz modu	Erime eğrileri	
Hedef (°C)	Kazanım modu	Süre (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Kazanımlar (per °C)
95	None	00:00:30	4.40	
40	None	00:02:00	2.20	
75	Devamlı		0.03	5
Program İsmi		Soğuma		
Devir	1	Analiz modu		
Hedef (°C)	Kazanım modu	Süre (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Kazanımlar (per °C)
40	None	00:00:30	2.20	

3.4. İstatistiksel Yöntem

Araştırma verilerimizin istatistiksel değerlendirmesinde IBM SPSS 21.0 for windows istatistik paket programı kullanıldı. Ölçümsel değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma (SD) ile sunuldu. Kategorik değişkenler sayı ve yüzde (%) ile sunuldu. Nitel değişkenlerin gruplararası karşılaştırılması Chi-kare (χ^2) testi analizi kullanıldı. Hipotezler çift yönlü olup, $p \leq 0.05$ ise istatistiksel olarak anlamlı sonuç kabul edildi.

4.BULGULAR

Diyarbakır Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na 2010-2015 yılları arasında gönderilmiş, meme kanseri tanısı almış 59 rezeksiyon, 37 biyopsi olmak üzere toplamda 96 adet materyal çalışmaya alındı. Çalışmamıza dahil ettiğimiz vakalarımızın tamamını kadın hastalar oluşturmaktadır. Olgularımıza ait materyallerin tümör lokalizasyonları 46 tanesi sağ meme, 39 tanesi sol meme, 1 tanesi de sağ ve sol meme şeklindeydi. İncelenen olguların yeni ve eski WHO (Dünya Sağlık Örgütü) sınıflamalarına göre tümör histomorfolojik tipleri ve sayıları Tablo 4' de gösterilmiştir.

Tablo 4 : Olgulara ait meme tümörlerinin histomorfolojik alt tipleri

HİSTOPATOLOJİK TANILAR	SAYI	Yüzde
İNVAZİV DUKTAL KARSİNOM	71	74,0
MALİGN EPİTELYAL TÜMÖR	10	10,4
MİKROPAPİLLER KARSİNOM	3	3,1
MEDÜLLER KARSİNOM	2	2,1
TUBULOLOBÜLER KARSİNOM	2	2,1
İNVAZİV MÜSİNOZ KARSİNOM	1	1,0
MİKST DUKTAL VE LOBÜLER KARSİNOM	1	1,0
İNVAZİV KRİBRİFORM KARSİNOM	2	2,1
MALİGN MEZENKİMAL TUMOR	1	1,0
İNVAZİV LOBÜLER KARSİNOM	1	1,0
İNVAZİV MEME KARSİNOMU (NOS)	2	2,1
Total	96	100,0

Memeye ait olguların en küçüğü 17 yaşında ve en büyüğü 44 yaşında olup yaş ortalaması 33,65’idi. 59 adet rezeksiyon materyalinin modifiye bloom richardson [73] sınıflamasına göre 27 adeti Grade III, 22 adeti Grade II, 10 adeti Grade I idi. 43 olgunun tümör boyutu 2 cm ve altı, 16 olgunun tümör boyutu 2 cm’den büyüktü. Rezeksiyon materyallerine ait olguların tümör boyut ortalaması 3,94 idi. Çalışılan ER, PR, cerBB2 immunhistokimya parametreleri Tablo 5 ‘deki gibidir.

Tablo 5 : Olgulara ait meme tümörlerinin ER,PR, cerBB2 parametreleri

ER	Sayı
<i>Pozitif</i>	46
<i>Negatif</i>	37

PR	Sayı
<i>Pozitif</i>	39
<i>Negatif</i>	44
Cerb-B2	Sayı
0	40
1	6
2	7
3	30

Çalışmadaki 96 hasta örneği Real time PCR ile analiz edilerek LightCycler 480 instrument veri analiz programı kullanılarak değerlendirilmiştir. 4 adet nokta mutasyon primerleri her biri farklı oturumda 96 hastaya ayrı ayrı LightCycler 480 cihazı ile çalışılmıştır. Çalışmada meme tümörlü dokulardan elde edilen DNA örneklerinin spektrofotometre ile ölçülen konsantrasyon değerleri aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 6 elde edilen DNA konsantrasyon değerleri

SIRA	YAŞ	DNA KONSANTRASYONU(µL)
1	37	24,8
2	33	51,24
3	36	25,555
4	34	46,91
5	35	122,4
6	39	44,9
7	30	10,223
8	44	115,8
9	20	9,7205
10	34	21,49
11	32	242,55
12	30	56,565
13	41	96,795
14	41	43,505
15	41	52,99
16	37	111,53
17	38	30,555
18	34	54,69
19	32	58,445
20	37	151,45

21	38	104,3
22	30	43,41
23	30	25,05
24	35	15,915
25	34	26,375
26	33	104,55
27	27	28,5
28	29	223,15
29	21	16,195
30	28	49,265
31	29	26,385
32	31	70,735
33	27	17,2
34	34	47,195
35	38	37,87
36	39	14,075
37	39	136,02
38	30	42
39	35	53,85
40	39	60,015
41	35	13,06
42	26	71,3
43	37	36,245
44	35	52,94
45	34	19,955
46	29	78,85
47	38	37,285
48	39	27,16
49	37	51,455
50	30	43,315
51	32	86,505
52	37	62,395
53	36	10,48
54	33	47,955
55	32	8,12
56	33	56,37
57	32	31,205
58	39	14,655
59	37	201,15
60	37	11,98
61	36	45,105
62	39	11,0565
63	34	47,365
64	38	178,665
65	35	32,435

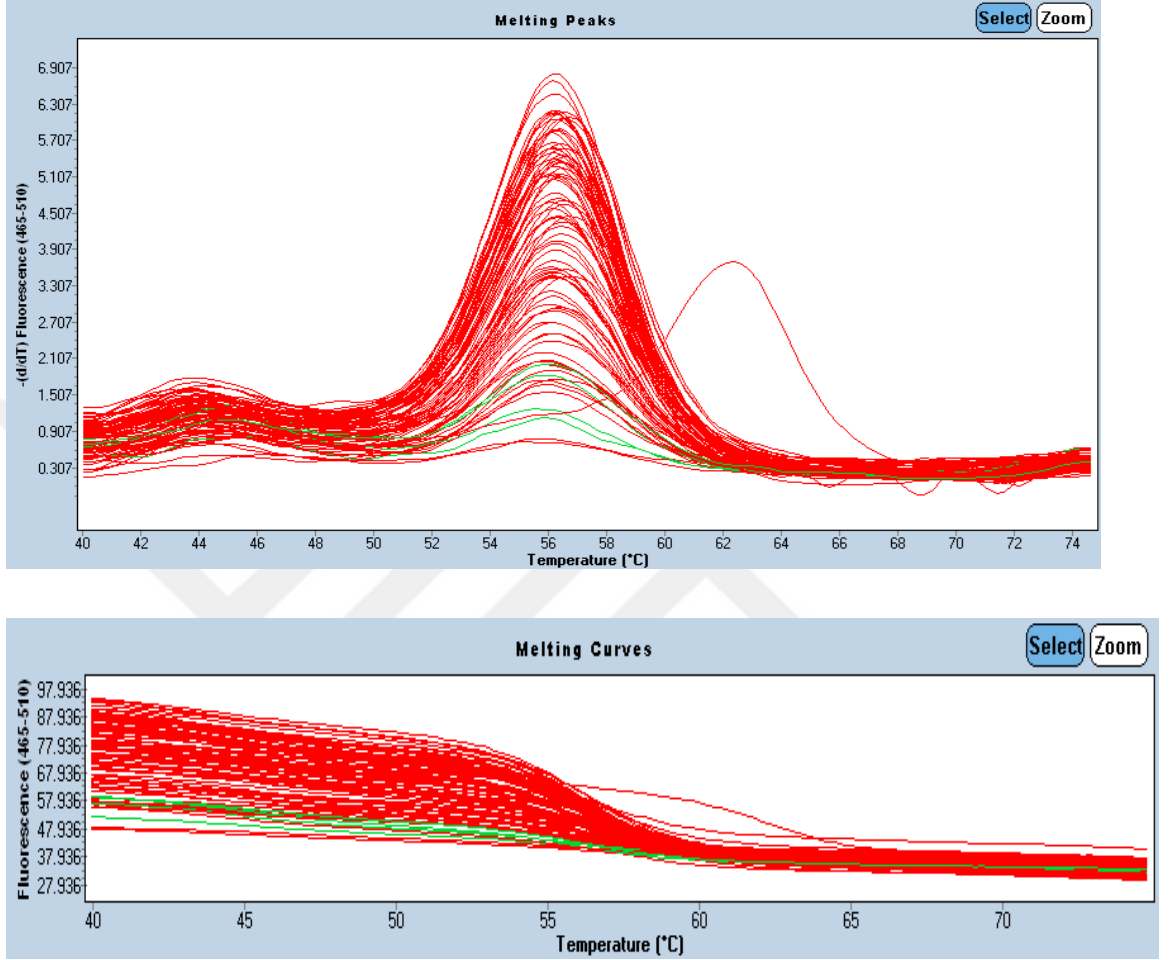
66	37	76,38
67	33	52,43
68	33	145,6
69	34	20,3
70	29	8,412
71	26	21,81
72	17	271,15
73	33	11,7
74	24	8,2725
75	31	33,48
76	34	41,795
77	34	212,9
78	32	18,45
79	39	92,76
80	35	46,26
81	34	20,57
82	39	36,075
83	40	16,32
84	33	48,61
85	37	12,485
86	24	42,28
87	18	108,45
88	38	58,88
89	40	30,525
90	27	18,26
91	36	50,72
92	40	12,715
93	38	55,61
94	35	12,345
95	36	32,99
96	24	8,67

