T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

İDİYOPATİK GRANÜLOMATÖZ MASTİT VE MEME KANSERİNİN AYIRICI TANI VE PROGNOZUNDA NON-İNVAZİV BİYOBELİRTEÇ OLARAK DOLAŞIMDAKİ MİKRORNA-155, LET-7C, MİKRORNA-21 DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

HÜLYA AKSAN

DANIŞMAN
PROF.DR.HAFİZE UZUN

MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI
MOLEKÜLER TIP PROGRAMI

İSTANBUL-2019

TEZ ONAYI

DOKTORA TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İ.Ü. Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı, Moleküler Tıp Programında Doktora öğrencisi **Hülya AKSAN** tarafından **Prof. Dr. Hafize UZUN**'un danışmanlığında hazırlanan "**İdiyopatik Granülomatöz Mastit ve Meme Kanserinin Ayrıcı Tanı ve Prognozunda Non-İnvaziv Biyobelirteç Olarak Dolaşımdaki MikroRNA-155,let-7c, MikroRNA-21 Düzeylerinin Belirlenmesi**" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 26/11/2019 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı
Prof. Dr. Hüsnü YAYLIM
İ.Ü.Aziz Sancar DETAE
Moleküler Tıp Anabilim Dalı

Jüri (Danışman)
Prof. Dr Hafize UZUN
İ.Ü. Cerrahpaşa CTF Tıbbi
Biyokimya A.D.

Jüri
Prof. Dr. Ş. Ümit ZEYBEK
İ.Ü.Aziz Sancar DETAE
Moleküler Tıp Anabilim Dalı

Jüri
Prof. Dr. Remise GELİŞGEN
İ.Ü. Cerrahpaşa CTF Tıbbi
Biyokimya A.D.

Jüri
Dr. Öğr. Üyesi Müjdat AYTEKİN
Haliç Ün. Tıp Fak. Tıbbi
Biyokimya A.D.

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

HÜLYA AKSAN

İTHAF

Aileme ve eşim Kamil AKSAN'a ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı Başkanı çok kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. İlhan Yaylım'a,

Doktora eğitimim süresinde danışmanlığımı üstlenen, bilgi ve tecrübesinden yararlandığım, tezimin hazırlanmasında büyük bir özveri ve katkıda bulunan değerli hocam İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Hafize Uzun'a,

Tezimin örneklerinin toplanmasında sağladığı desteklerden dolayı İ.Ü-Cerrahpaşa CTF Genel Cerrahi Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Mehmet Velidedeoğlu'na, Öğr. Gör. Berrin Papila Kundaktepe 'ye, tüm asistan ve hemşirelere,

Birlikte çalışmaktan keyif duyduğum başta Haliç Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanı Sayın Prof. Dr. Ahmet Feridun Vural hocama, Tıp Fakültesi öğretim üyeleri ve Araştırma Görevlisi arkadaşlarıma,

Güzel ve eğlenceli bir doktora eğitim süreci geçirdiğim sevgili dönem arkadaşlarıma,

Her zaman eğitimim konusunda beni destekleyen sevgili aileme ve son olarak hayatımın her aşamasında yanımda olan ve doktora eğitimim süresince desteğini hiç esirgemeyen sevgili eşim Kamil Aksan'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. **Proje No: 29871**

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI ..... İİ
BEYAN ..... İİİ
İTHAF ..... İV
TEŞEKKÜR V
İÇİNDEKİLER ..... Vİ
TABLOLAR LİSTESİ ..... Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ ..... Xİİ
ÖZET XV
ABSTRACT ..... XVİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 4
2.1. MEME KANSERİ 4
2.1.1. Epidemiyoloji 4
2.1.2. Etiyoloji ve Risk Faktörleri 6
2.1.3. Meme Kanserinde Genetik Faktörler 8
2.1.4. Meme Kanserinin Sınıflandırılması 10
2.1.4.1. Histolojik Sınıflandırma 10
2.1.4.2. Meme Kanserinin TNM Sınıflandırılması 11
2.1.4.3. Moleküler Sınıflandırma 14
2.1.4.4. Meme Kanserinde Prognostik ve Prediktif Faktörler 16
2.2. İDİYOPATİK GRANÜLOMATÖZ MASTİT (İGM) 18
2.2.1. Etiyoloji 20
2.2.2. İdiyopatik Granülomatöz Mastitte Klinik Tanı 22
2.3. MİKRORNA'LAR 25
2.3.1. MikroRNA'ların Oluşumu 26
2.3.2. MikroRNA'lar ve Hastalıklar 28
2.3.3. MikroRNA'lar ve Kanser 30
2.3.3.1. MikroRNA'lar ve Meme Kanseri 32
2.3.4. MikroRNA-155 35

2.3.5. Let-7c 37
2.3.6. MikroRNA-21 38
2.3.7. Fosfataz ve Tensin Homoloğu (PTEN) 40
3. GEREÇ VE YÖNTEM 43
3.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Toplanması 43
3.1.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Özellikleri 43
3.1.2. Örnek Toplama ve Analizlenen Parametreler 44
3.2. Kullanılan Araçlar ve Cihazlar 44
3.3. Fosfataz ve tensin homoloğu (PTEN) düzeylerinin ölçümü 45
3.4. MikroRNA Analizi 47
3.4.1. MikroRNA İzolasyonu 47
3.4.2. RNA miktar tayini 50
3.4.3. Komplementer DNA (cDNA) sentezlenmesi 50
3.4.4. Real-Time PCR ile mikroRNA ekspresyon analizleri 51
3.5. Sonuçların değerlendirilmesi ve istatistiksel analizi 53
4. BULGULAR 55
5. TARTIŞMA 74
KAYNAKLAR 81
FORMLAR 96
ETİK KURUL KARARI 98
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI 100
ÖZGEÇMİŞ 101

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Meme kanseri sınıflandırması 10

Tablo 2-2: Primer tümörün tanımı (T) -klinik (cT) ve patolojik (pT) 11

Tablo 2-3: Bölgesel lenf nodlarının tanımı - klinik (cN) ve patolojik (pN) 12

Tablo 2-4: Uzak metastaz (M) tanımı 13

Tablo 2-5: Meme kanserinde TNM evrelemesi 13

Tablo 2-6: Meme kanseri moleküler alt tipleri 14

Tablo 2-7: Meme kanserinde prognostik faktörler 16

Tablo 2-8: Mastit sınıflandırması 18

Tablo 2-9: Memede granülomatöz enflamatuvar reaksiyonun nedenleri 19

Tablo 2-10: MiRNA'lar ve meme kanseri hücrelerindeki hedefleri- O'Day (2010) 33

Tablo 3-1: cDNA sentezi için reaksiyon karışımı 51

Tablo 3-2: MikroRNA'lara özgü qRT-PCR'da kullanılan primer dizileri 52

Tablo 3-3: Real-Time PCR reaksiyon karışımı 52

Tablo 4-1: Meme kanseri, İGM ve kontrol gruplarının demografik özellikleri ve laboratuvar bulguları 55

Tablo 4-2: Meme kanseri grubunun klinikopatolojik özellikleri 56

Tablo 4-3: Meme kanseri, İGM ve kontrol gruplarının miRNA ortalama CT değerleri 58

Tablo 4-4: Meme kanseri, İGM ve kontrol gruplarının miRNA ortalama ΔCT değerleri 58

Tablo 4-5: Meme kanseri, İGM ve kontrol gruplarının miRNA ortalama $2^{-\Delta CT}$ değerleri 59

Tablo 4-6: Meme kanseri ve İGM gruplarında kontrole göre düzenlenmiş miR-155, let-7c ve miR-21'in kat değişimleri 59

Tablo 4-7: Meme kanserinde İGM'e göre düzenlenmiş miR-155, let-7c ve miR-21'in kat değişimleri 62

Tablo 4-8: Meme kanseri ve kontrol grubunun ayırıcı tanısında serum miR-21 ekspresyon düzeylerinin duyarlılık ve özgüllük Değerleri 64

Tablo 4-9: Meme kanseri ve kontrol grubunun ayırıcı tanısında serum miR-155, let-7c ve PTEN düzeylerinin duyarlılık ve özgüllük değerleri 65

Tablo 4-10: İGM ve kontrol grubunun ayırıcı tanısında serum miR-21 ekspresyonunun duyarlılık ve özgüllük değerleri 66

Tablo 4-11: İGM ve kontrol grubunun ayırıcı tanısında serum miR-155, let-7c ve PTEN düzeylerinin duyarlılık ve özgüllük değerleri 67

Tablo 4-12: İGM ve meme kanseri grubunun ayırıcı tanısında serum miR-21, let-7c ve PTEN düzeylerinin duyarlılık ve özgüllük değerleri 68

Tablo 4-13: İGM ve meme kanseri grubunun ayırıcı tanısında serum miR-155 düzeylerinin duyarlılık ve özgüllük değerleri 69

Tablo 4-14: İnvaziv duktal karsinom ve mikst tipi meme kanserlerinin karşılaştırılması 70

Tablo 4-15: Östrojen reseptör durumunun meme kanseri grubunda karşılaştırılması.... 71

Tablo 4-16: Progesteron reseptör durumunun meme kanseri grubunda karşılaştırılması 71

Tablo 4-17: CerbB-2 reseptör durumunun meme kanseri grubunda karşılaştırılması.... 72

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Kadınlarda görülen kanser türleri, insidans ve mortalite oranları 4

Şekil 2-2: Meme kanserinin ülkelere göre insidans ve mortalite oranları 5

Şekil 2-3: Meme kanserinde genetik mutasyonların yüzde dağılımı 9

Şekil 2-4: Meme kanseri moleküler alt tiplerinin kliniğe yansıması 15

Şekil 2-5: MiRNA'ların oluşumu- Winter (2009)'dan değiştirilerek 26

Şekil 2-6: RISC yapısının hedef mRNA'ya bağlanması- Virtue (2012)'den değiştirilerek 28

Şekil 2-7: MikroRNA'lar ile hastalıklar arasındaki ilişkinin ısı haritası- Backes (2016) 29

Şekil 2-8: MiR-21 ve miR-155 'in çeşitli hastalıklarda ekpresyonu- Backes (2016) 30

Şekil 2-9: MiRNA oluşumundaki adımların değişmesi ile kanser oluşması- Bertoli (2015) den değiştirilerek 34

Şekil 2-10: MiR-155'in meme kanserindeki rolü- Hemmatzadeh (2016)'dan değiştirilerek 36

Şekil 2-11: Kanser hücrelerinde miR-21'in etkileşimleri-Selcuklu (2009)'dan değiştirilerek 39

Şekil 2-12: Sitoplazmik ve nükleer PTEN fonksiyonları- Milella (2015)'dan değiştirilerek 41

Şekil 3-1: PTEN absorbans- konsantrasyon grafiği 46

Şekil 3-2: MiRNA izolasyonunun şematik özeti (Macherey-Nagel, 2015) 48

Şekil 4-1: Meme kanseri, İGM ve kontrol gruplarında PTEN düzeylerinin karşılaştırılması 57

Şekil 4-2: Meme kanseri ve İGM gruplarında kontrole göre düzenlenmiş miR-155'in kat değişimi 60

Şekil 4-3: Meme kanseri ve İGM gruplarında kontrole göre düzenlenmiş let-7c'nin kat değişimi 61

Şekil 4-4: Meme kanseri ve İGM gruplarında kontrole göre düzenlenmiş miR-21'in kat değişimi 61

Şekil 4-5: Meme kanserinde İGM'e göre düzenlenmiş miR-155'in kat değişimi 62

Şekil 4-6: Meme kanserinde İGM'e göre düzenlenmiş let-7c'nin kat değişimi 63

Şekil 4-7: Meme kanserinde İGM'e göre düzenlenmiş miR-21'in kat değişimi 63

Şekil 4-8: Meme kanseri ve kontrol grubunun ayırıcı tanısında miR-21 düzeylerinin ROC eğrisi 64

Şekil 4-9: Meme kanseri ve kontrol grubunun ayırıcı tanısında serum miR-155, let-7c ve PTEN Düzeylerinin ROC eğrisi 65

Şekil 4-10: Meme kanseri ve kontrol grubunun ayırıcı tanısında serum miR-21 düzeylerinin ROC eğrisi 66

Şekil 4-11: İGM ve kontrol grubunun ayırıcı tanısında serum miR-155, let-7c ve PTEN düzeylerinin ROC eğrisi 67

Şekil 4-12: İGM ve meme kanseri grubunun ayırıcı tanısında serum miR-21, let-7c ve PTEN düzeylerinin ROC eğrisi 68

Şekil 4-13: İGM ve meme kanseri grubunun ayırıcı tanısında serum miR-155 düzeylerinin ROC eğrisi 69

Şekil 4-14: PTEN ve let-7c korelasyon grafiği 73

Şekil 4-15: PTEN ve miR-21 korelasyon grafiği 73

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

AAT	:	α_1-antitripsin eksikliği
AJCC	:	Amerikan Birleşik Kanser Komitesi (American Joint Committee on Cancer)
ALT	:	Alanin amino transferaz
ANA	:	Anti-nükleer antikor
AST	:	Aspartat amino transferaz
AUC	:	Eğri altında kalan alan (Area Under Curve)
Bcl-2	:	B hücreli lenfoma-2 (B-cell lymphoma-2)
BIC	:	B hücre integrasyon kümesi (B cell İntegration Cluster)
BRCA1	:	Meme Kanseri 1 (Breast Cancer 1)
BRCA2	:	Meme Kanseri 2 (Breast Cancer 2)
BTG2	:	B hücreli translokasyon geni 2
CA 125	:	Kanser antijeni 125
CA 15-3	:	Kanser antijeni 15-3
CA 19-9	:	Kanser antijeni 19-9
cDNA	:	komplementer DNA
CEA	:	Karsinoembriyojenik antijen
CRP	:	C-reaktif protein
Ct	:	Eşik döngüsü (Cycle Threshold)
DCIS	:	Duktal karsinoma in situ
DGCR8	:	DiGeorge sendromu kritik bölge 8
DNA	:	Deoksiribo nükleik asit
DROSHA	:	Ribonükleaz III
EMT	:	Epitelyal mezenkimal geçiş (Epithelial Mesenchymal Transition)
ER (-)	:	Östrojen reseptörü negatif
ER (+)	:	Östrojen reseptörü pozitif
FasL	:	FAS ligand
FBXO11	:	F-box protein 11
FNA	:	İnce iğne aspirasyon (Fine-needle aspiration)
GA	:	Güven Aralığı
GLOBOCAN	:	Global kanser dataları
GWAS	:	Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları
Hct	:	Hematokrit

HER2 (CerbB-2)	:	İnsan epidermal büyüme faktör reseptörü 2 (Human epidermal growth factor receptor 2)
Hb	:	Hemoglobin
HMDD	:	İnsan mikroRNA hastalık veritabanı (Human MicroRNA Disease Database)
HNSCC	:	Baş ve boyun skuamöz hücreli karsinoması
HRT	:	Hormon replasman tedavisi
IDC	:	İnvaziv duktal karsinom
IL-6	:	İnterlökin-6
INF-γ	:	İnterferon- γ
İGM	:	İdiyopatik granülomatöz mastit
KLL	:	Kronik lenfositik lösemi
LCIS	:	Lobüler karsinoma in situ
lncRNA	:	Uzun kodlamayan RNA (Long non-coding RNA)
miR-155	:	mikroRNA-155
miR-21	:	mikroRNA-21
miRNA (miR)	:	mikroRNA
MMAC1	:	Çoğul ileri kanser genindeki mutasyon-1 (Mutated in multiple advanced cancers-1)
MRG	:	Manyetik rezonans görüntüleme
mRNA	:	Haberci RNA
ncRNA	:	Kodlamayan RNA
OKS	:	Oral kontraseptifler
ORF	:	Açık okuma çerçevesi (open reading frame)
PCR	:	Polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
PDCD4	:	Programlanmış hücre ölümü proteini 4 (Programmed cell death protein 4)
PI3K	:	Fosfoinositid-3 Kinaz
piRNA	:	Piwi-etkileşimli RNA (Piwi-interacting RNA)
PLT	:	Trombosit
PR (-)	:	Progesteron reseptörü negatif
PR (+)	:	Progesteron reseptörü pozitif
pre-miRNA	:	Prekürsör mikroRNA
pri-miRNA	:	Primer mikroRNA
PTEN	:	Fosfataz ve tensin homologu

RISC	:	RNA-kaynaklı susturma kompleksi (RNA-induced silencing complex)
RNA	:	Ribonükleik asit
ROC	:	İşlem karakteristik eğrisi analizi (Reciever Operator Characteristics)
rRNA	:	Ribozomal RNA
RT-PCR	:	Gerçek zamanlı PCR (Real Time PCR)
siRNA	:	Küçük interferans yapan RNA (small interfering RNA)
snoRNA	:	Küçük nükleolar RNA (small nucleolar RNA)
snRNA	:	Küçük nükleer RNA (small nuclear RNA)
SOCS1	:	Sitokin sinyal baskılayıcısı 1 (Suppressor of cytokine signaling 1)
SPSS	:	İstatistik Programı (Statistical Package for the Social Sciences)
TARPB2	:	Trans-aktivasyon yanıt RNA bağlayıcı protein 2 (Trans-activation response RNA binding protein 2)
TIMP3	:	Metaloproteinaz inhibitörü 3
TNBC	:	Üçlü negatif meme kanseri (Triple-negative breast cancer)
TNM	:	Tümör-Nod-Metastaz
TP53	:	Tümör protein 53
TPM1	:	Tropomiyozin 1
tRNA	:	Transfer RNA
UICC	:	Uluslararası Kanser Savaş Örgütü (Union for International Cancer Control)
VKİ	:	Vücut Kitle İndeksi
WBC	:	Beyaz kan hücreleri (Lökosit)
WHO	:	Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organisation)
XPO5	:	Eksportin-5

ÖZET

Aksan, H. (2019). İdiyopatik Granülomatöz Mastit ve Meme Kanserinin Ayırıcı Tanı ve Prognozunda Non-invaziv Biyobelirteç Olarak Dolaşımdaki mikroRNA-155, let-7c, mikroRNA-21 Düzeylerinin Belirlenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

İdiyopatik granülomatöz mastit (İGM), klinik olarak meme kanserini taklit eden benign bir meme hastalığıdır. MikroRNA (miRNA)'lar kanser dâhil çeşitli hastalıkların gelişmesinde ve prognozunda önemli rol oynamaktadır. Son yıllardaki çalışmalarda miRNA'lar, hastalıkların tanısında biyobelirteç olarak önerilmektedir. Fosfataz ve tensin homoloğu (PTEN), hücre büyümesi, proliferasyon gibi birçok hücresel fonksiyonu düzenleyen tümör baskılayıcı bir gen olup miRNA'lar tarafından düzenlenmektedir. Bu tez çalışmasında İGM'li ve meme kanserli hastaların ayırıcı tanısında kullanılabilmek için dolaşımdaki miR-155, let-7c, miR-21 ve PTEN düzeylerinin belirlenerek değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya meme kanserli 45, İGM'li 50 hasta ve sağlıklı 48 gönüllü alındı. Serum miRNA düzeyleri RT-PCR, PTEN düzeyleri ELİSA ile ölçüldü. MiRNA'ların kat değişimleri $2^{-\Delta\Delta Ct}$ metodu ile hesaplandı. Serum miR-21 ekspresyon düzeyi meme kanseri (kat değişimi=2,42) ve İGM grubunda (kat değişimi=1,33) kontrole göre anlamlı yüksek bulundu ($p<0,001$). Serum miR-155 ve let-7c ekspresyonu ise her iki grupta kontrole göre anlamlı düşük bulundu ($p<0,001$). Meme kanserinde miR-21 ekspresyonu İGM'e göre (kat değişimi=1,976) anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,001$). PTEN düzeyleri meme kanserinde, İGM'e göre anlamlı yüksek ($p<0,001$); kontrol grubuna göre anlamlı düşük ($p<0,001$); İGM grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düşük ($p<0,001$) bulundu. Meme kanserinde PTEN ve miR-21 ekspresyon düzeyi arasında orta derecede negatif korelasyon bulundu ($r=-0,490$; $p<0,001$). Meme kanseri ve İGM'in ayırıcı tanısında ROC eğrisinde serum miR-21 (AUC=0,806; $p<0,001$) ve PTEN düzeyleri (AUC=0,877; $p<0,001$) istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Serum miR-21 ve PTEN düzeyleri, radyolojik verilere ilave olarak İGM'in meme kanserinden ayırt edilmesine yardımcı olabilecek non-invaziv biyobelirteçler olabilirler. Bu çalışmanın sonuçları İGM ve meme kanseri ayırıcı tanısında gelecekte bu konuda yapılacak çalışmalara öncülük edecektir.