96 olgumuzdan sadece bir tanesinde BRCA 1 rs80357906 [5382insC] nokta mutasyon saptanmıştır (%1,04). Bu mutasyonun saptandığı ve saptanmadığı bazı olguların erime pik değerleri aşağıdaki Tablo 7 ‘de gösterilmiştir.

Tablo 7 BRCA 1 rs80357906 [5382insC] çalışılan hastaların örnek pik değerleri (90 nolu hastada mutasyon gözlemlendi)

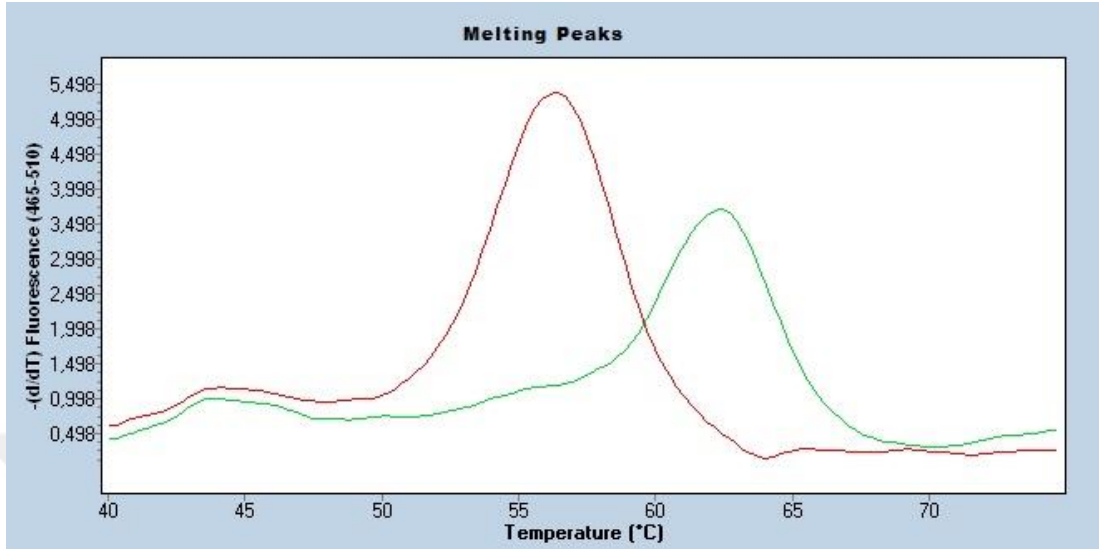
Hasta no	Pik 1				Pik 2			
1	56.75	26.01	5.91	4.40				
2	56.63	28.56	5.83	4.90				
3	56.92	20.36	5.48	3.71				
4	56.92	24.94	5.95	4.19				
5	56.97	7.75	5.44	1.42				
6	56.77	29.13	5.71	5.10				
7	57.01	18.11	5.52	3.28				
8	56.81	29.69	5.63	5.27				
9	56.78	29.22	5.65	5.17				
10	56.68	23.91	5.65	4.23				
12	56.95	32.82	5.69	5.76				
13	56.67	27.08	5.77	4.69				
14	56.39	17.01	6.09	2.79				
15	56.56	33.52	5.52	6.08				
16	56.55	37.99	5.70	6.67				
17	56.73	13.90	5.45	2.55				
18	56.60	30.15	5.59	5.39				
19	45.39	2.44	4.80	0.51	56.16	6.06	6.9	0.87
20	56.77	18.43	5.49	3.35				
21	56.67	27.66	5.53	5.01				
23	56.15	11.96	6.24	1.92				
24	56.74	10.12	5.39	1.88				
25	56.75	29.19	5.84	5.00				
26	56.57	33.82	5.66	5.97				
27	56.44	37.44	5.78	6.48				
28	56.56	28.42	5.59	5.08				
29	57.29	3.43	5.98	0.57				
30	56.77	17.75	5.44	3.26				
90	62.39	19.67	5.79	3.40				

Şekil 5 BRCA 1 rs80357906 [5382insC] 96 olgumuza ait ısıma pik ve eğrileri



BRCA 1 rs80357906 [5382insC] mutasyon pozitif ve wild tip bir hastanın erime pik değerlerinin karşılaştırma grafisi (Şekil 6) aşağıda gösterilmiştir. Grafiye göre yeşil çizgi pozitif mutasyon saptanan olguyu, kırmızı renkli çizgi wild tipe ait olguyu temsil etmektedir.

Şekil 6 BRCA 1 rs80357906 [5382insC] mutasyon pozitif ve wild tip hastaların karşılaştırılması



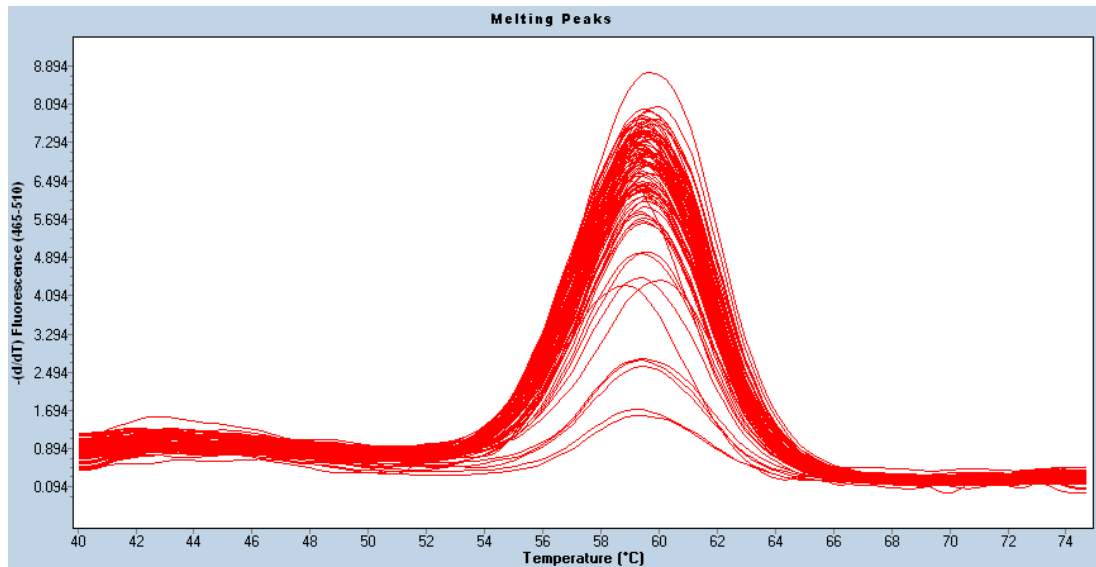
Çalışmamızda 96 adet meme kanseri tanısı almış olgularımızda, BRCA 1 rs77944974 (=rs80357713) 185delAG, BRCA 1 rs28897672, BRCA 2 rs80359550 genlerine ait nokta mutasyonları tespit edilememiştir. Bu genlere ait erime pik değerleri ve grafikleri aşağıdaki tablo ve grafiklerde gösterilmiştir.