Anahtar Kelimeler : Meme kanseri, idiyopatik granülomatöz mastit, İGM, mikroRNA-155, let-7c, mikroRNA-21, PTEN

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 29871

ABSTRACT

Aksan, H. (2019). Determination of Circulating microRNA-155, let-7c, microRNA-21 Levels as a Non-invasive Biomarker in Differential Diagnosis and Prognosis of Idiopathic Granulomatous Mastitis and Breast Cancer. Institute of Health Science, Department of Molecular Medicine. Doktora Tezi. İstanbul.

Idiopathic granulomatous mastitis (IGM) is a benign breast disease that clinically mimics breast cancer (BC). MicroRNAs (miRNAs) play important role in the development and prognosis of various diseases including cancer. In recent studies, miRNAs have been recommended as biomarkers in the diagnosis of diseases. Phosphatase and tensin homolog (PTEN) is a tumor suppressor gene that regulates many cellular functions such as cell growth, proliferation, and is regulated by miRNAs. In this study, it was aimed to determine and evaluate circulating miR-155, let-7c, miR-21 and PTEN levels in order to be used in differential diagnosis of patients with IGM and BC. 45 patients with BC, 50 patients with IGM and 48 healthy volunteers were included in the study. Serum miRNA levels were measured by RT-PCR and PTEN levels by ELISA. Fold changes of miRNAs were calculated by $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method. Serum miR-21 expression was significantly higher in BC (fold change=2.42) and IGM group (fold change=1.33) compared to control ($p<0.001$). Serum miR-155 and let-7c expression levels were significantly lower in both groups compared to the control group ($p<0.001$). MiR-21 expression in BC was significantly higher than IGM (fold change=1.976) ($p<0.001$). PTEN levels in BC were significantly higher than IGM ($p<0.001$); significantly lower than the control group ($p<0.001$); IGM group was significantly lower than control group ($p<0.001$). Moderate negative correlation was found between PTEN and miR-21 expression level in BC ($r=-0.490;p<0.001$). In the differential diagnosis of BC and IGM, serum miR-21 ($AUC=0.806;p<0.001$) and PTEN ($AUC=0.877;p<0.001$) levels were found to be statistically significant. In addition to radiological data, serum miR-21 and PTEN levels may be non-invasive biomarkers that can help differentiate IGM from BC. The results of the study will lead to future studies in the differential diagnosis of IGM and BC.

Key Words: Breast cancer, idiopathic granulomatous mastitis, IGM, microRNA-155, let-7c, microRNA-21, PTEN

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 29871

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri, her yıl 2,1 milyon kadını etkileyen dünyadaki en yaygın malign hastalıklardan biridir (WHO 2018). Geçen yıl meme kanseri vaka sayısı 2 milyon sınırını geçmiş, yaklaşık 620 bin kadın meme kanserinden hayatını kaybetmiştir (GLOBOCAN 2018). Meme kanseri için kadın olmak başta risk faktörü iken; yaş, aile öyküsü, obezite, hormonlar, radyasyon ve genetik faktörler gibi birçok risk faktörü vardır (Jorgensen ve ark. 2017; Sestak ve ark. 2012).

İdiyopatik granülomatöz mastit (İGM), nadir görülen klinik ve radyolojik olarak meme kanserini taklit eden enflamatuvar meme hastalığıdır (Benson ve Dumitru 2016). İlk olarak 1972 yılında Kessler ve Wolloch (Kessler ve Wolloch 1972) tarafından tanımlanmış olan İGM'in etiyolojisi tam olarak bilinmemektedir (Lei ve ark. 2017). İGM, ilk olarak hassas bir meme kitlesi ile ortaya çıkar; daha sonra memedeki kitleye ek olarak iltihaplanma, hassasiyet, lokal ağrı, ateş, galaktore, apse ve fistül gözlenir (Diesing ve ark. 2004). Apse her iki memede de ortaya çıkabilir ve hassas bir meme kitlesine, cilt ülserlerine ve meme kanserinin klinik semptomlarına yol açabilir. Akut enflamasyon belirtileri gösterebilir ve tekrarlama olasılığı çok yüksektir. Bu enflamatuvar durumun kesin nedeni bilinmemekle birlikte, hastalık önceden oral kontraseptif kullanım, gebelik öyküsü ve emzirme ile ilişkilendirilmiş olup tedavisi halen tartışmalıdır (Oran ve ark. 2013). Bu gibi durumlarda meme kanseri ile mastit sıklıkla karıştırılır. Erken ve doğru tanı, uygun bir tedavi ve kanser tedavisini geciktirmemek adına çok önemlidir (Korkut ve ark. 2015). Kesin tanı histopatolojik inceleme ile diğer granülomatöz mastit yapan nedenlerin dışlanmasından sonra konur.

Meme kanserinin etkin yönetimi, erken tanı ve hastaların tedaviye yanıtının doğru bir şekilde izlenmesine bağlıdır. Bununla birlikte, erken tanı ve hastalık izleme için duyarlı ve özgül biyolojik belirteçlerin olmaması nedeniyle bu hedeflere ulaşmak zordur. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, meme kanseri tanısında, prognozda ve kanser tedavisine yanıtın izlenmesinde DNA, mRNA ve mikroRNA (miRNA) gibi periferik kan dolaşımındaki nükleik asitlerin potansiyel kullanımı bildirilmiştir. MiRNA'ların izole edilmesinin kolaylığı ve yapısal stabilitesi göz önüne alındığında, gelecekte biyobelirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir (Hamam ve ark. 2017).

MiRNA'lar, yaklaşık 20-23 nükleotit uzunluğunda, tek zincirli, endojen, protein kodlaması yapmayan bir RNA grubudur. MiRNAlar, normal-fizyolojik koşullarda ve patolojik durumlarda kritik öneme sahip olup gen ekspresyonunun anahtar düzenleyicisidirler (Baek ve ark. 2008). MiRNA'lar hücresel farklılaşma, proliferasyon, apoptoz, anjiyogenez, immunite ve kardiyovasküler gelişim gibi birçok hücresel ve biyolojik olaylarda rol oynamaktadır (Selbach ve ark. 2008). MiRNA'ların disregülasyonu, miyokard enfarktüsü ve kardiyovasküler hastalıklar (Eulalio ve ark. 2012; Quiat ve Olson 2013), diyabet, obezite (Cao ve ark. 2009; Dehwah ve ark. 2012; Hilton ve ark. 2013) ve kanser (Croce 2009) gibi birçok hastalığa bağlıdır. Kanserde miRNA'lar gen tedavisinde özgül hedefler olarak seçilebilir ve ayrıca miRNA ekspresyonu tümör tanısında, prognozun değerlendirilmesinde ve tedaviye yanıtın izlenmesinde moleküler biyobelirteç olarak kullanılabilir. Son yıllarda yapılan araştırmalarda prostat, meme, kolon, akciğer gibi birçok kanser tipinde miRNA'ların serum ekspresyon düzeyinin kanser tipine göre değişkenlik göstermesiyle hastalıkların tanısının erken dönemde konulup tedavisine başlanabileceği ve prognoz konusunda da önemli bilgiler elde edilebileceği öngörülmüştür (Bushati ve Cohen 2007).

MiR-155, hücre büyümesi ve hayatta kalma ile ilişkili çoklu sinyal yolaklarını düzenleyen onkojenik bir miRNA'dır (Faraoni ve ark. 2009). DNA onarımı ve hücre döngüsü progresyonu ile ilgili olan insan meme kanseri yatkınlık geni *BRCA1*'i hedef alır (O'Donovan ve Livingston 2010). MiR-155, meme kanseri dâhil birçok malignitede aşırı eksprese edildiği gösterilmiştir (Iorio ve ark. 2005).

Let-7 ekspresyonu, akciğer kanseri, mide kanseri, kolon kanseri ve meme lanseri dâhil olmak üzere birçok kanser türünde down-regüle edilir. Meme kanserinde hastalığın ilerlemesinin erken bir aşamasında kaybolur (Singh ve Mo 2013). Li ve ark., kanser dokusuna komşu kontrol dokusu ile meme kanseri dokusunda let-7c'nin ekspresyonunu değerlendirmişler ve meme kanserinde let-7c'nin önemli ölçüde down-regüle olduğunu bildirmişlerdir (Li ve ark. 2015).

MiR-21, birkaç tümör baskılayıcı geni inhibe ederek hücre büyümesi, invazyonu, migrasyonu ve tümör metastazını arttıran onkojenik miRNA'dır. MiR-21, akciğer kanseri, prostat kanseri, pankreas endokrin tümörleri, hepatoselüler karsinom, glioblastoma, meme kanseri ve mide karsinomları gibi çeşitli solid tümörlerde up-regüle olduğu gösterilmiştir (Pfeffer ve ark. 2015). MiR-21 meme kanserinde en fazla ifade

edilen miRNA'lardan biridir ve up-regülasyonu tümör progresyonu ve kötü prognoz ile ilişkilidir (Frankel ve ark. 2008; Zhu ve ark. 2007). Wang ve ark., çeşitli miRNA'ların normal dokulara kıyasla tümör numunelerinde azalmasına karşın, miR-21, ve miR-155 düzeylerinin up-regüle olduğunu bildirmişlerdir. Aynı şekilde, dolaşımdaki miR-21 ve miR-155 seviyelerini histolojik tümör derecesi ve östrojen reseptörü ekspresyonu ile ilişkili bulmuşlardır (Wang ve ark. 2010).

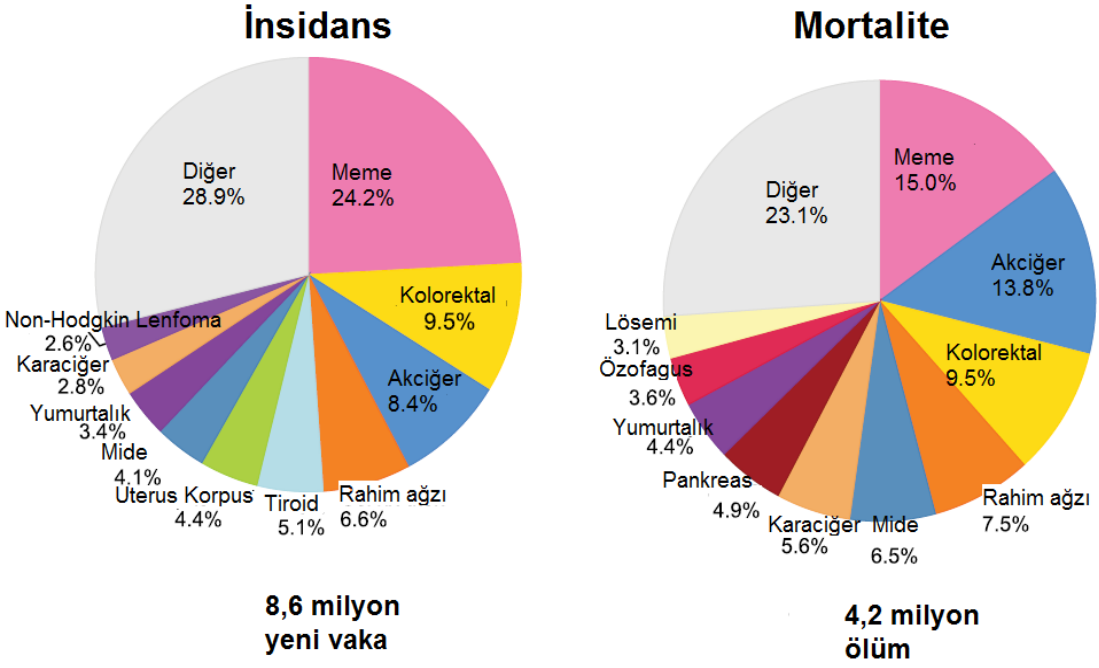
Protein tirozin fosfataz ve tensin homologu (PTEN), hücre büyümesi, proliferasyon ve hücre göçü gibi birçok hücresel fonksiyonu düzenleyen tümör baskılayıcı bir gendir (Milella ve ark. 2015). PTEN, kanser, nörogelişimsel bozukluklar, kardiyovasküler disfonksiyon ve benzeri birçok hastalığın patogenezinde, hücre içi sinyal yolu, özellikle PI3K/Akt'ı tetikleyerek önemli rol oynar. Bu nedenle, PTEN, çeşitli hastalıklar için bir biyobelirteç olabilir ve PTEN'in anormal ekspresyon seviyesini hedef almanın, yeni terapötik yollar sunması beklenebilir. Son zamanlarda, kodlamayan RNA'ların (ncRNA'lar) protein ekspresyonunu düzenlediği bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda PTEN ekspresyonunun epigenetik veya post-transkripsiyonel olarak ncRNA'lar tarafından kontrol edildiği bulunmuştur (Li ve ark. 2018). Kodlamayan RNA'lardan miRNA'lar, birçok tümörde PTEN ekspresyonunun düzenlenmesine katkıda bulunur. Kanserde en sık artan regüle edilmiş miRNA'lardan biri olan onkojenik miR-21'in, meme, over ve akciğer kanseri de dâhil olmak üzere çeşitli kanserlerde PTEN'i doğrudan hedeflediği ve protein ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir (Meng ve ark. 2007; Zhang ve ark. 2010).

İGM'nin meme kanseriyle ayırıcı tanısının klinik olarak yapılamaması, invaziv olmayan yöntemlerin, moleküllerin araştırılmasına yol açmıştır. Yapılan literatür taramasında İGM ve meme kanserinin ayırıcı tanısı ile ilgili moleküler düzeyde yapılan çalışma çok azdır. Aynı şekilde literatür taramasına göre günümüzde İGM 'li hastalarda dolaşımdaki miRNA düzeyine bakılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu tez çalışmasında hem İGM'li hastaların kontrollerden hem de meme kanserli hastalardan ayırıcı tanısında kullanılabilmesi için dolaşımdaki miR-155, let-7c, miR-21 ve PTEN düzeylerinin belirlenerek değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışma literatürde ilk defa İGM ve meme kanserinin ayırıcı tanı ve prognozunda non-invaziv biyobelirteç olarak dolaşımdaki miRNA düzeyinin belirlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. MEME KANSERİ

Meme kanseri, kadınlarda en sık görülen kanser olup her yıl 2,1 milyon kadını etkilemektedir (WHO 2018). Kadınlarda kansere bağlı ölümlerin büyük bir çoğunluğu meme kanserinden kaynaklanmaktadır (Siegel ve ark. 2017).

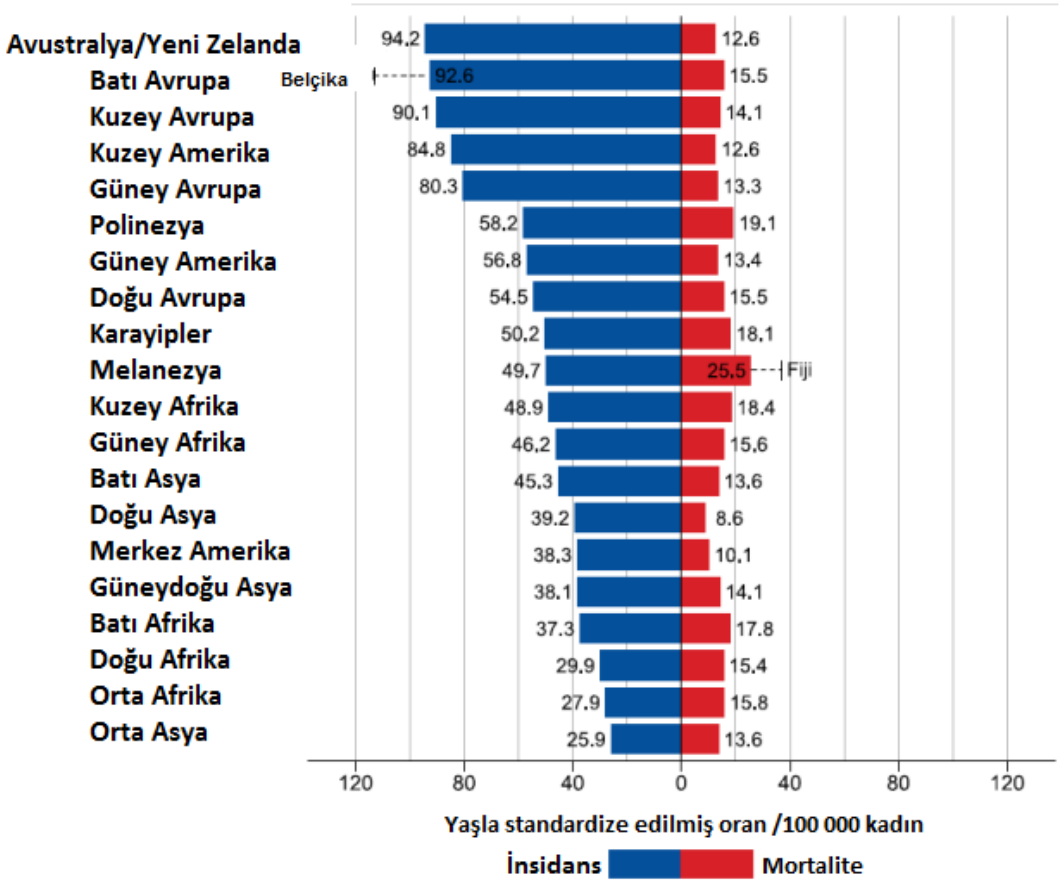


Şekil 2-1: Kadınlarda görülen kanser türleri, insidans ve mortalite oranları

2.1.1. Epidemiyoloji

Dünyada meme kanseri vaka sayısı her geçen artmaktadır. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı online veri tabanı GLOBOCAN 2018 verilerine göre meme kanseri kadınlarda görülen tüm kanser türlerinin %24,2'sini oluşturmaktır (Şekil 2.1). Geçen yılda meme kanseri vaka sayısı 2 milyon sınırını geçmiş, yaklaşık 620 bin kadın meme kanserinden hayatını kaybetmiştir. Meme kanseri kaynaklı ölüm, kadınlar arasındaki tüm kanser ölümlerinin yaklaşık %15'ini oluşturmaktadır (GLOBOCAN 2018). Meme kanseri görülme oranları daha gelişmiş bölgelerdeki kadınlar arasında daha yüksek olmakla birlikte, küresel olarak hemen hemen her bölgede oranlar artmaktadır (WHO 2018).

Meme kanseri, ülkelerin büyük çoğunluğunda (185 ülkeden 154'ünde) en sık görülen kanserdir ve 100'den fazla ülkede kanser ölümünün önde gelen nedenidir. Meme kanseri görülme sıklığı, Avustralya/ Yeni Zelanda, Kuzey Avrupa (örneğin İngiltere, İsveç, Finlandiya ve Danimarka), Batı Avrupa (en yüksek oranlara sahip Belçika, Hollanda ve Fransa), Güney Avrupa (İtalya) ve Kuzey Amerika 'da en yüksektir (Bray ve ark. 2018).



Şekil 2-2: Meme kanserinin ülkelere göre insidans ve mortalite oranları

Türkiye'de 2015 yılında yapılan istatistik çalışmasında (Türkiye Kanser İstatistikleri, 2015) dünyadaki oranlara benzer şekilde meme kanserinin kadınlarda en sık görülen kanser olduğu ve tanı konulan her dört kadın kanserinden birinin meme kanseri olduğu bildirilmiştir (Kara ve ark. 2018).

Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre, 2030 yılında meme kanseri vaka sayısı 2,5 milyona ulaşacağı, meme kanserinden kaynaklı 800 bin ölüm gerçekleşeceği tahmin edilmektedir (GLOBOCAN 2018).