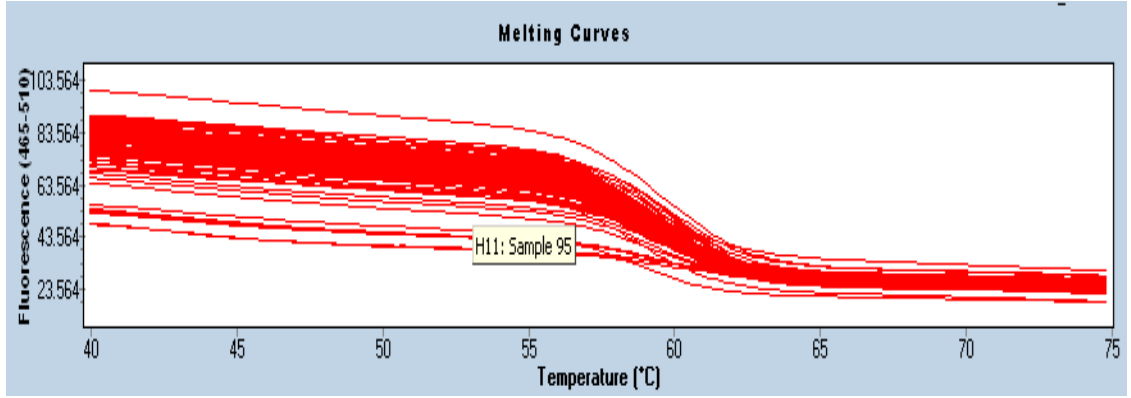
Tablo 8 BRCA 1 rs77944974 (=rs80357713) 185delAG çalışılan hastaların örnek pik değerleri

Hasta no	Pik 1 Tm			
1	59.68	38.20	5.62	6.80
2	59.73	42.55	5.67	7.51
3	59.78	35.67	5.33	6.70
4	59.90	40.79	5.53	7.38
5	59.89	31.96	5.30	6.03
6	59.71	41.09	5.65	7.27
7	59.78	35.57	5.42	6.57
9	58.88	34.25	5.37	6.38
10	59.60	36.69	5.45	6.73
11	59.66	43.05	5.66	7.60
12	59.64	43.55	5.70	7.64
13	59.71	39.66	5.53	7.17

14	59.72	34.15	5.26	6.49
15	59.63	41.69	5.44	7.67
16	59.61	45.98	5.64	8.15
17	59.69	34.01	5.27	6.45
18	59.46	44.02	5.58	7.88
19	59.70	28.18	5.05	5.58
20	59.50	37.25	5.38	6.93
21	59.50	38.57	5.30	7.27
22	59.79	33.66	5.27	6.39
23	59.59	33.99	5.28	6.44
24	59.62	36.13	5.60	6.45
25	59.78	39.15	5.55	7.06
26	59.65	39.26	5.45	7.21
36	59.72	33.78	5.40	6.25

Şekil 7 BRCA 1 rs77944974 (=rs80357713) 185delAG 96 olgumuza ait ısıma pik ve eğrileri

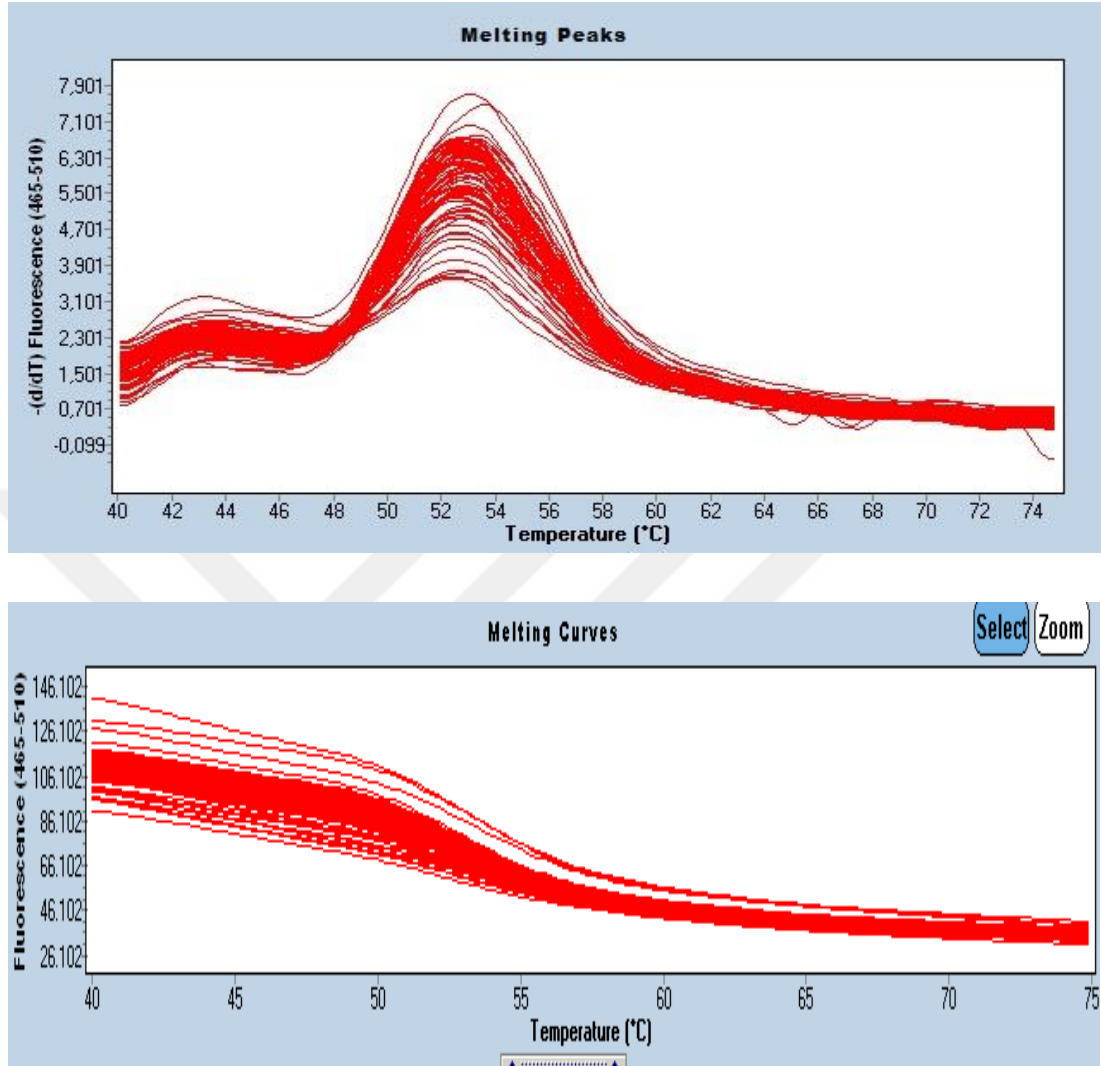




Tablo 9 BRCA 1 rs28897672 çalışılan hastaların örnek pik değerleri

Hasta no	Pik 1 Tm			
80	53.62	37.46	7.51	4.99
81	53.62	37.56	7.44	5.05
82	53.33	41.00	7.30	5.62
83	54.63	20.09	7.84	2.56
84	53.43	38.32	7.13	5.37
85	53.77	39.21	7.33	5.35
86	53.52	41.12	7.29	5.64
87	53.70	43.30	7.43	5.83
88	53.82	39.04	7.28	5.36
89	53.85	48.83	7.57	6.45
90	53.94	36.62	7.36	4.98
91	53.60	39.92	7.34	5.44
92	54.04	41.63	7.58	5.50
93	53.54	43.93	7.40	5.94
94	53.32	39.93	7.18	5.56
95	53.83	27.85	7.36	3.78
96	53.59	35.24	7.23	4.88