2.1.2. Etiyoloji ve Risk Faktörleri

Meme kanserinin belirli bir etiyolojisi olmamakla birlikte multifaktöryel bir hastalıktır. Başta kadın olmak meme kanseri için risk faktörü olup; yaş , genetik, aile öyküsü, *BRCA1* (Breast Cancer Susceptibility Gene- meme kanserine yatkınlık geni) ve *BRCA2* mutasyonları, hormonlar, yanlış beslenme tarzı , haraketsiz yaşam, radyasyon, menapoz ve menarş yaşı gibi birçok etken meme kanseri ile ilişkilidir (Jorgensen ve ark. 2017; Sestak ve ark. 2012).

Yaş

Cinsiyetin yanı sıra, yaşlanma meme kanserinin en önemli risk faktörlerinden biridir, çünkü meme kanseri insidansı artan yaşla yakından ilgilidir (Sun ve ark. 2017). 2016 yılında, Amerika'da meme kanseri ile ilişkili tüm ölümlerin yaklaşık %99,3'ü ve %71,2'si sırasıyla 40 ve 60 yaş üstü kadınlarda rapor edilmiştir (Siegel ve ark. 2017). Bu nedenle, 40 ve üstü yaş kadınların erken tanı için her sene mamografi taraması yaptırması önerilir.

Menapoz ve Menarş Yaşı (Üreme Faktörü)

Erken menarş, geç menapoz, ilk gebeliğin geç yaşta olması ve düşük parite gibi üreme faktörleri meme kanseri riskini arttırabilir (Winters ve ark. 2017). Her bir yıllık menarş gecikmesi meme kanseri riskini %5 azaltır. Menapozda her bir yıllık gecikme meme kanseri riskini %3 arttırır (Sun ve ark. 2017). Nulliparite yani hiç doğurmamış olmak ve ilk doğurma yaşı 35'in üstünde olmak meme kanseri görülme riskini artırırken; erken yaşta ve çokca gebelik geçiren kadınlarda bu riskin azaldığı bildirilmiştir (Key ve ark. 2001).

Aile Öyküsü

Tüm meme kanseri vakalarının yaklaşık dörtte biri aile öyküsü ile ilgilidir. Annesi veya kız kardeşi meme kanseri olan kadınlar bu hastalığa daha yatkındır (Brewer ve ark. 2017). Meme kanseri gelişme riski, birinci derece akrabası (anne, kız kardeş veya kız) meme kanseri geçirmişse iki katına çıkar; eğer iki tane birinci derece akraba olursa bu risk neredeyse üç katına çıkar. Eğer birinci derece akraba meme kanserine genç yaşta tutulursa ve kadının kendisi daha genç yaştaysa risk daha yüksek olur (Sestak ve ark. 2012).

Beslenme, Sigara ve Alkol

Ulusal Bilimler Akademisi (The National Academy of Sciences), diyet bileşenleri ve bazı kanserlerin görülme sıklığı arasındaki ilişkinin en güçlü kanıtının, özellikle meme kanseri söz konusu olduğunda, yağ olduğu sonucuna varmıştır. Diyette alınan fazla yağ, bağırsak florasını etkileyerek steroid hormonlarının yeniden emilimini bozar (Mansfield 1993).

Yanlış beslenme ve hareketsiz yaşam sonucu oluşan obezite de meme kanseri riskleri arasındadır. Obezite, menopoz sonrası kadınlarda meme kanseri riskinde iki kat bir artışla, premenopozal kadınlarda ise az miktarda insidans ile ilişkilidir. Ayrıca, yapılan araştırmalar, ekstra yağın bel çevresinde olması durumunda meme kanseri görülme riskinin daha yüksek olduğunu göstermiştir (Sestak ve ark. 2012).

Bazı epidemiyolojik çalışmalar, sebze ve meyve alımı ile meme kanseri insidansı arasında ters bir ilişki olduğunu göstermiştir. Önemli deneysel çalışmalar; nar, elma, üzüm, mango, baklagiller, sebzeler, zencefil, sarımsak, yenilebilir makro-mantarlar ve tahıllar gibi birçok doğal diyet ürününün meme kanserinin gelişimini ve ilerlemesini etkileyebileceğini göstermiştir (Lei ve ark. 2017). Doğru beslenmenin meme kanseri görülme sıklığını azaltmada önemli bir unsur olduğu ve olacağı görülmektedir.

Aşırı alkol tüketimi meme kanseri riskini artırabilir. Günlük tüketilen alkol miktarının artması, alkol almayan kadınlara nazaran kanser riskini belirgin olarak arttırmaktadır. Alkol tüketimi, kandaki östrojenle ilişkili hormonların seviyesini yükseltir ve östrojen reseptörü yolaklarını tetikleyerek kansere neden olabileceği yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Sun ve ark. 2017).

Sigara içmek menopozdan önce meme kanseri riskini artırırken; menopozdan sonra sigara içen kadınlarda, muhtemelen tütünün anti-östrojenik etkisine bağlı olarak meme kanseri riskinde önemli bir düşüşe sahip olduğu bildirilmiştir (Winters ve ark. 2017).

Radyasyon Maruziyeti

Radyasyona maruz kalmanın birçok kanser türünü arttırdığı bilinmektedir, ancak bu araştırmaların çoğu yüksek düzeyde radyasyona maruz kalmış kişilerde yapılmıştır (Sestak ve ark. 2012). Radyasyona maruz kalmış birkaç popülasyonun kapsamlı takibi,

memenin radyasyonun etkilerine en duyarlı dokular arasında olduğunu göstermiştir (Key ve ark. 2001).

Oral Kontraseptif ve Hormon Replasman Tedavisi (HRT)

Hem endojen hem de eksojen östrojenler meme kanseri riski ile ilişkilidir. Endojen östrojen genellikle premenopozal kadınlarda over tarafından üretilir ve overektomi meme kanseri riskini azaltabilir. Temel eksojen östrojen kaynakları oral kontraseptifler ve HRT'dir. Oral kontraseptifler 1960'lı yıllardan beri yaygın olarak kullanılmaktadır ve yan etkilerini azaltmak için formülasyonlar geliştirilmiştir (Sun ve ark. 2017).

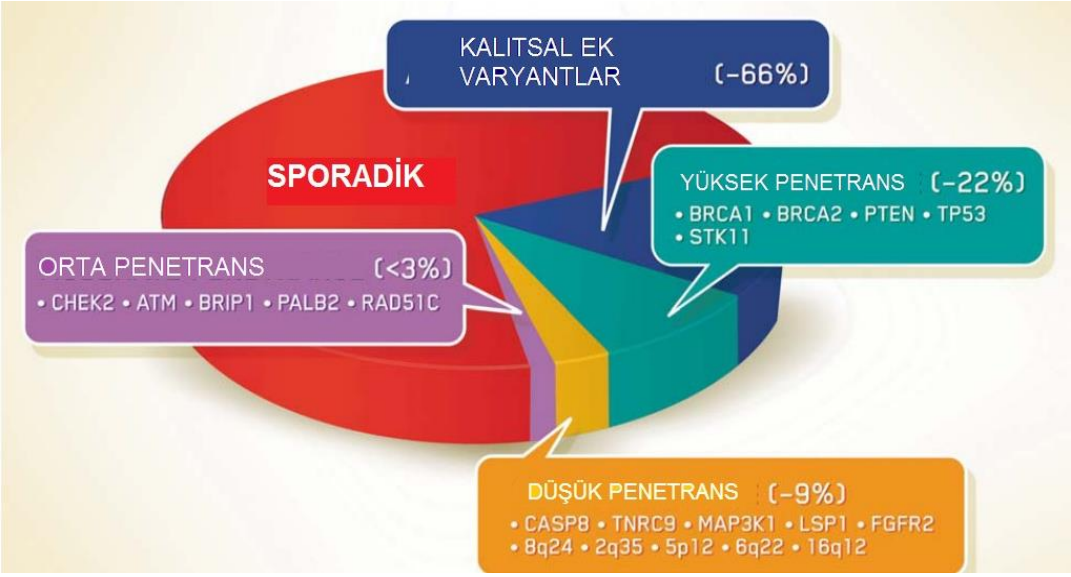
2.1.3. Meme Kanserinde Genetik Faktörler

Meme kanseri vakalarının çoğunluğu (yaklaşık %70) sporadik olarak kabul edilir. Genellikle meme kanseri insidansı yüksek olan ailelerde görülen ailesel meme kanseri, hastaların yaklaşık %30'unu oluşturmakta, bir dizi yüksek, orta ve düşük penetrasyon duyarlılık geniyle ilişkilendirilmiştir (Şekil 2.3). Yapılan çalışmalarda kalıtsal sendromlardan sorumlu olan yüksek penetrasyonlu genler (*BRCA1*, *BRCA2*, *PTEN ve TP53*) belirlenmiştir. Ayrıca, aile ve popülasyon temelli yaklaşımların bir kombinasyonu, DNA onarımında yer alan çeşitli genlerin orta düzeyde meme kanseri riski ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Meme kanserindeki genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (GWAS), meme kanserinin hafifçe artmış veya azalmış bir riski ile ilişkili birkaç ortak düşük penetrasyon aleli ortaya çıkarmıştır (Filippini ve Vega 2013).

BRCA1 ve BRCA2

BRCA1 (BReast CAncer 1) geni, kromozom 17q21'de , *BRCA2* (BReast CAncer 2) geni ise kromozom 13q12' de yerleşmiş olup sırasıyla 1994 (Miki ve ark. 1994) ve 1995 (Wooster ve ark. 1995) yıllarında meme kanserine yatkınlığı etkileyen genler olarak keşfedilmişlerdir (Filippini ve Vega 2013). *BRCA1* ve *BRCA2* genlerinde çok fazla sayıda genetik değişim ve mutasyon saptanmıştır. *BRCA1* ve *BRCA2* genlerinin kodlamasıyla oluşan BRCA1 ve BRCA2 proteinleri homolog rekombinasyon kontrolünde rol oynar. BRCA1'in DNA hasarına erken hücresel yanıtta rolü olduğu ve hücre proliferasyonu kontrolünde tümör baskılayıcı proteinler ile işbirliği içinde olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda bu proteinler DNA tamirinde, hücre siklusunun kontrol

edilmesinde ve çok çeşitli hücresel fonksiyonlarda rol oynayan proteinler ile yakın ilişkilidir. Bu nedenle BRCA1 ve BRCA2 'den yoksun olan hücrelerde, kromozomal kırılmalar, anöploidi ve sentrozom amplifikasyonu gibi kromozomal anormallikler gözlenir. BRCA1 veya BRCA2 eksikliğinin bir sonucu olarak meydana gelen koromozomal instabilite, meme kanseri oluşumu için patojenik bir temel oluşturur. Bu mutasyonu aileden miras olan kadınlarda BRCA eksikliği meme kanserinin gelişimi için kritik öneme sahiptir (Welcsh ve King 2001).



Şekil 2-3: Meme kanserinde genetik mutasyonların yüzde dağılımı

BRCA1/ BRCA2 'den başka meme kanseri ile ilişkili kalıtsal kanser sendromları da vardır. Bunlar *PTEN* ile ilişkili Cowden sendromu, *STK11* ile Peutz-Jeghers sendromu ve *TP53* mutasyonları olan Li-Fraumeni sendromu sayılabilir (Filippini ve Vega 2013). 1979 yılında tanımlanan tümör protein 53 (*TP53*), hücre siklusunu düzenleyen trasnkripsiyon faktörü olup solid tümörlerde en çok çalışılmış ve en çok mutasyona uğrayan gendir. Normalde p53 proteini tümör baskılayıcı bir etkiye sahipken, mutant p53 hücre proliferasyonuna yol açacak etkiye sahiptir. *P53* geninin her iki alleldeki kaybı veya nokta mutasyonları meme kanserlerinde gösterilmiştir. Meme kanserlerinin %20-30' unda da p53 inaktivasyonu gözlenirken; dokuda mutant p53 pozitifliğinin immünohistokimya ile tespit edilmesi %80-90 oranında meme kanserlerini doğrular. *TP53* ekspresyonundaki anormallikler, meme kanseri vakalarında daha kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (Osborne ve ark. 2004).

2.1.4. Meme Kanserinin Sınıflandırılması

2.1.4.1. Histolojik Sınıflandırma

Malign meme patolojilerini sınıflandırmanın birkaç yolu vardır. Bunlardan ilki invaziv ve invaziv olmayan meme kanserleri olarak sınıflandırmaktır. Bazı invaziv olmayan meme kanseri formları zamanla invaziv hale gelebilse de, invaziv meme kanserleri daha fazla endişe vericidirler çünkü uzaktaki bölgelere ve diğer organlara metastaz yapma kabiliyetine sahiptirler (Meisner ve ark. 2008).

Tablo 2-1: Meme kanseri sınıflandırması

İnvaziv Kanser	İnvaziv Olmayan Kanser
İnvaziv Duktal Karsinom	
İnvaziv Lobüler Karsinom	
Tübüler Karsinom	Duktal Karsinoma in Situ
Kribriform Karsinom	Lobüler Karsinoma in Situ
Papiller Karsinom	
Müsinöz Karsinom	
Medullar Karsinom vb.	

Meme patolojilerini sınıflandırmanın bir başka yolu invaziv ve invaziv olmayan kanserleri histolojik alt tiplerine göre ayırmaktır. En sık görülen histolojik invaziv kanser tipi duktal karsinom olup, bunu lobüler karsinom izlemektedir (Meisner ve ark. 2008). Meme kanserlerinin çoğunluğunu (%70-80) birkaç özel alt tip içeren duktal kanserler oluşturur. Geriye kalan %20 lik kısım ise lobüler kanserlerdir (Davies 2012). En sık kullanılan tanısal patolojik sınıflandırma sistemi Dünya Sağlık Örgütü'nün belirttiği sınıflandırma olup Tablo 2.1 de gösterilmiştir (Sinn ve Kreipe 2013).

2.1.4.2. Meme Kanserinin TNM Sınıflandırılması

TNM evreleme sistemi, Amerikan Birleşik Kanser Komitesi (American Joint Committee on Cancer-AJCC) ve Uluslararası Kanser Savaş Örgütü (Union for International Cancer Control-UICC) tarafından geliştirilmiştir (AJCC 2017). Dünyada uzmanlar tarafından en çok başvurulan evreleme sistemi TNM evreleme sistemidir ve bu sistem uzmanların belirli standartlaştırılmış kriterleri temel alan farklı kanser türlerini ortaya koyma aracı olarak geliştirilmiştir (Edge ve Compton 2010; Giuliano ve ark. 2017). TNM evreleme sistemi, tümörün (T), lenf düğümlerine-nod (N) metastaz (M) ve yayılma derecesinin varlığına dayanır (Singletary ve ark. 2002). AJCC tarafından belirli aralıklarla güncellenen bu evreleme sisteminde primer tümörün tanımı, klinik ve patolojik olarak sınıflandırılması Tablo 2.2'de gösterilmiştir. Bölgesel lenf nodlarının tanımı, klinik ve patolojik sınıflandırması Tablo 2.3'te gösterilmiştir (Edge ve Compton 2010).

Tablo 2-2: Primer tümörün tanımı (T) -klinik (cT) ve patolojik (pT)

T : Primer Tümör

TX: Primer tümör değerlendirilemez.

T0: Primer tümör kanıtı yok.

Tis: Karsinoma in situ (Yerinde karsinom)
Tis (DCIS)*: Duktal Karsinoma in Situ
Tis (paget): Meme başı Paget hastalığı, altta yatan meme parankiminde invaziv karsinom ve / veya in situ karsinom (DCIS) ile ilişkili değildir. Paget hastalığına bağlı meme parankimindeki karsinomlar, parankim hastalığının boyutuna ve özelliklerine göre kategorize edilir.

T1: Tümörün en büyük boyutu ≤ 20 mm
T1mi: Tümörün en büyük boyutu ≤ 1 mm
T1a: Tümörün en büyük boyutu > 1 mm ancak ≤ 5 mm
T1b: Tümörün en büyük boyutu > 5 mm ancak ≤ 10 mm
T1c: Tümörün en büyük boyutu > 10 mm ancak ≤ 20 mm

T2: Tümörün en büyük boyutu > 20 mm ancak ≤ 50 mm

T3: Tümörün en büyük boyutu > 50 mm

T4: Göğüs duvarı ve/veya cilde doğrudan uzantısı olan herhangi bir boyutta tümör (ülserasyon veya deri nodülleri)
T4a: Pektoralis kası dışında göğüs duvarına yayılım
T4b: Meme derisinde ülserasyon ya da ödem (peau d'orange-portakal kabuğu görünümü dahil)
T4c: Hem T4a hem de T4b var
T4d: Enflamatuvar karsinom

* Tis (LCIS) : Lobüler karsinoma in situ iyi huylu bir hastalık olarak değerlendirildiği için Amerikan Kanser Ortak Komitesi AJCC (2017) Kanser Hazırlama El Kitabında TNM evrelemesinden çıkarılmıştır.

Tablo 2-3: Bölgesel lenf nodlarının tanımı - klinik (cN) ve patolojik (pN)

cN[a]

cNX[b] : Bölgesel lenf nodları değerlendirilemez (Örn. daha önce çıkarılmış)

cN0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok (görüntüleme veya klinik muayene ile)

cN1: Aynı taraf seviye I, II aksiller lenf nodlarında metastaz, hareketli

cN1mic :Mikrometastazlar (yaklaşık 200 hücre, 0,2 mm'den büyük, ancak 2,0 mm'den büyük olmayan)

cN2 : Klinik olarak sabit veya etraf dokulara yapışık aynı taraf level I, II aksiller lenf nodlarında metastaz; veya klinik belirgin lenf nodu metastazı yokluğunda klinik olarak tespit edilen aynı taraf iç meme lenf nodlarında metastaz

cN2a: Birbirlerine veya diğer yapılara yapışık olan aynı taraf seviye I, II aksiller lenf nodlarında metastazlar

cN2b : Aksiller lenf nodu metastazı yokluğunda sadece ipsilateral iç meme lenf nodlarında metastazlar

cN3: İpsilateral infraklaviküler (seviye III aksiller) lenf düğümü (lerinde) düzey I ve II aksiller lenf düğümü tutulumunda metastaz; veya seviye I ve II aksiller lenf nodu metastazı olan ipsilateral iç meme lenf nodlarında; veya aksiller veya iç meme lenf nodu tutulumu olan veya olmayan ipsilateral supraklaviküler lenf nodu / düğümlerinde metastazları

cN3a : İpsilateral infraklaviküler lenf nodlarında metastazlar

cN3b : İpsilateral iç meme lenf nodu ve aksiller lenf nodu / metastazlar

cN3c : İpsilateral supraklaviküler lenf nodunda / düğümlerinde metastazlar

pN[d]

pNX: Bölgesel lenf nodları değerlendirilemez (örn. Patolojik çalışma için önceden çıkarılmış veya çıkarılmamış)

pN0 : Bölgesel lenf nodu metastazı histolojik olarak yok, sadece izole tümör hücreleri

pN0(i+) : Bölgesel lenf nodunda 0.2 mm den büyük olmayan malign hücreler

pN0(mol+) : Pozitif moleküler bulgular (RT-PCR), ama histolojik ya da IHK ile tespit edilen bölgesel lenf nodu metastazı yok

pN1 : Mikrometastazlar; veya 1-3 aksiller lenf nodunda metastaz; ve / veya sentinel lenf nodu biyopsisi ile mikrometastaz veya makrometastaz içeren klinik olarak negatif iç meme lenf düğümleri

pN1mi : Mikrometastazlar (yaklaşık 200 hücre, 0,2 mm'den büyük, ancak 2 mm'den büyük olmayan)

pN1a : 1-3 aksiller lenf nodunda metastaz, 2 mm'den büyük en az bir metastaz

pN1b : İpsilateral iç meme sentinel lenf nodlarında, izole tümör hücreleri hariç metastaz

pN1c : pN1a ve pN1b birlikte

pN2 : 4-9 aksiller lenf nodunda pN2 Metastazı; veya aksiller lenf nodu metastazı yokluğunda görüntüleme ile pozitif ipsilateral iç meme lenf nodları

pN2a : 4-9 aksiller lenf nodunda metastaz (2 mm'den büyük en az bir tümör birikimi)

pN2b : Patolojik olarak negatif aksiller lenf bezleri olan mikroskopik onaylı veya onaysız klinik olarak saptanan iç meme lenf düğümlerinde metastaz

pN3 : 10 veya daha fazla aksiller lenf nodunda metastaz; veya infraklaviküler (seviye III aksiller) lenf düğümlerinde; veya bir veya daha fazla pozitif seviye I ve II aksiller lenf nodu varlığında görüntüleme ile pozitif ipsilateral iç meme lenf nodları; veya klinik olarak negatif ipsilateral iç meme lenf düğümlerinde sentinel lenf nodu biyopsisi ile 3'ten fazla aksiller lenf nodu ve mikrometastaz veya makrometastaz; veya ipsilateral supraklaviküler lenf nodlarında metastaz

pN3a : 10 veya daha fazla aksiller lenf nodunda metastaz (2.0 mm'den büyük en az bir tümör birikimi); veya infraklavikularda metastaz (seviye III aksiller lenf) düğümlerinde metastaz

pN3b : cN2b varlığında pN1a veya pN2a (görüntüleme yoluyla pozitif iç meme lenf düğümleri); veya pN1b varlığında pN2a metastaz

pN3c: İpsilateral supraklaviküler lenf nodlarında metastaz

Tablo 2-4: Uzak metastaz (M) tanımı

Klinik ve Patolojik (CM0, CM1, PM1)

M0 : Uzak metastazların klinik veya radyolojik kanıtı yok

cM0 (i+): Klinik veya radyolojik uzak metastaz kanıtı yok, ancak metastazın semptom veya bulguları olmayan bir hastada dolaşımdaki kan, kemik iliği ya da diğer nonregional nodal dokularda 0,2 mm den büyük olmayan tümör hücrelerinin moleküler veya mikroskobik olarak depozitlerinin saptanması

M1: Klinik ve radyolojik yöntemlerle ve/veya histolojik olarak kanıtlanmış 0,2 mm den daha büyük uzak metastaz saptanması.