Şekil 8 BRCA 1 rs28897672 olgumuza ait ısıma pik ve eğrileri

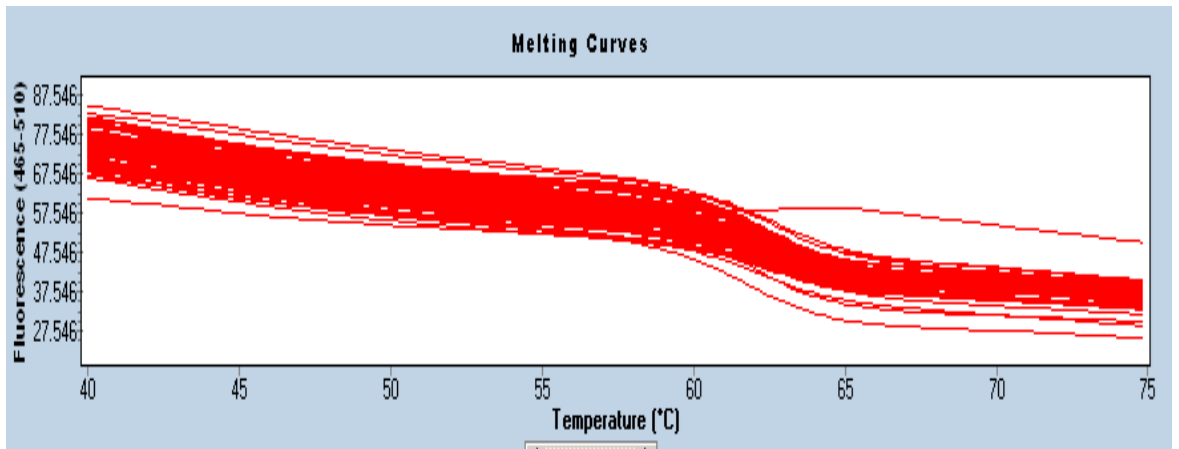
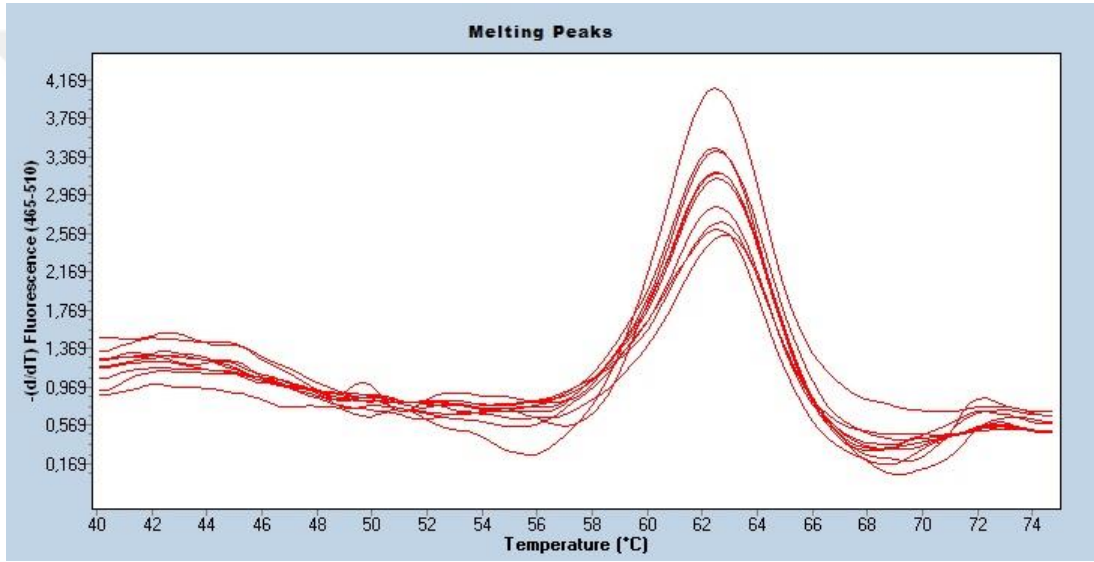


Tablo 10 BRCA 2 rs80359550 çalışılan hastaların örnek pik değerleri

Hasta no	Pik 1 Tm			
39	62.48	15.45	4.98	3.10
40	63.25	10.33	4.55	2.27
41	62.44	12.78	5.09	2.51
42	62.63	12.53	4.02	3.12
43	62.64	11.48	3.94	2.91
44	62.38	15.34	4.66	3.29
45	62.62	16.57	5.64	2.94
46	63.10	7.61	3.59	2.12
47	62.70	11.60	3.73	3.11

48	62.89	9.66	4.04	2.39
49	62.59	16.65	5.20	3.20
50	62.69	13.23	3.90	3.39
51	62.71	13.03	3.97	3.28
52	62.87	14.98	5.96	2.51
53	62.93	14.77	6.24	2.37
54	62.37	16.00	4.97	3.22
55	62.69	13.96	5.56	2.51

Şekil 9 BRCA 2 rs80359550 olgumuza ait ısıma pik ve eğrileri



5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Meme kanseri, dünyada en sık kadınlarda görülmekle birlikte, tüm kanserlerin yaklaşık %30'unu oluşturmakta ve en fazla ölüme sebep olmaktadır [1]. Meme kanseri için major risk faktörleri yaş, cinsiyet, geçirilmiş meme hastalığı, ailede meme kanseri öyküsü ve genetik yatkınlık olarak belirlenmiştir. Meme kanseri oluşumunda bir çok tümör supresör genler, onkogenler ve DNA tamir genleri rol oynamaktadır. Bizim olgularımızın tamamı kadın hastalardan oluşmaktadır.

Meme kanseri 25 yaşın altında nadir olup, bu yaştan sonra risk menapoza kadar devamlı artar. Sonraki dönemde bunu yavaş bir yükselme izler. 75-80 yaş en yüksek risk düzeyi yaşını oluşturmaktadır [3]. Çalışmamızı oluşturan olgularımızın en küçük yaşı 17, en büyük yaşı 44 olup, yaş ortalaması 33,65 olarak tespit edilmiştir.

Tümör boyutu evrelemede lenf nodu tutulumu ve metastaz ile birlikte kullanılmaktadır. Tümör çapı 2 cm veya daha küçük olan olguların prognozu diğerlerine göre çok daha iyidir [3, 71]. Atıcı ve arkadaşları, yaptıkları bir çalışmada meme kanserlerinde tümör büyüklüğü ile hastalıksız yaşam ve sağ kalım arasındaki ilişkiyi incelemişler. Bu çalışmada anlamlı bir ilişki bulmuşlardır. Çalışmaya göre, 2 cm' den küçük, 2-5 cm arası ve 5 cm' den büyük tümörlü hastalar için 3 yıllık takipler sonucu sırası ile % 100, % 77, % 83 hastalıksız yaşam ve %100, % 84, % 93 sağ kalım oranları belirlemişlerdir [14]. Ayrıca rekürrens riskinin tümör boyutunun artışı ile korele olduğu ve kanserin boyutunun 1 cm' den büyük olduğunda adjuvan sistemik tedavi için potansiyel bir aday olduğu belirtilmiştir [63]. 96 adet olgumuzun 43 tanesinde tümör boyutu 2 cm ve altı, 16 tanesinde tümör boyutu 2 cm'den büyüktü. Rezeksiyon materyallerine ait olguların tümör boyut ortalaması ise 3,94 olarak tespit edilmiştir.

Meme karsinomunun histomorfolojik olarak tubuler, papiller, müsinöz, adenoid kistik karsinom, medüller karsinom gibi belli tipleri düşük dereceli kanserlerdir. Aksiller lenf nodu metastazı göstermedikleri için veya görülme sıklığı düşük olması nedeniyle genel olarak iyi prognoz ve düşük rekürrens oranları

göstermekle birlikte bunlarda hastalıksız yaşam oranları % 100' dür. Bu oran duktal ve lobuler karsinomlarda % 92 civarındadır [10, 63].

Kötü diferansiye agresiv neoplazm sınıfında yer alan taşlı yüzük hücreli karsinom, inflamatuvar karsinom ve karsinosarkom diğer sınıfta yer alırlar. İnflamatuvar karsinom en agresiv tümörlerden biridir ve 5 yıllık sağ kalım oranı % 11'dir. Medüller karsinomda 10 yıllık survi % 51, invaziv duktal karsinomda % 46, invaziv lobuler karsinomda % 53 olarak tespit edilmiştir [10]. Bizim meme biyopsi ve rezeksiyon olgularımızdan histomorfolojik olarak en sık görülen alt tipini invaziv duktal karsinom (71 olgu) oluşturmaktadır (Tablo 4).

Tümörün histolojik grade'i, yaşam süresi üzerine olan etkisi en iyi araştırılmış olan parametredir. Elston tarafından modifiye edilmiş Bloom-Richardson sistemi günümüzde en çok kabul gören sistemdir. Bu sistemde tümörde tubul yapısı, nükleer özellikler ve mitoz sayısı ayrı ayrı değerlendirilir ve skorlanır. Elde edilen sonuca göre tümörün histolojik diferansiasyonu I, II, III olarak değerlendirilir. Tüm invaziv meme karsinomlarında derecelendirme yapılabilir (medüller karsinomlar hariç) [73]. Yapılan bir çalışmada 5 yıllık yaşam oranları Grade I, II ve III tümörler için sırası ile % 81,9, % 63,4, % 49,5 olarak belirtilmiştir [74]. Bu gradelemenin prognoza etkisi ve tekrarlanabilir güvenilirliği sayesinde bu sistemin rutin patoloji raporlarına eklenmesine yönelik bir yaklaşım oluşmuştur [75]. Çalışmamızda 59 olguya ait rezeksiyon materyalinin modifiye bloom richardson sınıflamasına göre; 27 tanesi Grade III, 22 tanesi Grade II, 10 tanesi Grade I olarak raporlanmıştır.

İnvaziv kanserlerde %37-80 oranında ER, %45-69 oranında PR pozitifliği bildirilmiştir. ER pozitif hücrelerin oranı, tümörün diferansiasyon derecesi ve hormonal tedaviye vereceği yanıt ile ilişkilidir. Tedaviye en yüksek cevabı veren hem ER, hem PR pozitif tümörlerdir [80, 81]. Bir tümörde ER ve PR'nin her ikisinin pozitifliği, sadece ER (+) olan tümörlü hastalarda izlenen ortalama %52'lik hormonal tedavi yanıtını %75-80'e kadar yükseltir [2, 9, 82, 83]. Meme kanserlerinde androjen reseptör ekspresyonu % 20-85 arasındadır ve bu reseptör primer ve metastatik meme kanserlerinde en sık eksprese edilen steroid hormon reseptörüdür. Genel olarak ER ve PR ile belirgin korelasyon göstermektedir [84, 85]. Çalışmamızda 83 adet

olgumuza ER, PR immünohistokimsasal belirteçler uygulanmıştır. ER belirteciyle %55,4 olguda pozitif, PR belirteciyle %46,9 olguda pozitiflik tespit edilmiştir.

Meme kanserlerinde Cerb-B2'nin belirtecinin hem prognostik hem de prediktif önemi mevcuttur. Meme kanserli hastalarda % 25-30 oranında cerb-B2 amplifikasyon ve over ekspresyonu bildirilmiştir. Cerb-B2 pozitifliği tümörün agresiv davranışı ve kötü prognoz ile yakından ilişkili bulunmuştur [87]. Çalışmamızda 83 olguya uygulanan Cerb B2 belirteci boyanma paternine göre 0(boyanma yok), 1, 2, 3 olmak üzere sınıflanmıştır. Olgularımızın %48,2' si 0(boyanmamış), %7,3'ü 1 pozitif, %8,4'ü 2 pozitif, %36,1'i 3 pozitif tespit edilmiştir.

Meme kanserlerinin büyük çoğunluğu sporadik vakalar olarak görülürken, tüm olguların % 5–10'unu kalıtsal nedenli ailesel meme kanseri oluşturmaktadır. BRCA tümör süpresör geninin yapılan çalışmalar sonucu BRCA1 ve BRCA2 genlerinin mutasyonlu tüm ailesel kanserlerin %40-50'sinden sorumlu olduğu tahmin edilmektedir.[5] BRCA1 geni, hem normal meme dokusu gelişiminde hem de tümör oluşumunda rol alan bir tümör supressör gendir. Oldukça kompleks bir yapısı olan BRCA1 geninde 300'den fazla germline mutasyon belirlenmiştir. Genetik heterojenite göz önüne alındığında BRCA1'in hızlıca değerlendirilebilmesi büyük bir avantaj meydana getirecektir [89].

Yapılan bir çalışmada, BRCA1 gen mutasyonuna bağlı meme karsinomlarının daha genç yaşta geliştiği gösterildi. Ayrıca BRCA1 gen mutasyonu olmayan olgularla kıyaslandığında nükleer derecelerinin daha yüksek, p53 mutasyonunun daha sık ve genellikle ER, PR HER2 negatif olgular olduğu belirtildi. [90]. Yu ve ark.'nın yaptıkları çalışmada da benzer sonuçlara ulaşılmıştır. BRCA1 gen mutasyonu olan meme kanserli olgular sporadik olgulara göre daha genç hastalardır ve sıklıkla triple negatiftir [91]. Bizim çalışmamızda 96 olgumuzdan sadece 1 tanesinde BRCA1 gen mutasyonu saptanmış olup, olgumuzda tümör hücrelerinde ER ve PR belirteçleri pozitif, Cerb B2 belirteci negatif tespit edilmiştir. Meme kanseri ile ilişkili BRCA1/2 mutasyonları, bu genlerin protein kodlayan bölgelerindeki nükleotid dizilerinde araştırılmakla birlikte bu değişimler BRCA1/2 proteinlerinin yapısını ve çeşitli biyolojik fonksiyonlarını doğrudan etkiler [92, 93]. Ancak, son

yıllarda gerçekleştirilen çalışmalarda genlerin protein kodlamayan bölgelerindeki nükleotid değişimlerinin de çeşitli hastalıklara yol açabildiği belirtilmiştir [94]. BRCA1 ve/veya BRCA2 genlerinde mutasyona sahip bir kadında yaşla birlikte meme kanserine yakalanma riski de artar. 70 yaşına kadar hayat boyu meme kanserine yakalanma riski %80'e, over kanserine yakalanma riski ise %50'ye kadar çıkmaktadır [95, 96]. Meme kanseri hastaların genetik olarak test edilmesinde bir çok yöntem bulunmaktadır ve konvansiyonel dizi analizi yöntemi kanser genomunun tanımlanmasında halen altın standart genetik tanı yöntemi olarak kabul edilmektedir. Fakat teknik zorlukları, maliyetinin fazla olması ve oldukça zaman alıcı bir yöntem olması bu yöntemin dezavantajlarındandır [97, 98]. Meme kanseri tanısında daha az zaman alıcı, daha az maliyetli, teknik zorlukları daha az olan ve duyarlılığı bu yönteme en yakın olan yeni genetik tanı yöntemleri araştırılmıştır.

Son zamanlarda kullanılmaya başlanan genetik biliminde yeni teknolojiler olan Mikroarray ile yeniden dizileme ve NGS (next-generation sequencing) yöntemleri, kanser genomunu tanımlamada ve kanserin moleküler sebeplerini belirlemede önemli metodlar olarak dikkati çekmektedir. Bu yöntemlerin Sanger yöntemine göre hasta başına maliyeti daha azdır. Ancak, bu yöntemlerin doğruluğu ve güvenilirliği hakkında yeteri kadar bilgi bulunmamaktadır. [97].

Real-time PCR DNA'nın çoğaltımını ve ürünlerini tek bir tüpte belirlemeyi mümkün kılan çok yakın bir zamanda uygulamaya konulan popüler metod olarak karşımıza çıkmıştır [99]. Bu metot, gen anlatımının analizini değiştirmiş böylece geleneksel PCR yöntemi ve gen analizi birleştirilmiştir. Yöntemin çalışma prensibi PCR çoğaltımını görünür hale getiren ve monitorize edebilen floresan işaretli prob ve boyaların kullanıldığı, floresanın oluşan DNA ile doğru orantılı olarak arttığı çoğaltma esasına dayanır. Yabancı yayınlarda "kinetik PCR", "homojen PCR", "kantitatif Real-time PCR" gibi değişik isimlerle adlandırılmaktadır [100]. En çok kullanım alanları; biyolojik örneklerden elde edilen DNA'nın kopya sayısını sayısal değerlere dönüştürme ve mRNA'nın düzeyini sayısal olarak belirleyebilmedir. Ayrıca tek nokta mutasyonlarını belirleme, patojen belirleme, DNA hasarı belirleme, metilasyon tespiti, SNP analizi, kromozom bozukluklarının tespiti gibi çalışmalarda da kullanım olanakları sağlar [101]. PCR yöntemi özgül olmayan ve özgül belirleme

sistemi olarak ikiye ayrılmaktadır. Özgül olmayan belirleme grubunda spesifik olmayan çift zincirli DNA'nın çoğaltımında "SYBR Green I" yöntemi kullanılır. Özgül belirleme grubunda ise "TaqMan Probe", moleküler boncuk ve Hibridizasyon Prob yöntemi mevcuttur. Hibridizasyon Prob Yöntemi Roche tarafından "LightCycler" PCR cihazında kullanılmak üzere geliştirilmiştir [102, 103]. Bunun için iki farklı prob dizayn edilmiş olup, 3' ucunda floresans işaretli boya (donor), 5' ucunda alıcı boya (acceptor) mevcuttur. PCR reaksiyonu sırasında bu iki prob hedef nükleik asit dizisine bağlanıp birbirine yaklaştığında bir enerji yayılımı olur (FRET: Fluorescence Resonance Energy Transfer). Enerji "donor" boyadan "acceptor" boyaya transfer olur ve bu enerji transferi sonucunda oluşan floresans miktarı PCR süresince oluşan ürün miktarı ile doğru olarak zamanla artar [102].

Biz de bu çalışmamızda olgularımızda PCR özgül belirleme grubundan Hibridizasyon Prob Yöntemiyle Roche tarafından "LightCycler" PCR cihazı kullanılarak BRCA1 ve BRCA 2 genlerinde BRCA1 ve BRCA2 genlerine özgü **rs80357713**, **rs80357906**, **rs28897672** ve **rs80359550** bölgelerine ait nokta mutasyon analizlerini bölgemizde hasta popülasyonunu spesifiye etmeden meme kanseri tanısı almış biyopsi ve rezeksiyon materyalleri seçerek 42 yaş altında ortaya koymayı amaçladık. Bu yöntemle çalıştığımız olgularımızdan sadece bir tanesinde BRCA 1 genine ait **rs80357906** [5382insC] nokta mutasyonu saptadık.