Tümörlerin metastazının, klinik ve patolojik sınıflandırması Tablo 2.4'te gösterilmiş olup, TNM evrelendirmesi Tablo 2.5'te özetlenmiştir.

Tablo 2-5: Meme kanserinde TNM evrelemesi

Evre 0	Tis	N0	M0
Evre I	T1	N1	M0
Evre IIA	T0	N1	M0
	T1	N0	M0
	T2	N0	M0
Evre IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
Evre IIIA	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T3	N2	M0
Evre IIIB	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
	T4	N2	M0
Evre IIIC	Her T	N3	M0
Evre IV	Her T	N3	M1

2.1.4.3. Moleküler Sınıflandırma

Meme kanseri sınıflandırma sistemleri, histolojik tip ve dereceyi içeren histopatolojik değerlendirmeye dayanmaktadır. Daha yakın zamanlarda östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR) ve insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2'nin (HER2) aşırı ekspresyonu ve amplifikasyonu, prognozun yanı sıra endokrin tedavisine ve Trastuzumab'a (Herceptin) verilen olası tepkinin öngörülmesi için histolojik sınıflandırmaya dahil edilmiştir (Vuong ve ark. 2014).

Meme kanserinde ilk moleküler sınıflandırma, Perou ve ark. tarafından 42 hastadan cerrahi işlemle alınmış tümörler üzerinde yaklaşık 8 bin geni içeren DNA mikrodizileri kullanılarak yapılmıştır. Bu deneyde oluşturulan gen ekspresyon profilleri ile her tümörün kendine özgü moleküler portresi sağlanmış, bu portreler ve meme kanserleri gen ekspresyonundaki farklılıklara göre; "Luminal A", "Luminal B", "HER-2 pozitif", "Bazal benzeri" ve "Normal benzeri" olmak üzere 5 alt sınıfa ayrılmışlardır (Perou ve ark. 2000; Sørlie ve ark. 2001).

Tablo 2-6: Meme kanseri moleküler alt tipleri

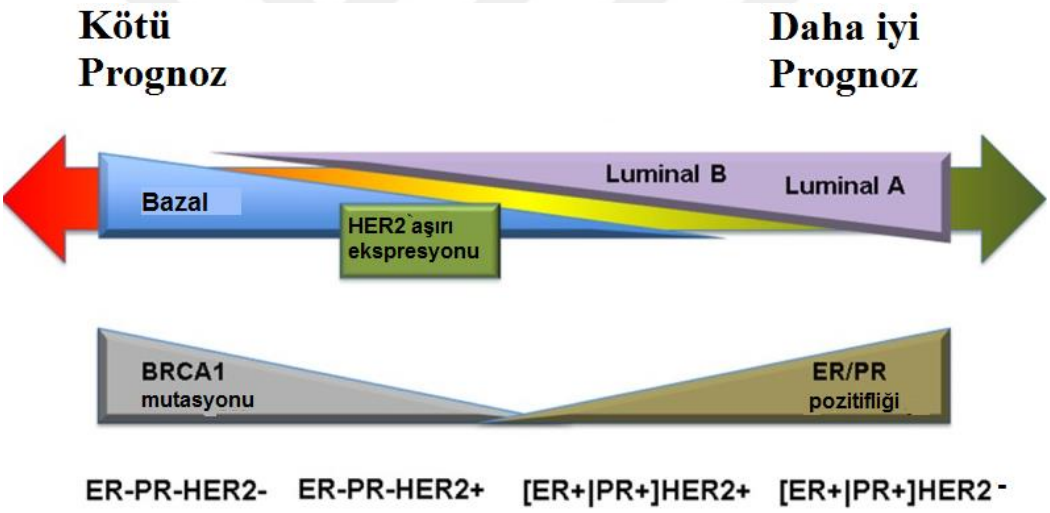
Alt Tip	İHK durumu	Histolojik derecesi	Prognoz	Prevalans
Luminal A	[ER+, PR+] HER2-Ki67-	1,2	İyi	%23,7
Luminal B	[ER+, PR+] HER2- Ki67+ [ER+, PR+] HER2+ Ki67+	2,3	Orta Zayıf	%38,8 %14
HER2 pozitif	[ER-PR-] HER2 +	2,3	Kötü	%11,2
Bazal benzeri	[ER-PR-] HER2 -, bazal markır+	3	Kötü	%12,3
Normal Benzeri	[ER+, PR+] HER2-Ki67-	1,2,3	Orta	%7,8

İHK: İmmünohisyokimya, - negatif, + pozitif,

Luminal tümörler ER pozitif olup, luminal A tümörleri düşük dereceli, PR pozitif ve HER2 negatiftir. Luminal B tümörleri ise yüksek dereceli, PR pozitif veya PR negatif ve HER2 pozitif veya HER2 negatif ve yüksek Ki67 skoru ile birlikte görülmektedir (Cheang ve ark. 2009). Luminal A tümörleri olan hastalar Şekil 2.4 (Dai

ve ark. 2015) te gösterildiği gibi, tümörlerin çoğunluğunun düşük dereceli olmasıyla tutarlı olarak diğer gruplara göre daha iyi sağkalım oranlarına sahiptirler (Vuong ve ark. 2014).

İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü olan HER2, tirozin kinaz aktivitesi gösterir, hücre büyümesi ve proliferasyonda görev alır. HER2 nin aşırı ekpresyonu sonucu hücreler malign yönde değişim gösterir. HER2 aşırı ekspresyon grubundaki tümörler, immünohistokimyasal boyama veya flüoresan *in situ* hibridizasyon ile ER negatif, PR negatif, HER2 pozitif (ER-PR-HER2+) alt grubuna benzer gen ekspresyon dizisi kullanılarak tanımlananları ifade eder (Ross ve ark. 2004). HER2 aşırı ekspresyon meme tümörleri kötü prognoza sahip olmasına rağmen , antrasiklin ve taksan bazlı neoadjuvan kemoterapiye duyarlıdır ve luminal meme tümörlerine göre anlamlı derecede daha yüksek patolojik cevap verirler (Dai ve ark. 2015).



Şekil 2-4: Meme kanseri moleküler alt tiplerinin kliniğe yansıması

Bazal benzeri, vücudun diğer bölümlerinin bazal epitel hücrelerini ve normal meme miyoepitel hücrelerini taklit eden ER negatif, PR negatif ve HER2 negatif (TNBC) ekspresyon profillerine sahip olan tümörlerden oluşur (Perou ve ark. 2000) (Sotiriou ve ark. 2003). Bu ekspresyon profilleri, hormon reseptörleri ve HER2'nin eksik veya düşük ekspresyonunu ve sitokeratinlerin (keratinler 5, 6, EGFR gibi) yüksek ekspresyonunu ve proliferasyonla ilgili genleri içerir. Bazal sitokeratin ekspresyonu ile karakterize edilen kanserlerin, düşük BRCA1 ekspresyonuna ve TP53 mutasyonuna sahip olması daha olasıdır. Bazal benzeri tipteki tümörlerin boyutu diğer tiplerde

görülen tömörlere nazaran daha büyüktür ve hızlı büyüme eğilimindedirler (Rakha ve ark. 2006). Üçlü negatif reseptör (TNBC) durumu göz önüne alındığında, bazal tipteki tümörler, geleneksel hedeflenmiş meme kanseri tedavilerine uygun olmadığından kemoterapiyi terapötik silahlanmada tek seçenek bırakmaktadırlar. (Dai ve ark. 2015).

2.1.4.4. Meme Kanserinde Prognostik ve Prediktif Faktörler

Prognostik faktör sistemik adjuvan tedavi söz konusu olmadığında hastalıksız ya da genel sağkalımla ilişkili olan, cerrahi aşamasında değerlendirilebilen herhangi bir ölçümdür, sonuçta hastalığın doğal seyri hakkında fikir sahibi olunmasına yardımcı olur. Prediktif faktör ise tedaviye yanıtı değerlendiren bir ölçümdür (Russo ve Russo 2006). Tümörün ne kadar süredir var olduğunu yansıtan tümör boyutu ve tümör agresifliğini gösteren biyolojik faktörler olmak üzere meme kanseri olan hastaların sağkalımı, iki farklı prognostik faktör tipine bağlıdır. Bu iki prognostik faktör Tablo 2.7'de özetlenmiştir (Bundred 2001).

Tablo 2-7: Meme kanserinde prognostik faktörler

Klasik/Histolojik	Biyolojik
	Anjiyogenez (VEGF)
	Proliferasyon (Ki67)
	Büyüme faktörü reseptörleri
Lenf nodu durumu	EGFR/ cerbB_2/ neu
Tümör boyutu	Hücre siklüsu düzenleyicileri
Tümör derecesi	P53/ c-myc/ siklinler
Hormon reseptör durumu	Proteazlar
Vaskuler invazyon	Ürokinaz/plazminojen aktivatör
Yaş	Katepşin D
	Metastatik proteinler
	Isı şok proteinleri (pS2)

Erken nüksü öngören olumsuz özelliklere sahip (yani lenf nodu pozitifliği, büyük boy, yüksek dereceli) hastalarda nüks riskini azaltmak için adjuvan sistemik kemoterapi veya hormonal tedavi uygulanır. Menopoz öncesi kadınlara östrojen reseptörü negatif menopoz sonrası meme kanseri nedeniyle kemoterapi verilirken, hormon tedavisi östrojen reseptörü pozitif kanseri için ayrılmıştır (Bundred 2001).

Hormon Reseptörleri

Östrojen ve progesteron hormonunun hem normal hem de neoplastik meme epitelinin proliferasyonunun desteklenmesinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Memedeki kanserojen rollerinden uzun zamandır şüphelenilmekte ve son zamanlarda epidemiyolojik çalışmalar ile doğrulanmaktadır (Yip ve Rhodes 2014). Kanserojen etkilerinde reseptör aracılı hormonal aktiviteler ile hücresel proliferasyonun uyarılması, sitokrom P450 aracılı metabolik aktivasyon yoluyla mutasyon oranlarını artırarak doğrudan genotoksik etkiler ve anöploidi indüksiyonu şeklinde üç ana mekanizmanın rol oynadığı düşünülmektedir. Östrojen/progesteron reseptörleri (ER/PR) olan hormon reseptörleri ve HER2/neu aşırı ekspresyonu gibi faktörler hem prognostik hem prediktiftirler. İnvaziv meme kanserinde ER/PR reseptörlerin pozitif olması hem prognostik hem de prediktif faktörlerdir. Östrojen güçlü bir mitojenik hormondur ve meme gelişimi yanında meme dokusunun karsinogenezinde de önemli rol oynar (Russo ve Russo 2006).

HER2/neu (CerbB-2)

CerbB-2 geni 17q21 kromozomunda lokalizedir. Normal meme dokusunun epitelyal ve miyoepitelyal hücrelerinde düşük seviyelerde eksprese edilir ve intrinsik tirozin kinaz aktivitesine sahiptir. Meme kanserlerinin yaklaşık %30'unda fazla ekspresyonu ve amplifikasyonu mevcuttur. Bu proteinin tümör dokusunda varlığı kötü prognostik faktördür. HER2/neu amplifikasyonu veya fazla ekspresyonu olan tümörler daha agresif seyir göstermektedirler.Aynı zamanda HER2/neu artışı, artmış nüks, zayıf sağkalım ve ölüm oranları ile ilişkilidir (Slamon ve ark. 1987).

2.2. İDİYOPATİK GRANÜLOMATÖZ MASTİT (İGM)

Mastit terimi göğüs ağrısı, kızarıklık ve şişme şeklinde ortaya çıkan meme dokusunun bir kısmının veya tamamının enflamasyonunu tarif eder (Orr ve Kelley 2016). Akut mastit ve apse oluşumu genellikle hastalarda tanı konmasını ve tedaviyi zorlaştırır. Bazı apseler kendiliğinden boşalırken; diğerleri için iğne aspirasyonu, insizyon ve drenaj veya eksizyon içeren müdahaleler gerektirebilir (Valente ve Grobmyer 2018). Mastit, Kamal ve ark. tarafından Tablo 2.6'da gösterildiği gibi enfeksiyöz, enfeksiyöz olmayan ve malign mastit olmak üzere üç ana grupta sınıflandırmıştır (Kamal ve ark. 2009).

Tablo 2-8: Mastit sınıflandırması

Enfeksiyöz Mastit	Enfeksiyöz olmayan Mastit
✓ Basit Mastit • Laktasyonel • Laktasyonel olmayan ✓ Komplike Mastit • Apse • Akıntılı Sinüs • Enfekte Kist • Enfekte Galaktosel ✓ Spesifik Mastit • Tüberküloz • Mantar (fungal) **Malign Mastit** ✓ İnflamatuar Meme Kanseri ✓ Malign Apse	✓ Periduktal Mastit /Duktal Ektazi ✓ Plazma Hücreli Mastit ✓ Granülomatöz Mastit (GM) ✓ Diyabetik Mastopati ✓ Işınlama sonrası ✓ Sekonder Mastit • Vasküler Hastalıklar • Kollajen Yapı Bozuklukları • Posttravmatik Yağ Nekrozu • Yabancı Cisimler

Enfeksiyöz mastit, primer veya komplike olan meme patolojileri gösterse de, memeye özgü ve spesifik olmayan enfeksiyon biçimlerini kapsar. Bu mastit formu çocuk emzirme döneminde özellikle laktasyon döneminde daha sık görülür. Enfeksiyöz olmayan mastit, özellikle laktasyon sırasında ortaya çıkmayan, mikrobiyal enfeksiyonların eşlik etmediği ve genellikle antibiyotiklerle çözülmeyen bir başka aseptik veya kimyasal enflamatuvar meme bozukluğu grubunu kapsar. En ciddi mastit

formu olan üçüncü mastit grubu, genellikle enflamatuvar meme karsinomu veya çok nadir görülen malign meme apsesine eşlik eden malign mastit grubudur (Kamal ve ark. 2009).

Enfeksiyöz yabancı madde veya sarkoidoz ve Wegener'in granülomatozisi gibi sistemik otoimmün hastalıklardan kaynaklanan granülomatöz reaksiyonlar memede mastite yol açar. Etiyolojinin tanımlanması için histopatolojik değerlendirmenin yanı sıra mikrobiyolojik ve immünolojik test gerekir (Guray ve Sahin 2006). Pek çok farklı organizma türü granülomatöz mastite neden olabilir. Tablo 2.7'de memede granülomatöz enflamatuvar reaksiyonuna yol açan nedenler sıralanmıştır (Bakaris ve ark. 2006).

Tablo 2-9: Memede granülomatöz enflamatuvar reaksiyonun nedenleri

Enfeksiyöz

- Mikobakteriyum Tüberkülozis
- Blastomikoz (maya mantar hastalığı)
- Kriptokokoz
- Histoplazmoz
- Aktinomikoz
- Filaryal Enfeksiyon
- Korinebakteriyum

Otoimmün Hastalıklar

- Wegener Granülomatoz
- Dev Hücreli Artrit
- Yabancı Cisim Reaksiyonu

Duktal Ektazi

- Plazma Hücreli Mastit
- Subareolar Granüloma
- Periduktal Mastit

Diabetes Mellitus

Sarkoidoz

Yağ Nekrozu

İdiopatik

Granülomatöz mastit (GM) genel olarak spesifik ve non-spesifik olmak üzere iki gruba ayrılır. Spesifik GM terimi hastalığa neden olan faktörün tanımlanabileceği koşullara karşılık gelir. Bu bir izole enflamasyonun sadece meme için geçerli olması yada memenin sistemik bir enflamasyon içinde yer almasıdır. İdiyopatik granülomatöz mastit (İGM) veya granülomatöz lobuler mastit olarak bilinen spesifik olmayan GM ise genel olarak memede granülamatöz reaksiyona neden olabilecek etkenlerin ve etiyolojik faktörlerin belirlenemediği koşulları ifade eder (Altintoprak ve ark. 2014).

İGM, nadir olarak görülen klinik ve radyolojik olarak meme kanserini taklit eden kronik enflamatuvar meme hastalığıdır (Benson ve Dumitru 2016). İlk olarak 1972 yılında Kessler ve Wolloch (Kessler ve Wolloch 1972) tarafından tanımlanan İGM in etiyolojisi tam olarak bilinmemektedir (Lei ve ark. 2017). İGM, ilk olarak hassas bir meme kitlesi ile ortaya çıkar; daha sonra memedeki kitleye ek olarak iltihaplanma, hassasiyet, lokal ağrı, ateş, galaktore, apse ve fistül gözlenir (Diesing ve ark. 2004). Apse her iki memede de ortaya çıkabilir ve hassas bir meme kitlesine, cilt ülserlerine ve meme kanserinin klinik semptomlarına yol açabilir. Akut enflamasyon belirtileri gösterebilir ve tekrarlama olasılığı çok yüksektir (Oran ve ark. 2013). Bu gibi durumlarda meme kanseri ile mastit sıklıkla karıştırılır. Bu nedenle erken ve doğru bir tanı, uygun bir tedavi ve kanser tedavisini geciktirmemek adına çok önemlidir (Korkut ve ark. 2015).

2.2.1. Etiyoloji

İdiyopatik Granülomatöz Mastit' in etiyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte hormonal dengesizlik, otoimmünite, bilinmeyen mikrobiyolojik ajanlar, sigara içme ve α_1-antitripsin eksikliğinin hastalığın etiyolojisinde rol oynadığı düşünülmektedir (Altintoprak ve ark. 2014).

α_1-antitripsin (AAT) eksikliği

AAT, enflamasyon sırasında artan akut faz reaktanıdır ve eksikliği, akciğer ve karaciğer patolojilerine yol açmaktadır. Schelfout ve ark 2001'deki vaka sunumlarında İGM tanısı alan 37 yaşında bir kadın hastada AAT eksikliği göstermişlerdir. AAT eksikliğinin İGM'de etiyolojik faktör olabileceğini öne sürmüşler; ancak, ilave çalışmalar yapılmamıştır (Schelfout ve ark. 2001).