BRCA1 ve BRCA2 genlerinde meydana gelen farklı mutasyonların sıklığı farklı etnik gruplarda ve popülasyonlarda değişiklik göstermektedir. BRCA1 geninde en sık görülen mutasyonlar 5382insC ve 185delAG iken; BRCA2 geninde en sık görülen mutasyon 6174delT'dir. BRCA1 ve BRCA2 genlerinde oluşan mutasyonlara bağlı hereditör meme kanserinin en sık görüldüğü toplum olan Askenazi Yahudileri'nde yapılan mutasyon sıklık çalışmasında BRCA1 geninde en sık olarak 185delAG (%1.09) ve 5382insC (%0.13); BRCA2 geninde ise 6174delT (%1.52) mutasyonları tespit edilmiştir [104]. İzlandalı kadınlarda yapılan bir çalışmada ailesel meme kanseri olan hastaların % 0.6'sında BRCA2 geninde 999del5 mutasyonu tespit edilmiştir [105]. Yazıcı ve arkadaşlarının 2000 yılında yaptıkları, Türkiye'de ailesel meme kanseri hikayesi pozitif hastalarda yapılan mutasyon analiz çalışmasında 53 hasta değerlendirilmiştir [106]. 2003 yılında Manguoğlu ve arkadaşlarının yaptıkları

çalışmada meme ve over kanseri açısından yüksek risk taşıyan 106 hasta ve prostat kanseri açısından yüksek risk taşıyan 50 araştırılmış ve bu çalışma sonucunda BRCA1 ve BRCA2 genlerinde türk popülasyonuna ait insidans artışı gösteren belirgin bir mutasyon tanımlanmamıştır [107]. Bu çalışmalar, Türk popülasyonunda insidans artışı gösteren mutasyon/mutasyonlar olmadığını göstermiştir. 1996-2006 yılları arasında, Amerika Birleşik Devletleri'nde bulunan Myriad Genetic Laboratories'te BRCA1 ve BRCA2 genlerinde mutasyon saptanan, 5840 bireyde yapılan bir çalışmada farklı etnik gruplarda görülen mutasyonların dağılım yüzdesi belirlenmiştir. Tablo 11'de saptanan mutasyonlar gösterilmiştir [108].

Tablo 11. Etnik Gruplara Göre %2'den Fazla Prevelansa Sahip Tekrarlayan Mutasyonların Dağılımı [108]

Etnisite	BRCA1	BRCA2	Mutasyon
Batı Avrupa (N=4389)			
	5385insC		228(5.2)
	187delAG		128(2.9)
	C61G		101(2.3)
	6kb exon13ins		95(2.1)
	IVS5-11T>G		90(2.1)
	4184del4		89(2.0)
Afrika (N=279)			
	943ins10		28(10.0)
	M1775R		22(7.9)
	5296del4		16(5.7)
	IVS13+1G>A		12(4.3)
	IVS16+6T>C		10(3.6)
OrtaAvrupa (N=550)			
	5385insC		82(14.9)
	C61G		36(6.4)
		6174delT	25(4.5)
	187delAG		23(4.2)
	Q563X		15(2.7)
Kızılderili (N=105)			
	187delAG		7(6.7)
	5385insC		4(3.8)

Asya (N=184)			
	L63X		6(3.3)
		R2494X	5(2.7)
		Q1037X	4(2.2)
	187delAG		4(2.2)
Latin Amerika (N=287)			
	187delAG		35(12.2)
	A1708E		14(4.9)
	R71G		13(4.5)
	3492insT		12(4.2)
	2552delC		11(3.8)
	E1308X		10(3.5)
	3148delCT		10(3.5)
Ortadoğu (N=46)			
	187delAG		7(15.2)
	C44F		5(10.9)
	Y978X		3(6.5)
	L63X		6(7.6)

N: Çalışmaya katılan hasta sayısı

H.Yazıcı ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada genç meme kanserli ve ailesel hikayesi olan 53 hasta ile ailesel hikayesi olmayan 50 yaş altı meme kanseri tanısı almış hastalar incelenmiş. Ailesel hikayesi olanların sekizinde mutasyon saptandı, bunların 7'si BRCA 1, 1'i BRCA 2 mutasyonu idi. Ailesel olmayan 52 hastadan 2 tanesinde 5382 ins C nokta mutasyonu saptanmış. Aşkenazi ve Rus popülasyonunda sık görülen 5382 ins C nokta mutasyonun tespit edilmesi ve ailesel olmayan olgularda saptanması, Türk popülasyonunda da bu gen mutasyonun yaygın olabileceği öngörülmüştür [106]. Purcu ve arkadaşlarının 2013 yılında aile hikayesi pozitif olan, 25 kadın hastada yaptıkları bir çalışmada 5 hastada 4'ü aynı aileye mensup olmak üzere BRCA1 geninde 5382insC mutasyonu saptanmış, diğer hastalarda ise farklı bölgelerde mutasyonlar saptanmıştır. Bu sonuçlar, 5382insC mutasyonunun Türk hasta popülasyonu için daha dominant bir penetrans gösterdiğini ortaya koymuştur. [109].

Biz de çalışmamızda bölgemize ait olgularımızda BRCA 1 genine ait **185delAG (rs80357713)**, **5382insC (rs80357906)**, **C61G (rs28897672)** 3 adet, BRCA 2 genine ait 1 adet **6174delT (rs80359550)** nokta mutasyonu çalıştık. Çalışmamız sonucunda 96 adet olgumuzun sadece bir tanesinde BRCA 1 genine

ait **185delAG (rs80357713)** nokta mutasyonunu saptadık. Bu sayı istatistiksel analizler için yetersiz bulunmuştur.

Çalışmamızdaki bazı sonuçlar literatürle örtüşürken bazıları ise literatüre tamamen terstir. Bu durumun farklı nedenleri vardır. Çalışmamızdaki olgu sayısı 96'dır. Literatürde yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında olgu sayımız oldukça azdır. Çalışmada heterojen bir hasta grubumuz vardı. Belirli bir histolojik tip veya moleküler alt tip ve spesifik gruplar belirlenip buna uygun olgu seçimi yapılarak çalışmanın tekrarlanması durumunda daha farklı sonuçlara ulaşılabileceği kanısındayız.

Meme kanseri tedavisinde önemli aşamalar katedilmiştir. Hedefe yönelik tedaviler hasta yaşam sürelerini anlamlı olarak uzatmaktadır. Daha geniş olgu serilerinde daha spesifik gruplarda tespit edilecek gen nokta mutasyonlar hastaya ait spesifik tedavi yöntemlerine ışık tutacağı kanaatindeyiz.

6. KAYNAKLAR

1. <http://globocan.iarc.fr/old/FactSheets/cancers/breast-new.asp>.
2. Kumar, V., Abbas, A.K., Fausto, N., Robbins and Cotran *Lester, S.C., The Breast. Pathologic Basis of Disease*, 2010. **VIII. Baskı**: p. 280-286, 1073-1095.
3. Kuzey., G.M., *Temel Patoloji* 2007: p.:705-744.
4. Sondik, E.J., *Breast cancer trends. Incidence, mortality, and survival.* Cancer, 1994. **74**(3 Suppl): p. 995-9.
5. Baskan S., A.K., Arıbal E., Özaydın N., Balcı P., Yavuz E, *Meme Kanserinde Tarama ve Tanı (İstanbul Meme Kanseri Konsensus Konferansı 2010)*,. Meme Sağlığı Dergisi, 2012. **8**(3): p. 100-125.
6. Claus EB, R.N., Thompson WD., *Genetic analysis of breast cancer in the cancer and steroid hormone study.* . Am J Hum Genet, 1991:. **48** (2): p. 232–242.
7. Hogervorst, F.B., et al., *Large genomic deletions and duplications in the BRCA1 gene identified by a novel quantitative method.* Cancer Res, 2003. **63**(7): p. 1449-53.
8. Hamel, N., et al., *On the origin and diffusion of BRCA1 c.5266dupC (5382insC) in European populations.* Eur J Hum Genet, 2011. **19**(3): p. 300-6.
9. Juan, R., *Rosai and Ackermans Surgical Pathology Breast.* 2004. **9th ed. New York**: p. 1763-1839.
10. FA., T., *Normal development and anomalies.* Pathologyof the Breast Appleton&Lange., 1999. **second ed.**: p. 1-24.
11. In, T.W.S., *Langman's medical embryology seventh edition.* 1995: p. 355-356.
12. Mccarty KS, T.J., Breast. In, *Sternberg SS ed. Histology for Pathologists.* 1992(1sted.): p. 893-902.
13. Egan, R.L., *Multicentric breast carcinomas: clinical-radiographic-pathologic whole organ studies and 10-year survival.* Cancer, 1982. **49**(6): p. 1123-30.
14. Atıcı V, T.C., Genç V, Kaya selçuk F, Tuncer İ, Erkişi M, Burgut R, *Meme kanserlerinde prognostik faktörler.* . Çukurova Üniversitesi Tıp Fakultesi Dergisi 1998(23:): p. 35-43.
15. Osborne MP.. In: Harris JR, L.M., Morrow M, Osborne CK, *Breast anatomy and development.* Diseases of the breast., 2010(4 th ed): p. 3-11.

16. ed., T.F.I.T.F., *Normal development and anomalies*. . Pathology of the Breast, 1999; . **second ed.**: p. 1-24.
17. Going, J.J. and T.J. Mohun, *Human breast duct anatomy, the 'sick lobe' hypothesis and intraductal approaches to breast cancer*. Breast Cancer Res Treat, 2006. **97**(3): p. 285-91.
18. Collins LC, S.S.B.I.M.S.e., *Histology for Pathologists*. 2007;. **Third edition**: p. 57-71.
19. Bocker, W., et al., *Common adult stem cells in the human breast give rise to glandular and myoepithelial cell lineages: a new cell biological concept*. Lab Invest, 2002. **82**(6): p. 737-46.
20. Garfinkel, L., C.C. Boring, and C.W. Heath, Jr., *Changing trends. An overview of breast cancer incidence and mortality*. Cancer, 1994. **74**(1 Suppl): p. 222-7.
21. Consensus Meeting. Oct 3 to 5, *Cancer Committee of the College of American Pathologists: Is 'fibrocystic disease' of the breast precancerous?* . 1986(110): p.:171-173.
22. Broet, P., et al., *Contralateral breast cancer: annual incidence and risk parameters*. J Clin Oncol, 1995. **13**(7): p. 1578-83.
23. Coussens, L., et al., *Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with neu oncogene*. Science, 1985. **230**(4730): p. 1132-9.
24. Lynch, T.J., et al., *Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib*. N Engl J Med, 2004. **350**(21): p. 2129-39.
25. Shawarby, M.A., D.M. Al-Tamimi, and A. Ahmed, *Very low prevalence of epidermal growth factor receptor (EGFR) protein expression and gene amplification in Saudi breast cancer patients*. Diagn Pathol, 2011. **6**: p. 57.
26. Tan, M. and D. Yu, *Molecular mechanisms of erbB2-mediated breast cancer chemoresistance*. Adv Exp Med Biol, 2007. **608**: p. 119-29.
27. Olayioye, M.A., *Update on HER-2 as a target for cancer therapy: intracellular signaling pathways of ErbB2/HER-2 and family members*. Breast Cancer Res, 2001. **3**(6): p. 385-9.
28. Emens, L.A., *Trastuzumab: targeted therapy for the management of HER-2/neu-overexpressing metastatic breast cancer*. Am J Ther, 2005. **12**(3): p. 243-53.
29. Bar-Sagi, D., *A Ras by any other name*. Mol Cell Biol, 2001. **21**(5): p. 1441-3.
30. Xu, J., Y. Chen, and O.I. Olopade, *MYC and Breast Cancer*. Genes Cancer, 2010. **1**(6): p. 629-40.
31. Kern, S.E., et al., *Identification of p53 as a sequence-specific DNA-binding protein*. Science, 1991. **252**(5013): p. 1708-11.
32. Varley, J.M., *Germline TP53 mutations and Li-Fraumeni syndrome*. Hum Mutat, 2003. **21**(3): p. 313-20.
33. Manie, E., et al., *High frequency of TP53 mutation in BRCA1 and sporadic basal-like carcinomas but not in BRCA1 luminal breast tumors*. Cancer Res, 2009. **69**(2): p. 663-71.
34. Marsh, D.J., et al., *Mutation spectrum and genotype-phenotype analyses in Cowden disease and Bannayan-Zonana syndrome, two hamartoma*

- syndromes with germline PTEN mutation.* Hum Mol Genet, 1998. **7**(3): p. 507-15.
35. Natt, E., et al., *Regional assignment of the human loci for uvomorulin (UVO) and chymotrypsinogen B (CTRB) with the help of two overlapping deletions on the long arm of chromosome 16.* Cytogenet Cell Genet, 1989. **50**(2-3): p. 145-8.
 36. Cleton-Jansen, A.M., et al., *Loss of heterozygosity mapping at chromosome arm 16q in 712 breast tumors reveals factors that influence delineation of candidate regions.* Cancer Res, 2001. **61**(3): p. 1171-7.
 37. Cleton-Jansen, A.M., *E-cadherin and loss of heterozygosity at chromosome 16 in breast carcinogenesis: different genetic pathways in ductal and lobular breast cancer?* Breast Cancer Res, 2002. **4**(1): p. 5-8.
 38. Chaturvedi, P., et al., *Mammalian Chk2 is a downstream effector of the ATM-dependent DNA damage checkpoint pathway.* Oncogene, 1999. **18**(28): p. 4047-54.
 39. Chehab, N.H., et al., *Chk2/hCds1 functions as a DNA damage checkpoint in G(1) by stabilizing p53.* Genes Dev, 2000. **14**(3): p. 278-88.
 40. Consortium, C.B.C.C.-C., *CHEK2*1100delC and susceptibility to breast cancer: a collaborative analysis involving 10,860 breast cancer cases and 9,065 controls from 10 studies.* Am J Hum Genet, 2004. **74**(6): p. 1175-82.
 41. Luo, Z., M. Zang, and W. Guo, *AMPK as a metabolic tumor suppressor: control of metabolism and cell growth.* Future Oncol, 2010. **6**(3): p. 457-70.
 42. Buisson, R., et al., *Cooperation of breast cancer proteins PALB2 and piccolo BRCA2 in stimulating homologous recombination.* Nat Struct Mol Biol, 2010. **17**(10): p. 1247-54.
 43. Xia, B., et al., *Control of BRCA2 cellular and clinical functions by a nuclear partner, PALB2.* Mol Cell, 2006. **22**(6): p. 719-29.
 44. Thai, T.H., et al., *Mutations in the BRCA1-associated RING domain (BARD1) gene in primary breast, ovarian and uterine cancers.* Hum Mol Genet, 1998. **7**(2): p. 195-202.
 45. Westermarck, U.K., et al., *BARD1 participates with BRCA1 in homology-directed repair of chromosome breaks.* Mol Cell Biol, 2003. **23**(21): p. 7926-36.
 46. Menichini, P. and M. Linial, *SUVi and BACH1: a new subfamily of mammalian helicases?* Mutat Res, 2001. **487**(1-2): p. 67-71.
 47. Cantor, S.B., et al., *BACH1, a novel helicase-like protein, interacts directly with BRCA1 and contributes to its DNA repair function.* Cell, 2001. **105**(1): p. 149-60.
 48. Hall, J.M., et al., *Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21.* Science, 1990. **250**(4988): p. 1684-9.
 49. Miki, Y., et al., *A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1.* Science, 1994. **266**(5182): p. 66-71.
 50. Oliveira, A.M., J.S. Ross, and J.A. Fletcher, *Tumor suppressor genes in breast cancer: the gatekeepers and the caretakers.* Am J Clin Pathol, 2005. **124 Suppl**: p. S16-28.
 51. Chen, A., et al., *Autoubiquitination of the BRCA1*BARD1 RING ubiquitin ligase.* J Biol Chem, 2002. **277**(24): p. 22085-92.