Oral kontraseptifler

Oral kontraseptifler (OKS), meme sekresyonunu arttırdıkları için potansiyel bir etiyolojik faktör olarak düşünülmüştür. İGM ile oral kontraseptiflerin kullanımı arasındaki ilişki tartışılmış, ancak hiçbir zaman net bir şekilde gösterilmemiştir. Oran ve ark. (Oran ve ark. 2013) 46 vakadan 10 (46/10 ,%21,7) OKS kullanımı, Gürleyik ve ark.(Gurleyik ve ark. 2012) 8 vaka (8/19, %27,7) , Baslaim ve ark. (Baslaim ve ark. 2007) ise 20 vakadan sadece iki OKS kullanım öyküsü bildirmişlerdir. Sonuç olarak İGM ve OKS kullanımı arasındaki ilişkinin %0- %42 arasında değiştiği bildirilmiştir (Altintoprak ve ark. 2014).

Gebelik, Doğum ve Emzirme

İGM'in genellikle 50 yaş altı kadınlarda tespit edilmesi, yakın zamanda doğurma ve emzirme hikayesinin olması bu faktörlerin İGM etiyolojisinde yer almasına neden olmuştur. Gebelik ve emzirme sırasında meydana gelen hormonal değişikliklerin hastalığın patofizyolojisinde rol oynayacağı düşünülmüştür. İGM ile yapılan tüm çalışmalarda parite ve emzirme geçmişi bildirilmiş olsa da bu faktörlerin olamayacağı yaşlarda da vakalar bildilmiştir (Baslaim ve ark. 2007). Bu nedenle gebelik, doğum ve emzirmeyi hastalığın etiyolojisinden sorumlu tutmak zorlaşır(Altintoprak ve ark. 2014).

Hiperprolaktinemi

Sekresyon teorisi göz önüne alındığında, hiperprolaktinemi, diğer hormonal bozukluklara benzer şekilde İGM'nin patogenezinden de sorumlu olabileceği düşünülmüştür fakat bu hipotezi destekleyecek yeterli çalışma yapılmamıştır. Bani-Hani ve ark. 24 vakanın yedisinde prolaktin düzeylerini analiz etmiş ve bir hastada (%4.1) yüksek prolaktin düzeylerini bulmuşlardır (Bani-Hani ve ark. 2004).

Otoimmünite

Steroid ve immünsüpresif tedaviye iyi bir yanıt içeren, ameliyat sonrası nüks olan ve steroid tedavisine iyi yanıt veren hastalar, meme dışı tutulumu olan hastalar (eritema nodozum veya artrit gibi) ve immünohistokimyasal olarak T-lenfosit baskınlığının gösterilmesi çalışmaları dahil olmak üzere literatür bulguları otoimmünite hipotezini desteklemektedir. İGM'nin cerrahi eksizyonundan sonraki hastalık nüksü, romatoid faktör ve ANA seviyeleri ile korele görünmemektedir. Bununla birlikte immünohistokimyasal çalışmalar T lenfosit dominantlığını göstermiştir ve otoimmün

hipotezi desteklemektedir . T-hücresi baskınlığı, granülom oluşumu ve duktal hasar ile T-hücre aracılı iltihaplanma içeren otoimmün bir patofizyolojik mekanizmayı yansıtır (Benson ve Dumitru 2016).

Sigara içmek

Sigara içmek hastalık etiyolojisinde dikkate alınan faktörler arasında yer almakla birlikte, sigara içme ile İGM arasında kesin bir ilişki bulunamamıştır (Altintoprak ve ark. 2014).

Mikrobiyolojik Ajanlar

Memenin normal endojen bakteri florası cilt florasına benzer. Baskın organizmalar arasında koagülaz negatif streptokoklar, *Propiniobacterium sp.* ve *Corynebacterium sp.* türleri bulunur (Altintoprak ve ark. 2014). Bu bakterilerin duktal sistem yoluyla meme dokusundan daha derine girdiği düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda İGM li hastalarda 4 farklı *Corynebacterium* türü tespit edilmiştir (Paviour ve ark. 2002; Taylor ve ark. 2003). Bu organizmaların enfeksiyon, kolonizasyon veya kontaminasyona neden olup olmadığını ayırt etmek zor olduğundan hastalığa sebebiyet verdiği tartışmalıdır .

2.2.2. İdiyopatik Granülomatöz Mastitte Klinik Tanı

Memede oluşan apse her iki memede de ortaya çıkabilir ve hassas bir meme kitlesine, cilt ülserlerine ve meme kanserinin klinik semptomlarına yol açabilir. Akut enflamasyon belirtileri gösterebilir ve tekrarlama olasılığı çok yüksektir. Bu şekilde oluşan semptomlar nedeniyle İGM'in tanı koyma süreci uzun sürebilir. İGM tanısı koymak için meme kanserinin klinik semptomlarına benzer semptomlar içerdiğinden ilk başta meme kanserini daha sonra Wegener granülamatozu, tüberküloz, meme tutulumlu sarkoidoz, *Corynebacterium* gibi bakteriyel ve mantar enfeksiyonları dışlanmalıdır (Heer ve ark. 2003).

İGM'de kesin tanı patolojik ve histolojik olarak inceleme yapılarak hastalığın karakteristik olarak tanımlanamayan şiddetli enflamatuvar reaksiyon gösteren granülom varlığı ve granülomatöz reaksiyon yapabilen diğer etiyolojilerin olmaması ile konulur (Sripathi ve ark. 2016).

Mammografi

Meme hastalıklarının tanısında ve erken teşhisinde etkinliği kanıtlanmış mammografi, yaygın olarak kullanılan temel meme görüntüleme yöntemidir (Loberg ve ark. 2015). İGM için patognomonik yani hastalık teşhisine yarayabilecek mamografik özellikler yoktur. Bunun nedeni İGM'nin nispeten genç kadınları etkilemesi ve bu kadınların herhangi bir radyolojik anormallik tespitini engelleyebilecek yoğunlukta meme parankimal paternlerine sahip olmalarıdır (Hovanessian Larsen ve ark. 2009). Genel olarak, daha yoğun memeler yaşlı kadınlara göre daha genç, menopoz sonrası kadınlara göre ise premenopozal dönemde bulunan kadınlarda bulunur. Yoğun bir memeye sahip hastada, mamogramda kitle kaçırabilir. Bu nedenle özellikle malignite indeksi yüksek olan genç kadınlarda, lezyonun daha iyi incelenmesi için ultrason veya manyetik rezonans görüntüleme (MRG) gibi diğer meme görüntüleme yöntemleri gerekebilir. Cilt kalınlaşması, meme başı inversiyonu veya aksiller lenfadenopati ile ilişkili olabilen palpe edilebilir kitleye karşılık gelen fokal asimetrik yoğunluğa sahip tipik parankimal heterojenite gözlenir (Dursun ve ark. 2012). Bu düzensiz kitleler veya nodüller mamografide en sık görülen anormallikler olarak bildirmiştir. Bu soliter kitleler meme apsesi ile tanısal karışıklığa yol açabilirken diğer mamografi özellikleri nedeniyle karsinomayı taklit edebilir (Hovanessian Larsen ve ark. 2009).

Ultrason

Ultrason genellikle uygulama ve ulaşım kolaylığı nedeni ile meme anormalliklerini değerlendirmede yararlı bir yardımcı olup en çok kullanılan görüntüleme yöntemidir. Kitle lezyonu yokluğunda aşırı parankimal distorsiyon ve hipojeniklik, cilt kalınlaşması ve aksiller lenfadenopati ile ilgili sonografik bulgular olabilir**.** Fibroadenomaya karşı basit bir kistte olduğu gibi kistik ve solid lezyonları kolayca ayırt edebilir; ancak kalsifikasyonları değerlendirmenin iyi bir yolu değildir. Ultrason, tüm memenin taranmasında etkili bir yöntem değildir ve en iyi memenin hedeflenen bir alanını incelemek için kullanılır (Meisner ve ark. 2008).

Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG)

MRG, hem tanı hem de tarama amaçlı olarak uzmanlar tarafından sıklıkla kullanılmaktadır. Görüntüleme oldukça hassas olup ve hem klinik hem de mamografik olarak gizli olan meme kanserinin saptanmasını sağlar. Oldukça hassas olmasına rağmen MRG, fibroadenomlar, yağ nekrozu ve bazı fibrokistik değişiklikler gibi benign

lezyonların gelişmesi nedeniyle %65-%79 arasında sınırlı bir özgüllüğe sahiptir (Meisner ve ark. 2008). Bu nedenle MRG kullanımının İGM'nin rutin değerlendirmesinde rolü yoktur; çünkü benign ve malign lezyonları ayırt edememektedir. Göz önünde bulundurulması gereken diğer bir husus maliyettir (Dursun ve ark. 2012).

Histopatolojik İnceleme

Meme anormalliklerinin klinik muayenesi veya görüntülemesi yetersiz olduğunda, bir doku parçası veya sitolojik örnek alınmalıdır. İGM'in kesin tanısı memede bulunan kitleden biyopsi alınarak histolojik ve patolojik olarak incelenmesi ile konur (Oran ve ark. 2013) .

İnce iğne aspirasyon (Fine-needle aspiration-FNA) biyopsisi ile sitolojik inceleme yapılır. İnce iğne aspirasyon sitolojisi göreceli olarak invaziv olmayan ve hızlı bir yöntemdir, ancak duyarlılığı düşüktür. İnce iğne uygun olmadığı durumlarda biyopsi kalın iğne biyopsisi (core needle biopsy, kor biyopsi, biyopsi) ve vakum destekli biyopsi ile doku alınarak inceleme yapılır. Tru-Cut biyopsisi İGM'yi kesin olarak teşhis edemediğinde, nekrotizan olmayan granülomların varlığını histolojik olarak doğrulamak için cerrahi (açık) biyopsi tercih edilir (Hovanessian Larsen ve ark. 2009). Cerrahi biyopsi insizyonel (kitlenin bir kısmı) veya eksizyonel biyopsi yani kitlenin tamamı çıkartılarak yapılır (Dupont ve Page 1985).

Histolojik olarak İGM, Langhan’s tipi dev hücreleri ile karıştırılan epitelsi histiyositlerden oluşan, lobulosentrik, yayılmayan granülomlarla karakterize edilir. Lenfositler, plazma hücreleri ve polimorf lökositler içeren kronik enflamatuvar bir tablo vardır. Mikroapse oluşumu yaygın olarak görülür ve hem duktal hem de lobüler epitelde skuamöz metaplaziler oluşabilir. İGM'nin önemli bir özelliği, bakteri ve mantarlarda bulaşıcı granülomları ekarte eden lekelerde görülen mikroorganizmaların bulunmamasıdır (Benson ve Dumitru 2016).

2.3. MİKRORNA'LAR

İnsan genomunun bir kısmının proteine transkribe olmadığının anlaşılması, kodlamayan RNA (non-coding RNA) ların keşfine yol açmıştır. Bir genin geleneksel tanımına göre, DNA dizisi fonksiyonel bir protein üretmek için önce RNA'ya transkribe olur yani kopyalanır, daha sonra translasyona uğrayarak ürün oluşur. Kodlamayan RNA'lar (ncRNA), proteine çevrilmeyen fonksiyonel RNA moleküleridir (Dunham ve ark. 2012).

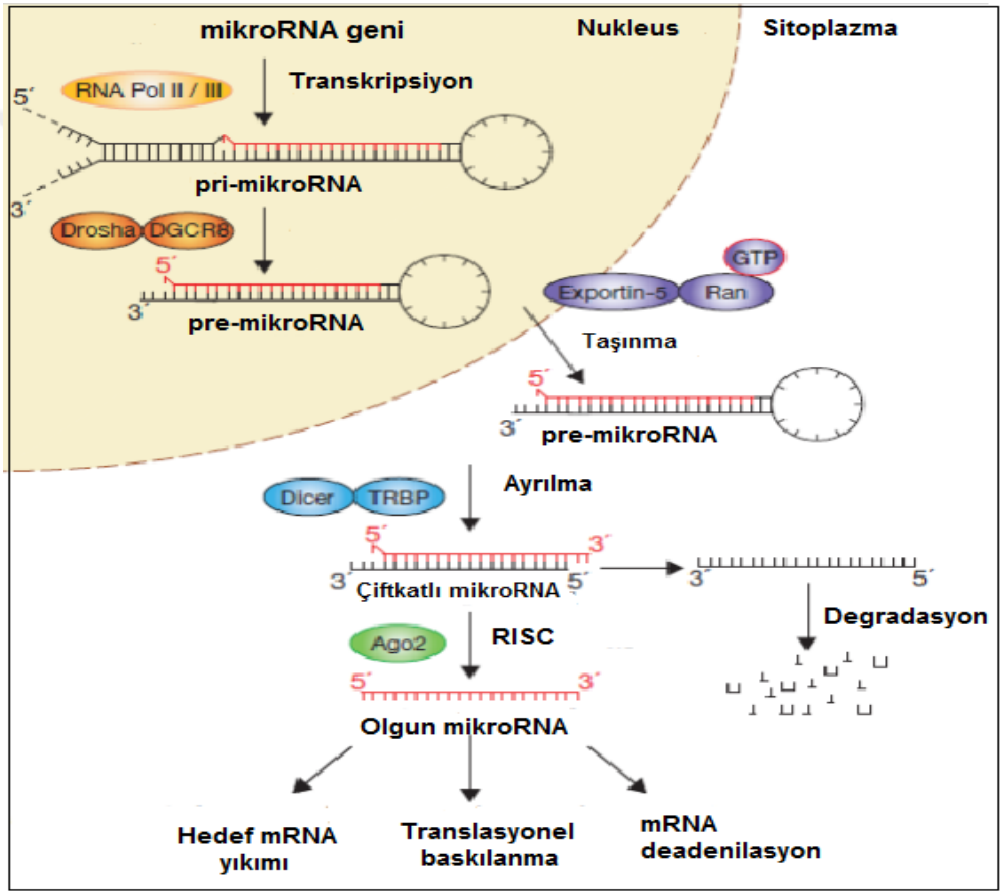
NcRNA'ların çoğunun genomdaki fonksiyonu henüz belirlenmemiş olsa da, ncRNA'lar genellikle altyapısal ve düzenleyici olarak iki gruba ayrılabilir. Taşıyıcı RNA (tRNA), ribozomal RNA (rRNA), küçük nükleer RNA (snRNA) ve küçük nükleolar RNA (snoRNA) gibi türleri içeren altyapısal ncRNA'lar, esas olarak ifade edilir. Bu ncRNA'lar, birleştirme (splicing) ve translasyon gibi hücrenin birçok homeostatik işleminde işlev görürler. Öte yandan, düzenleyici ncRNA'lar diğer RNA molekülleri üzerinde etki yapar ve boyutlarına bağlı olarak mikroRNA'lar (miRNA'lar), küçük interferans yapan RNA'lar (siRNA'lar), Piwi-etkileşimli RNA'lar (piRNA'lar) ve uzun (lncRNA> 200 nt) ncRNA'lar olarak sınıflandırılırlar (Humphries ve ark. 2019; Ghildiyal ve Zamore 2009).

MikroRNA'lar veya miRNA'lar, yaklaşık olarak 20-23 nükleotit uzunluğunda kısa RNA moleküleridir. Posttranskripsiyonel olarak hedef mRNA'ların yıkımına ve translasyonel inhibisyona neden olarak gen ekpresyonunu düzenlediği düşünülmektedir (Bartel 2004). MiRNA'ların önemi, teknolojinin ve metodolojinin sınırlandırılmasından dolayı iki miRNA'nın; lin-4 ve let-7'nin keşfine kadar göz ardı edilmiştir (Cai ve ark. 2009). *Caenorhabditis elegans* adlı yuvarlak solucanın gelişimi sırasında keşfedilen miRNA'lardan ilki olan Lin-4, *C. Elegans* 'da hedef genin ekspresyonunu azaltarak gen ekspresyonunun postranskripsiyonel düzenleyicisi olarak rol oynar (Lee ve ark. 1993). Lin-4' ün keşfinden sonra *C.elegans*' da 22 nükleotid uzunluğunda farklı bir miRNA keşfedilmiş, let-7 olarak isimlendirilmiştir. Let-7, canlının gelişim zamanlamasını düzenleyen hetekronik bir gen olarak tanımlanmıştır (Reinhart ve ark. 2000b). O günden bugüne yapılan çalışmalarda lin-4 ve let-7' ye benzeyen birçok küçük RNA molekülü, tüm ökaryotik hücrelerde keşfedilmiş ve türler boyunca korunan bu yapılar miRNA' lar olarak isimlendirilmiştir (Lagos-Quintana ve ark. 2001).

2.3.1. MikroRNA'ların Oluşumu

MiRNA'lar gen ekspresyonunu düzenleyen kısa (20-23 nükleotit), endojen, tek iplikli RNA molekülleridir. MiRNA oluşumu, Şekil 2.5'te görüldüğü gibi başlıca üç aşamadan oluşmaktadır (Winter ve ark. 2009) .

1. Primer miRNA'ların (pri-miRNA) transkripsiyonu
2. pri-miRNA'ların prekürsör miRNA'lara (pre-miRNA) dönüştürülmesi
3. Olgun miRNA'ların oluşturulması



Şekil 2-5: MiRNA'ların oluşumu- Winter (2009)'dan değiştirilerek

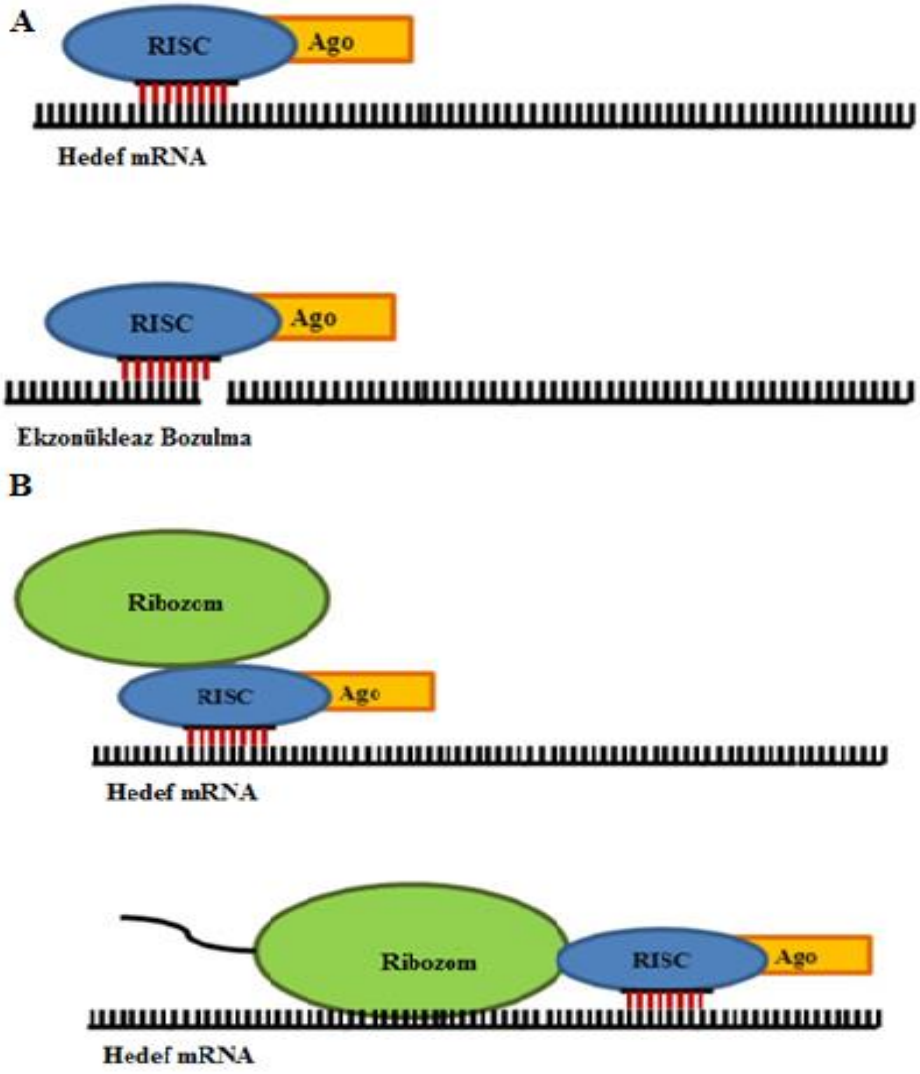
MiRNA'ların oluşumu, nükleus içerisinde miRNA genlerinden RNA polimeraz II enzimi aracılığıyla primer miRNA (pri-miRNA) transkripsiyonu ile başlar (Kwak ve ark. 2010). Birincil transkriptler (pri-miRNA), bir poli (A) $^{+}$ kuyruğu ve 5' başlıkla birlikte dizilerin tam olarak komplementeri olmayan , saç tokası (hairpin) diğer adıyla

sap-ilmek (stem-loop) adı verilen bir bölge içerirler. Bir ribonükleaz olan DROSHA ve onun partneri DGCR8 nükleus içersinde saç tokası görünümde olan yapıyı tanır ve pri-miRNAya bağlanır. DROSHA-DGCR8 ikilisi pri-miRNAyı kırparak prekürsör miRNAnın oluşmasını sağlar. Oluşan pre-miRNA nükleustan sitoplazmaya RAN-GTP bağımlı exportin-5 (XPO5) aracılığıyla çıkar. Başka bir ribonükleaz çeşidi olan Dicer pre-miRNA'nın fosforile olan 5' ucuna bağlanır , ilmik yapısını bozar ve TAR- RNA bağlayan protein (TARBP2) ile birlikte pre-miRNA yı çift iplik miRNA-miRNA* yapısına dönüştürür. Oluşan yapıya Argonat (Ago) proteinleri de katılarak RNA kaynaklı susturma kompleksi (RNA-induced silencing complex-RISC) adı verilen efektör bir kompleks oluşturulur (Ha ve Kim 2014) . Ago proteinlerinin etkisiyle miRNA-miRNA* çift ipliğinden 5' ucu daha kararlı olanı seçilip kılavuz iplik veya olgun miRNA olarak adlandırılır ve komplekse dahil edilir. Diğer iplik anti-kılavuz veya yolcu iplik olarak adlandırılır ve degrade edilir. Sonuç itibariyle oluşan olgun miRNA'lar kendi nükleotit dizilerine tamamlayıcı (komplementer) genleri tanıyarak hedef mRNA'ya bağlanır ve ilgili genin protein translasyonunun inhibisyonuna ve/veya mRNA'nın yıkılmasına yol açarak fonksiyon gösterirler (Du ve Zamore 2005).