52. Chapman, M.S. and I.M. Verma, *Transcriptional activation by BRCA1*. Nature, 1996. **382**(6593): p. 678-9.
53. Lixia, M., et al., *Alternative splicing of breast cancer associated gene BRCA1 from breast cancer cell line*. J Biochem Mol Biol, 2007. **40**(1): p. 15-21.
54. Li, M.L. and R.A. Greenberg, *Links between genome integrity and BRCA1 tumor suppression*. Trends Biochem Sci, 2012. **37**(10): p. 418-24.
55. Bertwistle, D. and A. Ashworth, *The pathology of familial breast cancer: How do the functions of BRCA1 and BRCA2 relate to breast tumour pathology?* Breast Cancer Res, 1999. **1**(1): p. 41-7.
56. Wooster, R., et al., *Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2*. Nature, 1995. **378**(6559): p. 789-92.
57. Bork, P., N. Blomberg, and M. Nilges, *Internal repeats in the BRCA2 protein sequence*. Nat Genet, 1996. **13**(1): p. 22-3.
58. Chen, P.L., et al., *The BRC repeats in BRCA2 are critical for RAD51 binding and resistance to methyl methanesulfonate treatment*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998. **95**(9): p. 5287-92.
59. Mizuta, R., et al., *RAB22 and RAB163/mouse BRCA2: proteins that specifically interact with the RAD51 protein*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1997. **94**(13): p. 6927-32.
60. Davies, O.R. and L. Pellegrini, *Interaction with the BRCA2 C terminus protects RAD51-DNA filaments from disassembly by BRC repeats*. Nat Struct Mol Biol, 2007. **14**(6): p. 475-83.
61. Sinn, H.P. and H. Kreipe, *A Brief Overview of the WHO Classification of Breast Tumors, 4th Edition, Focusing on Issues and Updates from the 3rd Edition*. Breast Care (Basel), 2013. **8**(2): p. 149-54.
62. Breast Cancer, NCCN Practise Guidelines in Oncology-, 2008. **v.2**.
63. Leitner, S.P., et al., *Predictors of recurrence for patients with small (one centimeter or less) localized breast cancer (T1a,b N0 M0)*. Cancer, 1995. **76**(11): p. 2266-74.
64. Clayton, F. and C.L. Hopkins, *Pathologic correlates of prognosis in lymph node-positive breast carcinomas*. Cancer, 1993. **71**(5): p. 1780-90.
65. Rose, D.P. and R. Royak-Schaler, *Tumor biology and prognosis in black breast cancer patients: a review*. Cancer Detect Prev, 2001. **25**(1): p. 16-31.
66. Demark-Wahnefried, W., B.K. Rimer, and E.P. Winer, *Weight gain in women diagnosed with breast cancer*. J Am Diet Assoc, 1997. **97**(5): p. 519-26, 529; quiz 527-8.
67. Kumar, N.B., et al., *Timing of weight gain and breast cancer risk*. Cancer, 1995. **76**(2): p. 243-9.
68. Reed, W., et al., *The prognostic impact of hormone receptors and c-erbB-2 in pregnancy-associated breast cancer and their correlation with BRCA1 and cell cycle modulators*. Int J Surg Pathol, 2003. **11**(2): p. 65-74.
69. Romieu, I., J.A. Berlin, and G. Colditz, *Oral contraceptives and breast cancer. Review and meta-analysis*. Cancer, 1990. **66**(11): p. 2253-63.
70. Topuz, E., *Meme Kanseri*. 1997.(Birinci Baskı.).
71. Carter, C.L., C. Allen, and D.E. Henson, *Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases*. Cancer, 1989. **63**(1): p. 181-7.

72. Rosen, P.P., et al., *Prognosis in stage II (T1N1M0) breast cancer*. Ann Surg, 1981. **194**(5): p. 576-84.
73. Thor, A., *A revised staging system for breast cancer*. Breast J, 2004. **10 Suppl 1**: p. S15-8.
74. Zhang, T., X. Tu, and W. Xu, [A study of prognostic factors in breast cancer: histological grading]. Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi, 1998. **27**(6): p. 405-7.
75. Page, D.L., I.O. Ellis, and C.W. Elston, *Histologic grading of breast cancer. Let's do it*. Am J Clin Pathol, 1995. **103**(2): p. 123-4.
76. PP, R., *Rosen's Breast Pathology*. 2009. **third ed**(Chapter 12): p. 358-405.
77. Donegan, W.L., *Tumor-related prognostic factors for breast cancer*. CA Cancer J Clin, 1997. **47**(1): p. 28-51.
78. Dowlatshahi, K., et al., *Lymph node micrometastases from breast carcinoma: reviewing the dilemma*. Cancer, 1997. **80**(7): p. 1188-97.
79. Gasparini, G., et al., *Determination of angiogenesis adds information to estrogen receptor status in predicting the efficacy of adjuvant tamoxifen in node-positive breast cancer patients*. Clin Cancer Res, 1996. **2**(7): p. 1191-8.
80. Jeng, M.H., et al., *Estrogen receptor expression and function in long-term estrogen-deprived human breast cancer cells*. Endocrinology, 1998. **139**(10): p. 4164-74.
81. Walker, R.A., *Oestrogen receptor and its potential role in breast cancer development*. J Pathol, 1999. **188**(3): p. 229-30.
82. Millis RR, H.A., Oberman HA, , *The Breast In Sternberg SS , Diagnostic Surgical Pathology*, . 1999. **Third edition**: p. 319–379.
83. MG., P., *Nuclear Hormone Receptors*. 1991.
84. Kuenen-Boumeester, V., et al., *Immunohistochemical determination of androgen receptors in relation to oestrogen and progesterone receptors in female breast cancer*. Int J Cancer, 1992. **52**(4): p. 581-4.
85. Bryan, R.M., et al., *Androgen receptors in breast cancer*. Cancer, 1984. **54**(11): p. 2436-40.
86. Brouillet, J.P., et al., *Cathepsin D assay in primary breast cancer and lymph nodes: relationship with c-myc, c-erb-B-2 and int-2 oncogene amplification and node invasiveness*. Eur J Cancer, 1990. **26**(4): p. 437-41.
87. Hanna, W., *Testing for HER2 status*. Oncology, 2001. **61 Suppl 2**: p. 22-30.
88. Muss, H.B., et al., *c-erbB-2 expression and response to adjuvant therapy in women with node-positive early breast cancer*. N Engl J Med, 1994. **330**(18): p. 1260-6.
89. Darendeliler E, A.F.I.T.E., Aydiner A, Dinçer M (eds.) *Meme kanserinin epidemiyolojisi ve etyolojisi*. 2003. **Meme kanseri.1. baskı.**: p. .13-33.
90. Rosen, E.M., et al., *BRCA1 gene in breast cancer*. J Cell Physiol, 2003. **196**(1): p. 19-41.
91. Yu, J.H., et al., *Characteristics of BRCA1/2 Mutation-Positive Breast Cancers in Korea: A Comparison Study Based on Multicenter Data and the Korean Breast Cancer Registry*. J Breast Cancer, 2014. **17**(2): p. 129-35.
92. Scully, R. and D.M. Livingston, *In search of the tumour-suppressor functions of BRCA1 and BRCA2*. Nature, 2000. **408**(6811): p. 429-32.
93. Venkitaraman, A.R., *Cancer susceptibility and the functions of BRCA1 and BRCA2*. Cell, 2002. **108**(2): p. 171-82.

94. Cazzola, M. and R.C. Skoda, *Translational pathophysiology: a novel molecular mechanism of human disease*. Blood, 2000. **95**(11): p. 3280-8.
95. Seal, S., et al., *Truncating mutations in the Fanconi anemia J gene BRIP1 are low-penetrance breast cancer susceptibility alleles*. Nat Genet, 2006. **38**(11): p. 1239-41.
96. Walsh, T., et al., *Mutations in 12 genes for inherited ovarian, fallopian tube, and peritoneal carcinoma identified by massively parallel sequencing*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011. **108**(44): p. 18032-7.
97. Schroeder, C., et al., *High-throughput resequencing in the diagnosis of BRCA1/2 mutations using oligonucleotide resequencing microarrays*. Breast Cancer Res Treat, 2010. **122**(1): p. 287-97.
98. Sevilla, C., et al., *Testing for BRCA1 mutations: a cost-effectiveness analysis*. Eur J Hum Genet, 2002. **10**(10): p. 599-606.
99. Gibson, U.E., C.A. Heid, and P.M. Williams, *A novel method for real time quantitative RT-PCR*. Genome Res, 1996. **6**(10): p. 995-1001.
100. Bustin, S.A., *Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays*. J Mol Endocrinol, 2000. **25**(2): p. 169-93.
101. Kubista, M., et al., *The real-time polymerase chain reaction*. Mol Aspects Med, 2006. **27**(2-3): p. 95-125.
102. Chaplin BE, R.R., Bernard PS, Wittwer CT., *LightCyclerTM hybridization probes the most direct way to monitor PCR amplification and mutation detection*. 1999. **1**: p. 5-8.
103. Wittwer, C.T., et al., *Continuous fluorescence monitoring of rapid cycle DNA amplification*. Biotechniques, 1997. **22**(1): p. 130-1, 134-8.
104. Roa, B.B., et al., *Ashkenazi Jewish population frequencies for common mutations in BRCA1 and BRCA2*. Nat Genet, 1996. **14**(2): p. 185-7.
105. Johannsdottir, G., et al., *High prevalence of the 999del5 mutation in icelandic breast and ovarian cancer patients*. Cancer Res, 1996. **56**(16): p. 3663-5.
106. Yazici, H., et al., *BRCA1 and BRCA2 mutations in Turkish breast/ovarian families and young breast cancer patients*. Br J Cancer, 2000. **83**(6): p. 737-42.
107. Manguoglu, A.E., et al., *Germline mutations in the BRCA1 and BRCA2 genes in Turkish breast/ovarian cancer patients*. Hum Mutat, 2003. **21**(4): p. 444-5.
108. Hall, M.J., et al., *BRCA1 and BRCA2 mutations in women of different ethnicities undergoing testing for hereditary breast-ovarian cancer*. Cancer, 2009. **115**(10): p. 2222-33.
109. Purcu DU, K.B., Kapkaç M, Özdemir N, Uzunoğlu S, Uslu R. , *High-Resolution Melting Analysis for Screening of Turkish Germline Mutations in BRCA1 and BRCA2*. Br J Cancer, 2000(83): p. 737 – 742.