MiRNA'lar, translasyonun baskılanması/durması, mRNA'nın yıkımı ve bazı koşullarda da ekspresyonunun teşvik edilmesi yönündeki etkileriyle hedef genlerin ekspresyonlarını düzenlerler. Olgun miRNA, mRNA transkriptlerinin çoğunlukla 3'UTR bölgesindeki dizilerine ya da açık okuma çerçevesi (open reading frame-ORF) denilen bölgelerine komplementer olarak bağlanır. MiRNA ile hedef mRNA'daki tanıma bölgeleri arasındaki tamamlayıcılık derecesinin, miRNA'nın etki mekanizmasını belirlediği düşünülmektedir (Cai ve ark. 2009).

Mesajcı RNA'lar olgunlaşırken 3' poli (A) kuyruğunun ve 5'- şapka (cap) yapısının eklenmesi gibi stabilitelerini arttıran bir dizi işlemden geçirilirler. MiRNA'lar, aynı zamanda mRNA'ların poli (A) kuyruğunun yıkımına (deadenilasyon) neden olarak, mRNA'nın stabilizasyonunu da bozabilirler. Şekil 2.6/A 'da görüldüğü gibi RNA kaynaklı susturma kompleksinin (RISC) hedef mRNA'ya bağlanması ile intrinsik enzimatik protein olan Argonat 2, mRNAyı ekzonükleaz degradasyona uğratarak mRNA deadenilasyonuna yol açar. miRNA'lar ayrıca translasyon başında (Şekil 2.6/B) veya sonrasında protein sentezini engelleyebilir. RISC proteinleri translasyon başında ribozomların mRNA'larla birleşmesini engelleyerek translasyonu baskılar. Translasyon

başladıktan sonra ise ribozomlar mRNA'larla birleşse bile erken ayrılma veya ilişkili miRNA'ların fiziksel engellemesi nedeniyle translasyonu tamamlayamazlar (Virtue ve ark. 2012).



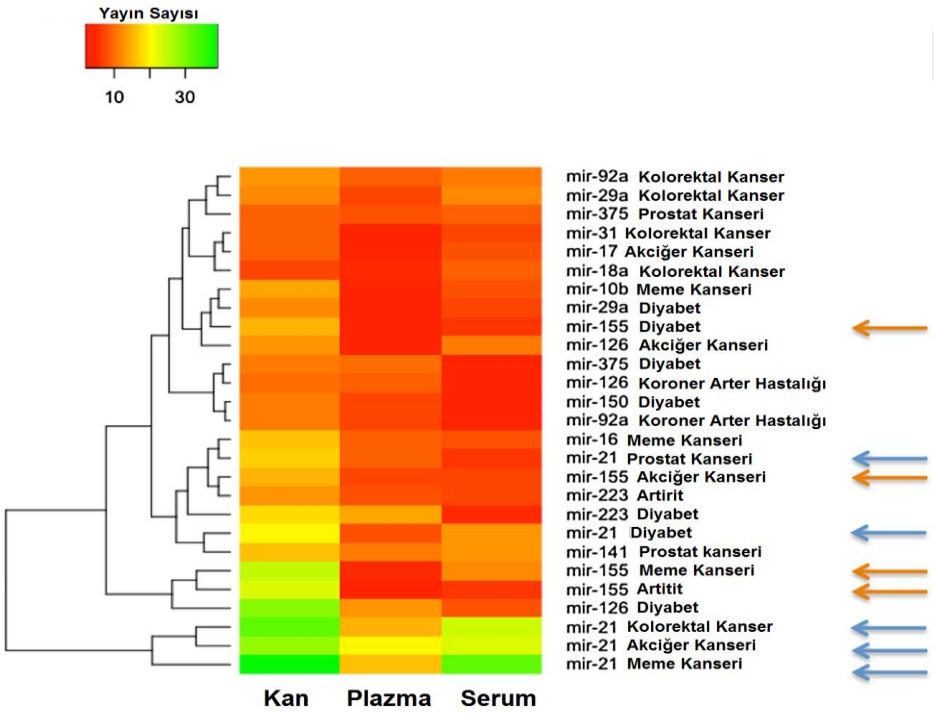
Şekil 2-6: RISC yapısının hedef mRNA'ya bağlanması- Virtue (2012)'den değiştirilerek

2.3.2. MikroRNA'lar ve Hastalıklar

MiRNA'ların keşfinden zamanımıza kadar yapılan çalışmalar bu küçük RNA'ların; hücre büyümesi ve çoğalması, doku farklılaşması, embriyonik gelişim ve apoptoz gibi birçok önemli biyolojik süreçte rol oynadığını göstermektedir. Bu nedenle, miRNA'ların mutasyonu, miRNA oluşumunun ve düzenlenmesinin bozulması çeşitli

hastalıklara neden olabilir (Lu ve ark. 2008). Son yıllarda, miRNA'ların düzenlenmesi, biyolojik süreçlerin yanı sıra retina bozukluğu, nörodejeneratif hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser de dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların gelişmesinde ve ilerlemesinde rolleri bakımından kapsamlı bir şekilde çalışılmaktadır. Çalışmalar miRNA ekspresyonunun düzensizliğinin hastalığın ilerlemesinde önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Bu nedenle miRNA ekspresyon profillerinin hastalıkların teşhisinde önemli faktörler olduğunu göstermektedir (Vishnoi ve Rani 2017).

Yüksek verimli dizilemenin başarısı miRNA'ları birçok hastalığın patolojisiyle ilişkilendirmiştir. Doku ve hücre kültürlerinin yanı sıra, vücut sıvıları da miRNA biyobelirteçleri için potansiyel kaynaklar haline gelmiştir. Backes ve ark. yaptıkları çalışmada insan miRNA hastalık veritabanını (HMDD) kullanarak miRNA-hastalık ilişkisini araştırmışlardır. Vücut sıvılarından kan, plazma ve serumdan en az ikisinde yapılmış, en az 20 çalışmayı PubMed veritabanından tarayarak, hastalıklar ve miRNA'lar arasındaki ilişkiyi gösteren (Şekil 2.7) ısı haritası yapmışlardır (Backes ve ark. 2016).



Şekil 2-7: MikroRNA'lar ile hastalıklar arasındaki ilişkinin ısı haritası- Backes (2016)

PubMed ve HMDD taramaları sonucunda iki adet miRNA'nın on hastalığın en az dördünde çalışıldığı gözlenmiştir. Bu iki miRNA miR-21 ve miR-155 olup Şekil 2.7'de renkli oklarla gösterilmiştir. MiR-155 için bildirilen sonuçlar çelişkili iken ; miR-21 genelde bütün hastalıklarda up-regüle olmuş ve ekspresyonu artmıştır. Bu iki miRNA'nın serum, plazma ve kandaki ekspresyon düzeyleri Şekil 2.8'de özetlenmiştir (Backes ve ark. 2016).

Şekil 2-8: MiR-21 ve miR-155 'in çeşitli hastalıklarda ekpresyonu- Backes (2016)

K;Kan, S; Serum, P;Plazma, KOAH; Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı; Yukarı ok miRNA ekpresyonunun up-regüle, aşağı ok downregüle, yan ok ise ekpresyonun değişmediğini gösterir.

2.3.3. MikroRNA'lar ve Kanser

MiRNA'lar, mRNA'ların 3' çevrilmemiş bölgesinde (3' UTR) tamamlayıcı dizilerine bağlanarak gen ekspresyonunu baskılar, hedef mRNA'yı degrade ederek translasyonunu önler. 1000'den fazla miRNA geninin tanımlandığı, tek bir miRNA'nın yüzlerce veya binlerce farklı mRNA'yı hedef alabildiği ve tek bir mRNA'nın farklı miRNA'lar tarafından bastırılabileceği göz önüne alındığında, miRNA biyogenez yolu gen regülasyonunda önemli bir rol oynar (Lin ve Gregory 2015). MiRNA'ların protein kodlayan genlerin %60'ından fazlasının translasyonunu düzenlediği tahmin edilmektedir ve böylece miRNA'lar, hayvanlarda en çok bulunan gen-düzenleyici molekül sınıflarından birini oluşturmaktadırlar. Proliferasyon, gelişme, farklılaşma ve apoptoz gibi tüm hücresel fonksiyonlara dahil olmalarından dolayı, miRNA'ların anormal

ekspresyonu veya değiştirilmesi, kanser dahil olmak üzere bir dizi insan malignitesine katkıda bulunmaktadır (Melo ve Kalluri 2012).

MiRNA'ların insan hastalıkları arasında kanserde anormal bir şekilde eksprese edildiği veya mutasyona uğradığı gösterilmiştir. Bunun neticesinde miRNA'ların yeni bir onkogen sınıfı veya tümör baskılayıcı gen sınıfı olarak rol oynayabilecekleri öne sürülmüştür (Iorio ve ark. 2005). Kanser tipine bağlı olarak miRNA'lar, onkogenler, tümör baskılayıcılar veya metastaz düzenleyiciler olarak görev yapabilir. Kromozomal analiz, miRNA mikrodizileri, miRNA qPCR dizileri ve daha yakın zamanda yüksek verimli küçük RNA sekanslama platformları olmak üzere çeşitli yaklaşımlar, insan kanserlerinde miRNA profillerini oluşturmak için kullanılmıştır (Kim ve ark. 2018).

2002 yılında Calin ve ark., miR-15a ve miR-16 ekspresyonunun 13q14 kromozomal lokusunun silinmesi nedeniyle B hücreli kronik lenfositik lösemi (KLL) içinde kaybolduğunu göstererek insan kanserinde anormal miRNA ekspresyonunun ilk kanıtını sunmuştur (Calin ve ark. 2002). Bu ilk bulgunun ardından miR-143 ve miR-145 'in kolon karsinomunda downregüle oldukları gözlenmiştir (Michael ve ark. 2003). Başka bir çalışmada let-7'nin, akciğer karsinomlarında down regüle edildiği ve ekspresyonunun restorasyonu sonucu akciğer kanseri A549 hücrelerinde hücre büyümesini inhibe ettiği gözlenmiştir (Takamizawa ve ark. 2004). İnsan kanserlerinde yapılan çalışmalar sonucu genel olarak miRNA ekspresyonunda bir azalma gözlenmiştir, bu da çoğu miRNA'ların tümör baskılayıcı olarak hareket edebileceğini düşündürmüştür. Ayrıca, zayıf farklılaşmış tümörlerin, daha çok farklılaşmış tümörlere göre daha düşük miRNA seviyelerine sahip oldukları gözlenmiş; miRNA ekspresyonundaki değişikliklerin hücresel farklılaşma derecesini gösterebileceği belirtilmiştir (Lu ve ark. 2005). Bu hipotezi destekleyerek yakın tarihli bir çalışma, miRNA'ların çoğunun, insan tümörü kaynaklı hücre hatlarında karşılık gelen dokuya kıyasla daha düşük seviyelerde eksprese edildiğini göstermiştir (Gaur ve ark. 2007). MiRNA ekspresyonunun temelini oluşturan iki protein olan Drosha ve Dicer'in yıkılmasıyla meydana gelen miRNA ekspresyonunun kaybı, in vitro hücre büyümesini arttırmıştır. Büyüyen hücreler bu iki proteinden yoksun farelere enjekte edildiğinde daha hızlı büyüyen ve daha invaziv tümörler oluşturdukları gözlenmiştir. Birlikte ele alındığında, bu sonuçlar genom çapında miRNA'ların kaybının tümör oluşumunu arttırdığını göstermektedir (Kumar ve ark. 2007).

2.3.3.1. MikroRNA'lar ve Meme Kanseri

MiRNA ekspresyonunun düzensizliği, kanser oluşumunun bir nedeni veya sonucu olabilirken, fonksiyonel çalışmalar miRNA'ların tümör başlatılması ve büyümesinde rol oynayabileceğini göstermiştir (Goh ve ark. 2016). MiRNA'lar, meme kanseri dahil olmak üzere birçok insan kanserlerinden sorumlu tutulmuştur. MiRNA'ların amplikasyonu sonucu ekspresyonları artar ve hedef gen üzerindeki kontrolü artar. MiRNa'nın hedef geni onkogen ise , kanser gelişmez ve bu miRNA *onkosüpresör-miR* adını alırken ; hedef gen tümör baskılayıcı bir gen ise, kanser gelişir ve bu miRNA *onkomiR* adını alır . MiRNA'ların delesyonu sonucu ise bu sefer hedef genin üzerindeki kontrolü azalabilir. Hedef gen bir onkogen ise, kanser gelişir (*onkomiR)*; hedef gen bir tümör supresörü ise, kanser gelişmez (*onkosüpresör-miR*). MiR-206, miR-17-5p, miR-125a, miR-125b, miR-200, let-7, miR-34 ve miR-31 gibi tümör baskılayıcı miRNA'ların kaybı ve miR-21, miR-155, miR-10b, miR-373 ve miR-520c (Tablo 2.10) gibi bazı onkogenik miRNA'ların aşırı ekspresyonu birçok meme kanserinde gözlenmiştir (O'Day ve Lal 2010).

Çeşitli mekanizmalar miRNA ekspresyonlarını değiştirebilir ve kansere neden olabilmektedir. Bu mekanizmalar özetle şu şekildedir (Bertoli ve ark. 2015);

Epigenetik mekanizmalar

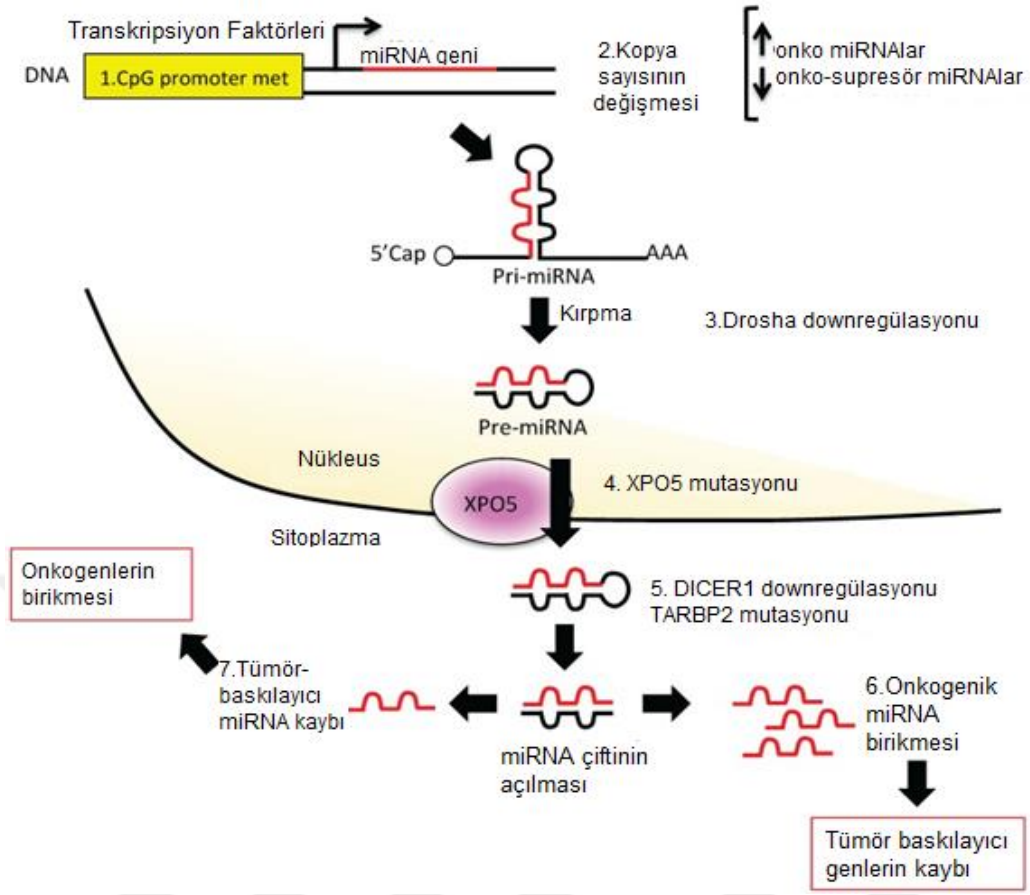
CpG adaları guanin-sitozin oranı yüksek DNA'nın promoter bölgesinde yer alan normal hücrelerde metilasyondan korunan yapılardır. Şekil 2.9, Bölüm 1 de görüldüğü gibi CpG adalarının metillenmesi miRNA ekspresyonunu değiştirebilir. Yapılan çalışmalarda meme kanserihücrelerinde bu bölgelerin anormal metillenmesi ile miRNA ekspresyonu arasında ilişki bulunmuştur (Wee ve ark. 2012). Aure ve ark., meme kanserinde let7e-3p 'yi incelemiş, bu miRNA'yı kodlayan genomik bölgenin hipometile edilmiş olduğunu ve let-7e-3p ekspresyonunun downregülasyonu ile meme kanserinin kötü prognozu arasında ilişki bulmuşlardır (Aure ve ark. 2013). Meme kanserinde değiştirilen bir başka epigenetik mekanizma ise histon asetilasyonudur. Deasetilaz inhibitörleri ile yapılan çalışmalar, asetillenmiş histonların azaltılmasının anti-onkojenik miRNA'ların ekspresyonunu azaltabileceğini göstermiştir (Scott ve ark. 2006).

Tablo 2-10: MiRNA'lar ve meme kanseri hücrelerindeki hedefleri- O'Day (2010)

MiRNA	**Hedef**	**İşlevsel Yol**
Tümör baskılayıcı miRNA'lar		
miR-206	*ESR1*	ER sinyali
miR-17-5p	*AIB1* , *CCND1* , *E2F1*	Çoğalma
miR-125a, b	*HER2* , *HER3*	Ankraj bağımlı büyüme
miR-200	*BMI1* , *ZEB1* , *ZEB2*	TGF-β sinyalizasyonu
let-7	*H-RAS* , *HMGA2* , *LIN28* , *PEBP1*	Çoğalma, farklılaşma
miR-34a	*CCND1* , *CDK6* , *E2F3* , *MYC*	DNA hasarı, çoğalma
miR-31	*FZD3, ITGA5, M-RIP, MMP16, RDX, RHOA*	Metastaz
Onkogenik miRNA'lar		
miR-21	*BCL-2, TPM1, PDCD4, PTEN, MASPİN*	Apoptoz
miR-155	*RhoA*	TGF-β sinyalizasyonu
miR-10b	*HOXD10*	Metastaz
miR-373/520c	*CD44*	Metastaz

Genetik değişiklik

Şekil 2.9'da görüldüğü gibi DNA'da meydana gelen bir değişiklik örneğin çerçeve kayması mutasyonları miRNA ekspresyonunu etkiler ve eksprese olacak kopya sayısını değiştirir. Bu tür genetik değişimler, birkaç mesajcı RNA'nın, örneğin Dicer stabilize edici protein olan TARBP2'nin mesajcı RNA'sının ekspresyonunu etkileyebilir ve bu örnek meme kanserinde görülmüştür (Lin ve ark. 2014). Ayrıca bilinen miRNA'ların yarısından fazlası, kırılgan bölgeler, minimum heterozigotluk kaybı bölgeleri, minimal amplifikasyon bölgeleri (minimal amplikonlar) veya ortak kırılma bölgeleri gibi kanserle ilişkili bölgelerde bulunur (Calin ve ark. 2004).



Şekil 2-9: MiRNA oluşumundaki adımların değişmesi ile kanser oluşması- Bertoli (2015) den değiştirilerek

MiRNA oluşum yolunda defektler

Bu aşamada meydana gelen defektler hedef mRNA'nın sentezlenmesini etkileyerek miRNA ekspresyon seviyelerini değiştirir ve hücreyi onkojenik değişiklikler için uygun hale getirir (Bertoli ve ark. 2015). Azaltılmış Dicer ve Drosha ekspresyonu (Şekil 2.9'da Bölüm 3 ve 5) yüksek dereceli meme kanseri ve daha kısa metastazsız sağkalım ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca azaltılmış Dicer ekpresyonu meme kanserinde üçlü negatif fenotiple ilişkili bulunmuştur (Dedes ve ark. 2011).

Transkripsiyonel baskı

Transkripsiyon faktörlerinin fazlalığı, tek bir miRNA'nın bile ekspresyonunu etkileyebilir. Yapılan çalışmalar miRNA'ların ve transkripsiyon faktörlerinin birlikte çalıştığını göstermektedir (Bertoli ve ark. 2015).

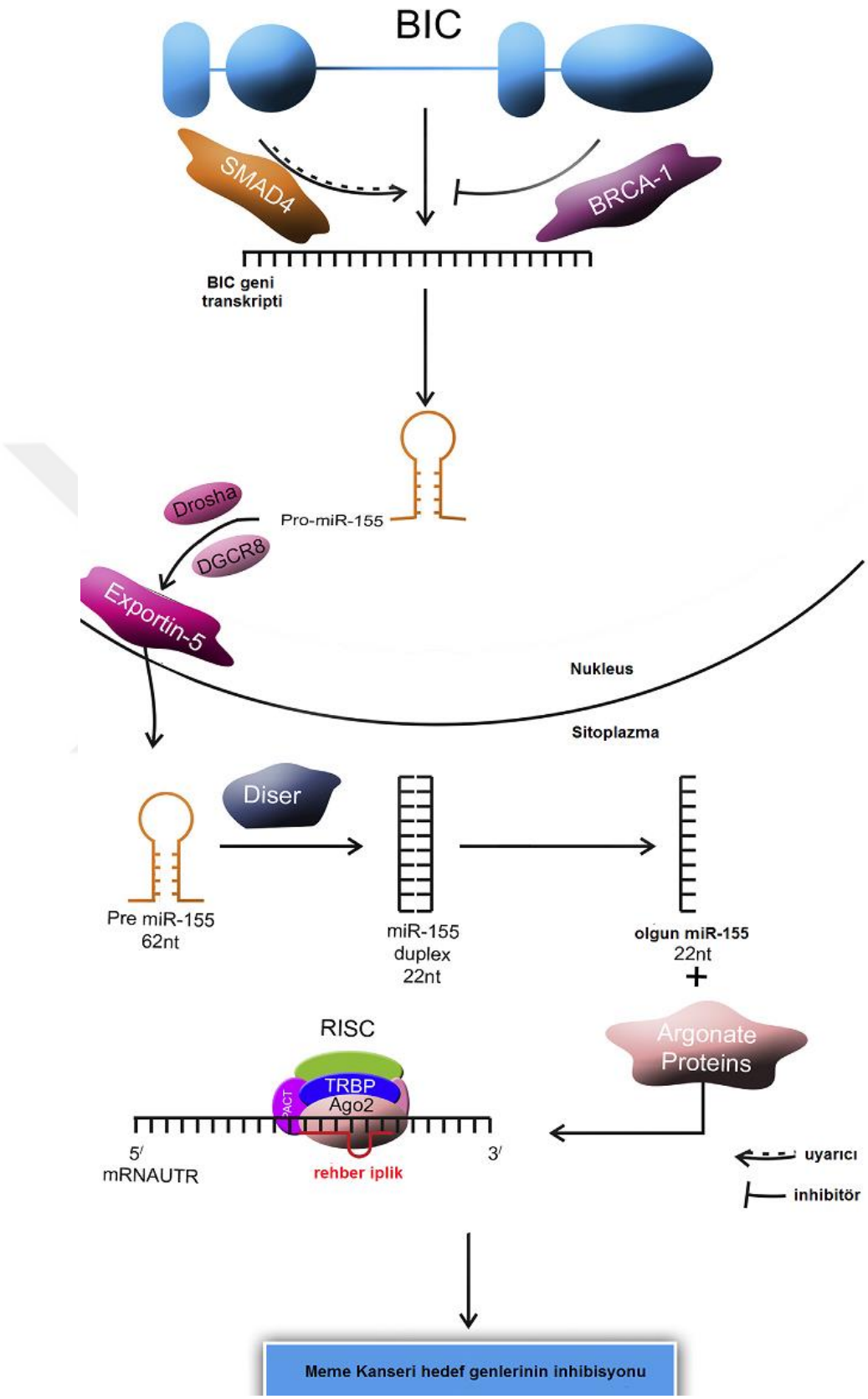
2.3.4. MikroRNA-155

MiRNA-155 (miR-155), 1989 yılında ilk olarak *BIC (B cell İntegration Cluster)* geni ile eksprese olduğu bulunmuştur. Daha sonraki çalışmalar, B hücrelerinde miR-155'i eksprese eden transgenik farelerin, lenfoma ürettiğini ve bu şekilde miR-155'in onkojenik olduğunu göstermiştir (Mashima 2015). MiRNA-155, meme kanseri dahil birçok malignitede aşırı eksprese edilir (Iorio ve ark. 2005). MiR-155, yüksek tümör derecesi, progresif evre ve lenf nodlarına metastaz ile pozitif korelasyon gösterirken, genel ve hastalıksız sağkalım ile ters korelasyon gösterir (Chen ve ark. 2012).

BIC genine ait RNA transkripti, pri-miR-155 RNA firkete (hairpin) transkriptine işlenir. BIC'in transkripsiyonu, Smad4 ile yükseltilir ve BRCA1 tarafından inhibe edilir. Pre-miR-155'in işlenmesinden sonra, olgun miR-155 Argonat proteinleri ile birleşerek RISC kompleksini oluşturur. RISC kompleksi , RhoA, FOXO3A ve SOCS1 dahil olmak üzere meme kanserinde hedef mRNA'larının translasyonunu önler (Hemmatzadeh ve ark. 2016).

Yapılan bir çalışmada normal farelerin meme bezinin epitelyal hücrelerinde miR-155 araştırılmış ve miR-155'in TGF-β/Smad4 yolu ile up-regüle olduğu görülmüştür. Aynı çalışmada farelerde miR-155'in silinmesi TGF-β ile indüklenen epitel-mezenkimal geçişi (EMT), hücre göçünü ve invazyonu önlemiştir. MiR-155'in ektopik ekspresyonu, hücre adezyonu, hareketlilik ve polarite dahil olmak üzere birçok hücresel işlemi düzenleyen bir gen olan *RhoA'*nın ekspresyonunu doğrudan inhibe ettiği gözlenmiştir. Bu bulgular, miR-155'in TGF-β/Smad4 yolu tarafından düzenlendiğini ve EMT ilerlemesini arttırmak için RhoA protein ekspresyonunu azalttığını göstermektedir. Ayrıca miR-155'in, insan primer meme karsinomundaki kanser invazivliği ile ilişkili olduğu ve invaziv tümörlerde yüksek oranda eksprese edildiği ancak invaziv olmayan kanser dokularında eksprese edilmediği gösterilmiştir (Kong ve ark. 2008).

MiR-155'in ekspresyonu, birçok insan meme kanseri hücre hattında, interlökin-6 (IL-6) ve interferon-γ (INF-γ) gibi tümör enflamasyonunu indükleyen faktörler ile de arttığı gözlenmiştir. MiR-155, sitokin sinyal baskılayıcısı 1 (Suppressor of cytokine signaling-SOCS1)'i önleyerek JAK2/STAT3 yolunun aktivitesini uyarır ve tümör büyümesine yol açar (Jiang ve ark. 2010).



Şekil 2-10: MiR-155'in meme kanserindeki rolü- Hemmatzadeh (2016)'dan değiştirilerek

MiR-155'in bir diğer hedefi pro-apoptotik transkripsiyon faktörü olan FOXO3a'dır. Çok sayıda meme kanseri hücre hattında ve tümörlerde miR-155 ve FOXO3a arasındaki negatif ilişki gösterilmiştir (Kong ve ark. 2016).

Meme kanserinde miR-155'in rolüyle ilgili en dikkat çekici bulgu BRCA1 ve miR-155 ilişkisidir. Meme kanseri duyarlılığı geni olan BRCA1, DNA hasarı onarımı ve hücre döngüsü regülasyonunda rol oynar. BRCA1'in mutasyonları, ilerleyici meme kanseri riski ile ilişkilidir. BRCA1 proteini doğrudan miR-155 promotörüne bağlanır ve miR-155 ekspresyonunu düzenler. BRCA1, *BIC* ve dolayısıyla miR-155'in ekspresyonunu baskılamak için histon deasetilaz kullanır. Dolayısıyla, miR-155'in meme kanserinin immünopatogenezinde önemli bir rol oynadığı görülmektedir (Chang ve ark. 2011).

2.3.5. Let-7c

Reinhart ve ark. let-7'yi *Caenorhabditis elegans'ta* embriyogenez sırasında hücre tipi tayini için temel bir faktör olarak tanımlamıştır (Reinhart ve ark. 2000a). Let-7 ailesi, insanlarda tanımlanan let-7a, let-7b, let-7c, let-7d, let-7e, let-7f, let-7g, let-7i, miR-98 ve miR-202 olmak üzere 10 üyeden oluşan tümör baskılayıcı miRNA ailesidir. Let-7'nin normal fizyolojik fonksiyonları arasında kas oluşumu, hücre adezyonu, gen ekspresyonu ve gelişiminin düzenlenmesi yer alır. Let-7 biyogenezi, transkripsiyon sonrası bir baskılayıcı görevi gördüğü gösterilen Lin28 tarafından düzenlenir (Wang ve ark. 2012). Let-7 ekspresyonu, akciğer kanseri, mide kanseri, kolon kanseri, ve Burkitt'in lenfoması dahil olmak üzere birçok kanser türünde down-regüle edilir. Meme kanserinde hastalığın ilerlemesinin erken bir aşamasında kaybolur (Singh ve Mo 2013).

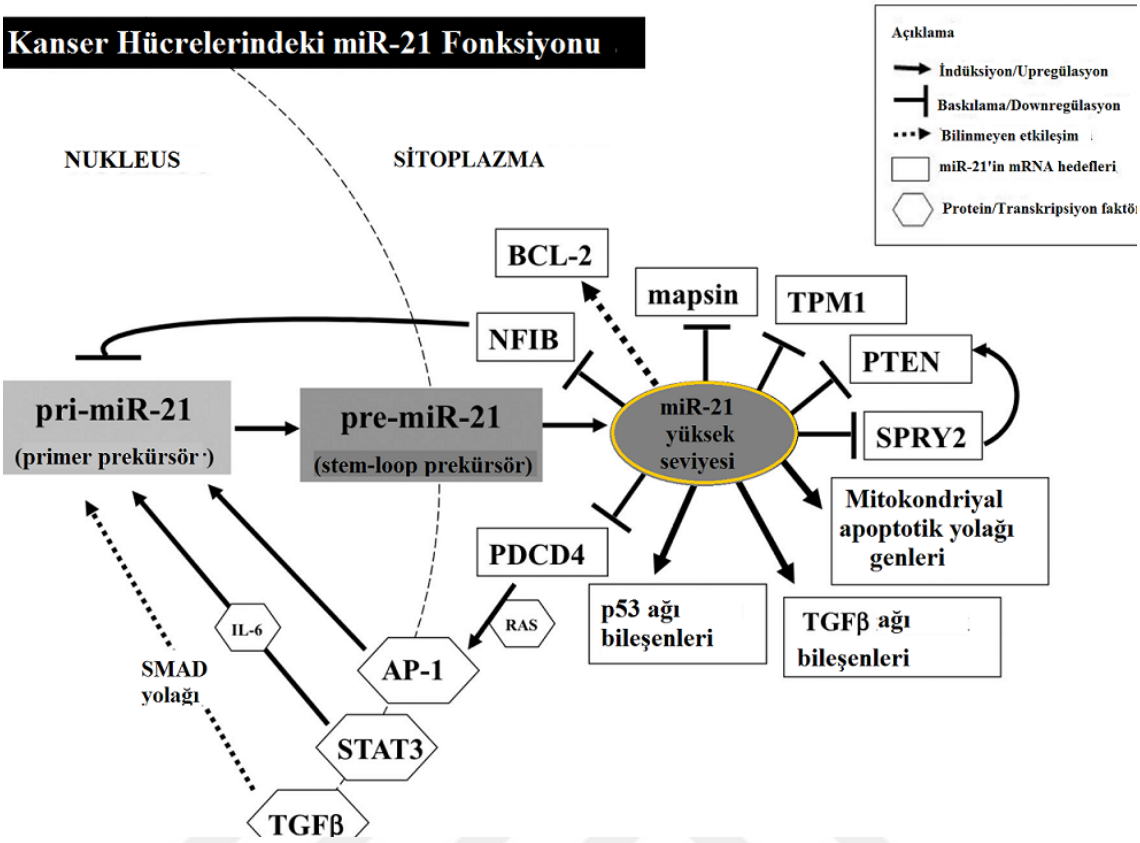
Let-7c, kodlayıcı olmayan uzun gen LINC00478 içine gömülü bir intronik miRNA olup onkogenleri hedef alarak tümör baskılayıcı olarak işlev görür. Tümör baskılayıcı rolü nedeniyle çeşitli kanserlerde ekspresyonu azalmaktadır. Let-7, RAS, MYC ve HMGA2 ve hücre döngüsünü düzenleyen genleri içeren onkogenlerin transkripsiyon sonrası ekspresyonunun negatif düzenlenmesi yoluyla kanserle ilişkilendirilmiştir (Pelosi ve ark. 2014).

2.3.6. MikroRNA-21

MiRNA-21 (miR-21) insan genomunda keşfedilen ilk miRNA'lardan biri olup 17q23.1 kromozomunda yer alır ve 72-nükleotit uzunluğundaki uzun prekürsör miR-21'i (pre-miR-21) kodlar. Hem olgun miR-21 hem de prekürsör miR-21'in dizisi, gen düzenlemesinde miR-21 için son derece korunmuş bir rol öneren değişken türlerle birlikte yüksek oranda korunmuştur (Selcuklu ve ark. 2009). MiR-21, miR-155 gibi onkogen miRNA sınıfında olup, bugüne kadar analiz edilen çoğu kanser türünü içeren birçok patolojik durumda up-regüle olduğu bildirilmiştir(Shi 2016; Krichevsky ve Gabriely 2009).

Bir onkomiR olarak miR-21, fosfataz ve tensin homologu (PTEN), fosfoinositid 3-kinaz (PI3K), B hücreli translokasyon geni 2 *(BTG2)* ile bozulmuş apoptoz, programlanmış hücre ölümü proteini 4 *(PDCD4);* pro-apoptotik FAS ligand (FasL), F-box alt familyası 1üyesi (FBXO11) ve metaloproteinaz inhibitörü 3 (TIMP3); ve PTEN, TIMP3, tropomiyozin 1 (TPM1) nedeniyle anjiyogenez ve invazyon, enflamasyon ve genetik dengesizlik ile ilgili diğer bazı yollar gibi tümör gelişim yollarının tüm ana özelliklerini etkiler (Shi 2016).

MiR-21'in anormal ekspresyonu ilk olarak glial kökenli en habis beyin tümörü olan insan glioblastomunun miRNA profillemesinde gösterilmiştir. MiR-21 ekspresyonu kontrollere ve hastalardan alınan tümör dokularına karşın test edilen tüm yüksek dereceli glioma numunelerinde yüksek bulunmuştur (Chan ve ark. 2005) (Krichevsky ve Gabriely 2009). 6 tür solid tümör ve 177 normal kontrol dokusunu temsil eden 363 örnekten sağlanan 540 insan numunesindeki büyük ölçekli miRNA ekspresyonu profilinde; miR-21, meme, kolon, akciğer, pankreas, prostat ve mide tümör tiplerinde up-regüle olmuştur (Volinia ve ark. 2006). MiR-21 ayrıca B/T hücreleri, monositler, makrofajlar ve dendritik hücreler dahil olmak üzere bağışıklık sisteminin hematopoetik hücrelerinde de eksprese edilir. Bu nedenle yüksek miR-21 seviyelerinin, immün hücre aktivasyonunun bir işareti olduğu düşünülmektedir (Sheedy 2015). Patolojik nekroz ile ilgili olarak, miR-21, ölüm reseptörü aracılı intrinsik apoptotik yol ile ilişkili tümör baskılayıcı genleri negatif olarak düzenleyerek hücresel nekrozu arttırdığı gözlenmiştir (Ma ve ark. 2015).



Şekil 2-11: Kanser hücrelerinde miR-21'in etkileşimleri-Selcuklu (2009)'dan değiştirilerek

Sadece miR-21'in baskılanmasının tümör oluşumunu etkileyip etkilemediğini öğrenmek için araştırmacılar, MCF-7 hücrelerinde miR-21'i antagonize etmişler ve daha sonra bunları dişi farelerin memelerine enjekte etmişlerdir. Anti-miR-21 ile transfekte edilmiş MCF-7 hücrelerinden türetilen tümörlerin, negatif kontrol ile transfekte edilen hücrelerden türetilenlerin boyutunun yarısı kadar olduğu bildirilmiştir. Bu sonuç tümör büyümesinin azalmasının, anti-miR-21'in neden olduğu düşük proliferasyondan kaynaklanabileceğini ve miR-21'in tümör oluşumunda önemli rol oynadığını göstermiştir. Aynı zamanda anti-miR-21 ile transfekte edilmiş MCF-7 hücrelerinde ve ayrıca bu hücrelerden türetilmiş tümörlerde Bcl-2 proteininin daha düşük ekspresyonuyla ilişkilendirilen MCF-7 hücrelerinde apoptoze neden olmuştur. Bcl-2'nin miR-21'in dolaylı olarak hedefi olabileceği ileri sürülmüştür (Si ve ark. 2007).

Meme kanserinde miR-21 olmayan MCF-7 hücrelerinin dizi ekpresyon analizi yapılmış ve miR-21'in mRNA hedefleri belirlenmek istenmiştir. MiR-21 ve tümör baskılayıcı bir protein olan p53 arasında bağlantı gösterilmiş, ayrıca başka tümör baskılayıcı protein olan programlanmış hücre ölümü proteini 4 (PDCD4)'ün miR-21

tarafından düzenlendiği görülmüştür. Meme kanserinde miR-21'in tümör baskılayıcı PDCD4'ün ekspresyonunu inhibe ettiği ve miR-21 için fonksiyonel bir hedef olduğu belirtilmiştir (Frankel ve ark. 2008).

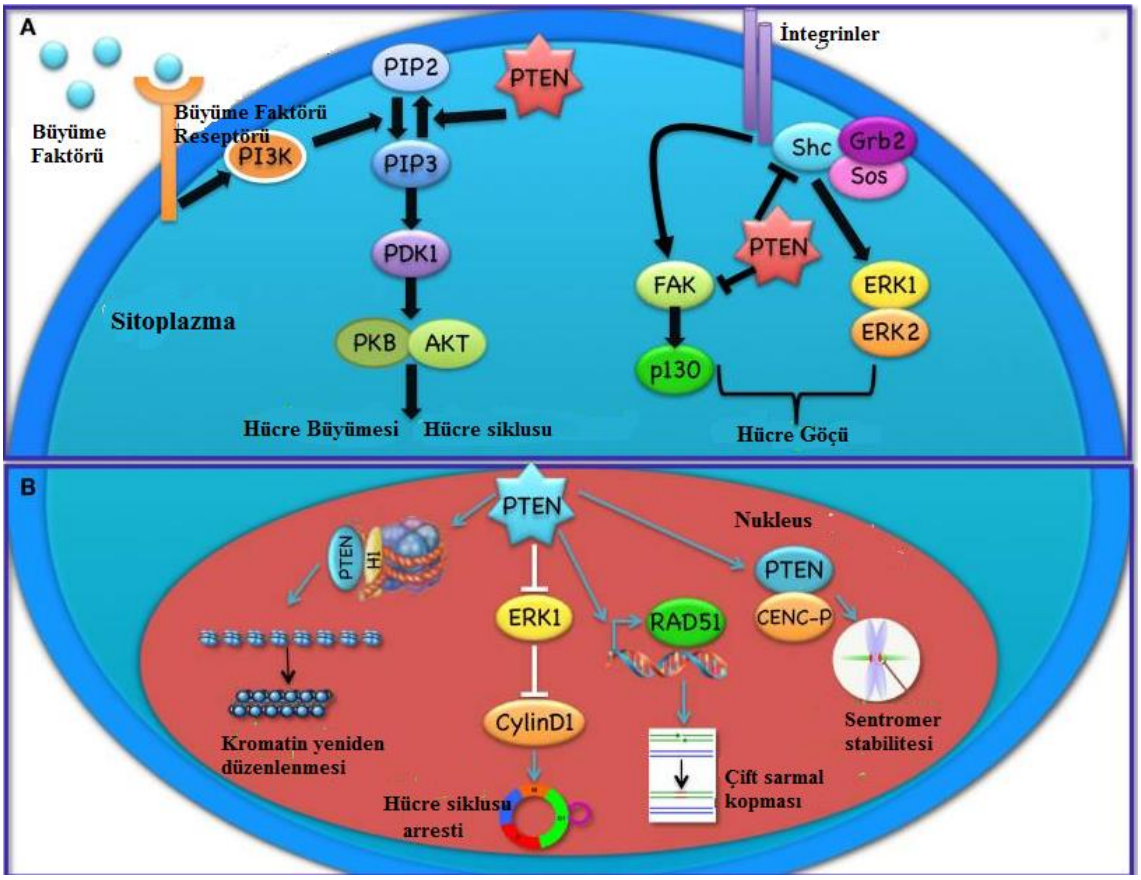
MiR-21'in bir diğer önemli hedefi, tümör baskılayıcı gen *PTEN* olup *TPM1* ve *PDCD4'*e ek olarak, miR-21'in doğrudan hedefi olarak *maspin* de tanımlanmıştır. Metastatik meme kanseri MDA-MB-231 hücrelerinde yapılan bu çalışmada miR-21'in baskılanması sonucu invazyonun ve akciğer metastazının önemli derecede azaldığı bulunmuştur. Bu bulguyla uyumlu olarak TPM1'in ektopik ekspresyonu, hücre invazyonunu belirgin şekilde düşürmüştür. İnvazyon ve metastazda rol oynayan PDCD4 ve maspin miR-21'in önemli hedeflerinden olup MDA-MB-231 hücrelerinde invazyonu azaltmışlardır. Meme kanseri tümörlerinde bu iki protein ile miR-21'in ters orantılı olması, PDCD4 ve maspin'in bu tümörlerde miR-21 tarafından düzenlendiğini göstermiştir (Şekil 2.11). Bütün bu bilgiler ışığında onkojenik miR-21'in sadece tümör büyümesinde değil, aynı zamanda çoklu tümör/metastaz baskılayıcı genleri hedef alarak invazyon ve tümör metastazında bir rolü olduğunu ortaya koymaktadır. Bu nedenle miR-21'in baskılanması kanserlerin tedavisi için yeni bir yaklaşım sağlayabilir (Zhu ve ark. 2008).

2.3.7. Fosfataz ve Tensin Homoloğu (PTEN)

PTEN, hücre büyümesi, proliferasyon ve hücre migrasyonu gibi birçok hücresel fonksiyonu düzenleyen tümör baskılayıcı bir gendir. 1997 yılında iki farklı çalışma grubu tarafından PTEN (ayrıca MMAC1) tümörlerde ekspresyonunun kaybolmasıyla bulunmuştur. Li ve ark. tarafından insan beyni, prostat ve meme kanserinde yapılan çalışmada 10. kromozomda silinmiş bir bölgeye fosfataz ve tensin homologu adını vermişlerdir (Li ve ark. 1997). Steck ve ark. ise PTEN'i çoklu gelişmiş kanserde mutasyona uğramış (mutated in multiple advanced cancers 1-MMAC1) olarak adlandırmış ve protein fosfatazların katalitik alanına benzer bir homolojiye sahip motifler bulmuşlardır (Steck ve ark. 1997).

PTEN'in ana fonksiyonu, fosfatidilinozitol 3,4,5-trifosfat'ı fosfataz aktivitesi ile defosforile ederek fosfatidilinozitol-3-kinaz (PI3K) sinyal yolunu inhibe etmektir. PI3K sinyal yolu, hücre metabolizması, hayatta kalma, proliferasyon, apoptoz, büyüme ve hücre migrasyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynar (Şekil 2.12)(Milella ve ark. 2015). Bu nedenle, PTEN, PI3K yolunu baskılayarak tümör baskılayıcı olarak görev

yapar ve tümör büyümesini inhibe eder (Brandmaier ve ark. 2017). PTEN'in genetik değişiklikleri, hücre proliferasyonunun, sağkalımın, farklılaşmanın, enerji metabolizmasının ve hücresel yapı ve hareketliliğin düzensizleşmesine yol açmaktadır (Chen ve Guo 2017).



Şekil 2-12: Sitoplazmik ve nükleer PTEN fonksiyonları- Milella (2015)'dan değiştirilerek

PTEN genindeki genetik değişiklikler meme başta olmak üzere endometriyal karsinomlar, merkezi sinir sistemi, prostat, mesane tümörleri gibi çeşitli neoplazilerde tanımlanmıştır. PTEN geni meme tümör oluşumunda ve progresyonunda etkisi bilinen bir gendir. PTEN genindeki kalıtsal mutasyonlar Cowden hastalığı olarak bilinen ve tüm yaşam boyunca meme kanseri gelişme riski %25-50 arasında olan nadir, otozomal dominant, ailesel kanser sendromları ile de ilişkilidir (Li ve ark. 2017).

PTEN, kanser, nörogelişimsel bozukluklar, kardiyovasküler disfonksiyon ve benzeri birçok hastalığın patogenezinde, hücre içi sinyal yolu, özellikle PI3K/Akt'ı tetikleyerek önemli rol oynar. Bu nedenle, PTEN, çeşitli hastalıklar için bir biyobelirteç olabilir ve PTEN'in anormal ekspresyon seviyesini hedef almanın, yeni terapötik yollar

sunması beklenebilir. Son zamanlarda, kodlamayan RNA'ların (ncRNA'lar) protein ekspresyonunu düzenlediği bildirilmiştir ve PTEN ekspresyonunun epigenetik veya post-transkripsiyonel olarak ncRNA'lar tarafından kontrol edilmektedir (Li ve ark. 2018).

Kodlamayan RNA'lardan miRNA'lar, birçok tümörde PTEN ekspresyonunun düzenlenmesine katkıda bulunur. Kanserde en sık artan regüle edilmiş mikroRNA'lardan biri olan onkojenik miR-21'in, meme, over ve akciğer kanseri de dahil olmak üzere spesifik kanserlerde PTEN'i doğrudan hedeflediği ve ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir (Meng ve ark. 2007; Zhang ve ark. 2010). PTEN, miR-21 tarafından negatif olarak düzenlenen önemli hedeflerden biridir. PTEN'in 3′UTR'si, miR-21'in komplementer dizisi ile eşleştirilebilen bir bölge içerir. Makrofajlardan aktarılan ekzozomal miR-21'in, gastrik kanser hücrelerinde PTEN seviyesini düşürerek hücre apoptozinin baskılanması ve PI3K/AKT sinyal yolunun aktivasyonu ile sonuçlanmıştır. MiR-21'in inhibisyonu, baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomasında (HNSCC) PTEN protein seviyesini arttırarak epitelyal mezenkimal geçişi (EMT) tersine çevirmiş, hücre çoğalması ve hareketliliğinin baskılanmasına neden olmuştur (Li ve ark. 2018).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Toplanması

Çalışmada kullanılacak hasta ve kontrol örnekleri için öncelikle Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Etik kuruluna başvuru yapıldı ve onay (Tarih ve Sayı: 08/11/2017-419807) alındıktan sonra hasta örnekleri toplanmaya başlandı. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi hastanesinde genel cerrahi polikliniğine başvuran; meme kanseri ve idiyopatik granülamatöz mastit teşhisi almış olan hastalar çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya katılan hasta ve kontrollere; önce yapılacak araştırma hakkında bilgilendirme yapıldı daha sonra bilgilendirilmiş hasta onam formu okutularak çalışmaya katıldıkları için onayları alındı.

3.1.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Özellikleri

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi genel cerrahi polikliniğinde meme kanseri tanısı ile takipli 45 solid tümörlü hasta, İGM tanısı konmuş 50 hasta ile aynı demografik özelliklere sahip 48 sağlıklı gönüllü kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi.

Çalışmaya alınma kriterleri:

Meme kanseri ve İGM hastalarından,

- 18 yaş üstü cinsiyeti kadın olanlar,
- Eski ya da yeni meme kanseri tanısı almamış olanlar,
- Memedeki şüpheli lezyondan kalın iğne biyopsisi ya da apse duvarından alınan dokunun patolojik incelemesinin sonucunda; granülomatoz reaksiyon yapabilen tüberküloz, mantar ve parazitif reaksiyonlar gibi enfeksiyoz ve sarkoidaz, Wegener granülomatozu, yabancı cisim gibi non-enfeksiyoz etkenler saptanmamış olanlar,
- Mikrobiyolojik olarak alınan kültür örneklerinin steril olduğu teyit edilenler,
- Histopatolojik değerlendirmede meme lobüllerini bozan enflamatuvar reaksiyon (kronik lobulit) ile doku içinde epiteloid histiyositler, lenfositler, polimorfonükleer lökositler ve çok çekirdekli Langhans tipi dev hücreler ve plazma hücrelerinin gözlenen ve meme lobüllerine yerleşmiş non-kazeifiye granülomatoz enflasmasyonu bulunanlar çalışmaya alınmıştır.

Kontrol grubu; sağlıklı olup kendi isteğiyle rutin kontrol olan veya meme ağrısı şikâyeti ile hastaneye başvurup semptomları nedeniyle yapılan analizler sonucunda herhangi bir kitle veya apse gözlenmeyen sağlıklı olduğu tespit edilen kadınlar dahil edilmiştir.

Çalışmadan dışlanma kriterleri:

- Başka bir malignite öyküsü olan kadınlar
- Diabetes mellitus hastalığı olan kadınlar
- Hamile ya da emziren kadınlar
- Kemoterapi ya da radyoterapi görmüş/gören kadınlar

3.1.2. Örnek Toplama ve Analizlenen Parametreler

Meme kanseri, İGM ve kontrol grubunu oluşturan sağlıklı bireylerden 12 saat açlık sonrası mor kapaklı EDTA'lı ve sarı kapaklı vakumlu jelli kan tüplerine venöz kan örneği alınarak 3000 g'de 15 dk santrifüj edildi. Tüplerin üstünde kalan serum ve plazma ependorflara ayrılarak izolasyona kadar -80 ^{o}C derin dondurucuda saklandı.

Çalışma ile ilişkili olarak demografik veriler (yaş, kilo, boy, vücut kitle indeksi), kan glukoz düzeyleri, tam kan sayımı (hemogram), plazma üre, kreatinin, karaciğer enzimleri (AST, ALT), C-reaktif protein, kanser antijenleri (CEA, CA 19-9, CA 15-3, CA 125), patoloji raporları ve diğer kan sonuçları hasta ve kontrollerin dosyalarından temin edildi.

3.2. Kullanılan Araçlar ve Cihazlar

- Santrifüj
- Mikroplate Okuyucu
- Soğutmalı Santrifüj (Thermo Scientific)
- Etüv (Thermo Scientific)
- Derin dondurucu (-80°C RUA Instruments)
- Vortex (Girdap Elektromag)
- RT- PCR cihazı (StepOnePlus)

- Biorad CFX Connect
- Nanodrop Spektrofotometre (Thermo Scentific)
- Mikropipetler ve pipet uçları
- Ependorflar (0,5 ml, 1,5 ml ve 2 ml)

3.3. Fosfataz ve tensin homoloğu (PTEN) düzeylerinin ölçümü

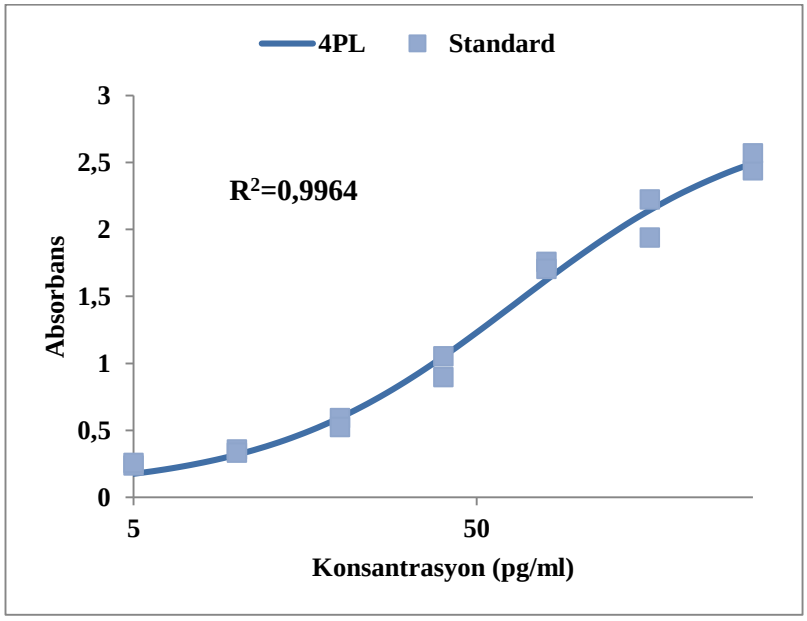
Prensip: PTEN düzeylerinin belirlenmesinde ELISA ticari kit (Abbkine, Inc, Çin, Katalog No: KTE62888, Lot No: ATSFE220) kullanıldı. PTEN ELISA kitinde örneklerde bulunan PTEN miktarını ölçmek için iki bölgeli sandviç ELISA yöntemi kullanılır. PTEN için spesifik bir antikor, bir mikroplaka üzerine önceden kaplanmıştır. Standartlar ve örnekler kuyucuklara pipetlenir ve mevcut herhangi bir PTEN immobilize antikor tarafından bağlanır. Bağlanmayan herhangi bir maddenin uzaklaştırılmasından sonra, HRP-Konjugat Human PTEN saptama antikoru kuyucuklara ilave edilir. Bağlanmayan HRP reaktiflerini uzaklaştırmak için yapılan bir yıkamayı takiben, kuyucuklara bir Kromojen çözeltisi ilave edilir ve başlangıç aşamasında bağlanan PTEN miktarıyla orantılı olarak renk oluşur. Renk gelişimi durdurulur ve rengin yoğunluğu ölçülür.

ELISA kitinin içeriği:

- PTEN antikoru kaplı 96 kuyucuklu mikroplaka (mikroplate)
- PTEN standart çözeltisi
- HRP- Konjugat PTEN tespit antikor çözeltisi
- Standart dilüsyon çözeltisi
- Örnek dilüsyon çözeltisi
- Kromojen A çözeltisi
- Kromojen B çözeltisi
- Yıkama çözeltisi
- Stop (reaksiyonu durdurma) çözeltisi

Uygulama: Kitin içindeki malzemeler kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi. 30X yıkama çözeltisi distile su ile 1X olacak şekilde seyreltildi. Seri dilüsyon ile 320 pg/ml ana standart çözeltisinden 160, 80, 40, 20, 10 pg/ml çözeltileri hazırlandı. Standart için ayrılan kuyucuklara standart çözeltilerinden 50 şer µL, diğer kuyucuklara örneklerden 10 µL, üzerlerine 40 µL örnek dilüsyon çözeltisinden eklendi. Kör kuyucuğuna hiçbir şey konulmadı. Mikroplaka kapayıcı ile kapatılıp 37 °C'de 45 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında tüm kuyulardaki örnekler ve standartlar aspire edildi. Yıkama solüsyonu ile beş kez yıkama yapıldı. Kör kuyucuk hariç, her kuyucuğa HRP-Konjugat tespit antikoru 50 µL eklendi. Mikroplaka kapayıcı ile tekrar kapatılıp 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası yıkama ve aspirasyon işlemi beş kez tekrarlandı. Her kuyucuğa kromojen A çözeltisi ve arkasından kromojen B çözeltisi eklendi. Hafifçe karıştırılıp ve 15 dakika boyunca 37 °C'de karanlıkta inkübe edildi. Bu aşamada mikroplaka ışıktan korundu. İnkübasyon sonrası her kuyucuğa 50 µL Stop çözeltisi eklendi. Kuyucuklardaki rengin maviden sarıya değişimi gözlemlendi. Ardından Optik Yoğunluğu (O.D.), 450 nm'de spektrofotometre yardımıyla okundu.

Hesaplama: Elde edilen standart absorbansları 4-parametreli lojistik grafikte yerine konularak örnek konsantrasyonları bu grafik yardımı ile pg/ml olarak hesaplandı.



Şekil 3-1: PTEN absorbans- konsantrasyon grafiği

3.4. MikroRNA Analizi

3.4.1. MikroRNA İzolasyonu

-80 ºC'den örnekler çıkarılarak sırasıyla -20 ºC, +4 ºC ve oda ısısına alınarak kademeli olarak çözdürüldü. miRNA izolasyonu için ticari kit (Macherey-Nagel GmbH& Co. KG, Almanya, Katalog no: 740981.250) kullanıldı.

MikroRNA izolasyon kitinin içeriği:

- Lizis Tamponu MLP (Guanidinyum tiyosiyanat %45–60)
- Protein Çöktürme Tamponu MPP (Çinko klorür %10–25)
- rDNase için Reaksiyon Tamponu
- rDNase, RNase-free (liyofilize)
- Yıkama Tamponu MW1 (Ethanol %)35–55
- Yıkama Tamponu MW2 (Konsantre)
- RNase-free H2O
- NucleoSpin® miRNA Kolonları
- Toplama Tüpleri (1,5 mL)
- Toplama Tüpleri (2 mL)
- Toplama Tüpleri (2 mL, kapaklı)

Kimyasallar:

- % 96–100 ethanol
- İzopropanol

Uygulama: İzolasyona başlamadan önce aşağıdaki solüsyonlar hazırlandı.

Yıkama Tamponu MW2: 250 testlik kit için; %96-100 etanolden 400 ml yıkama tamponuna MW2 konsantresine eklendi.

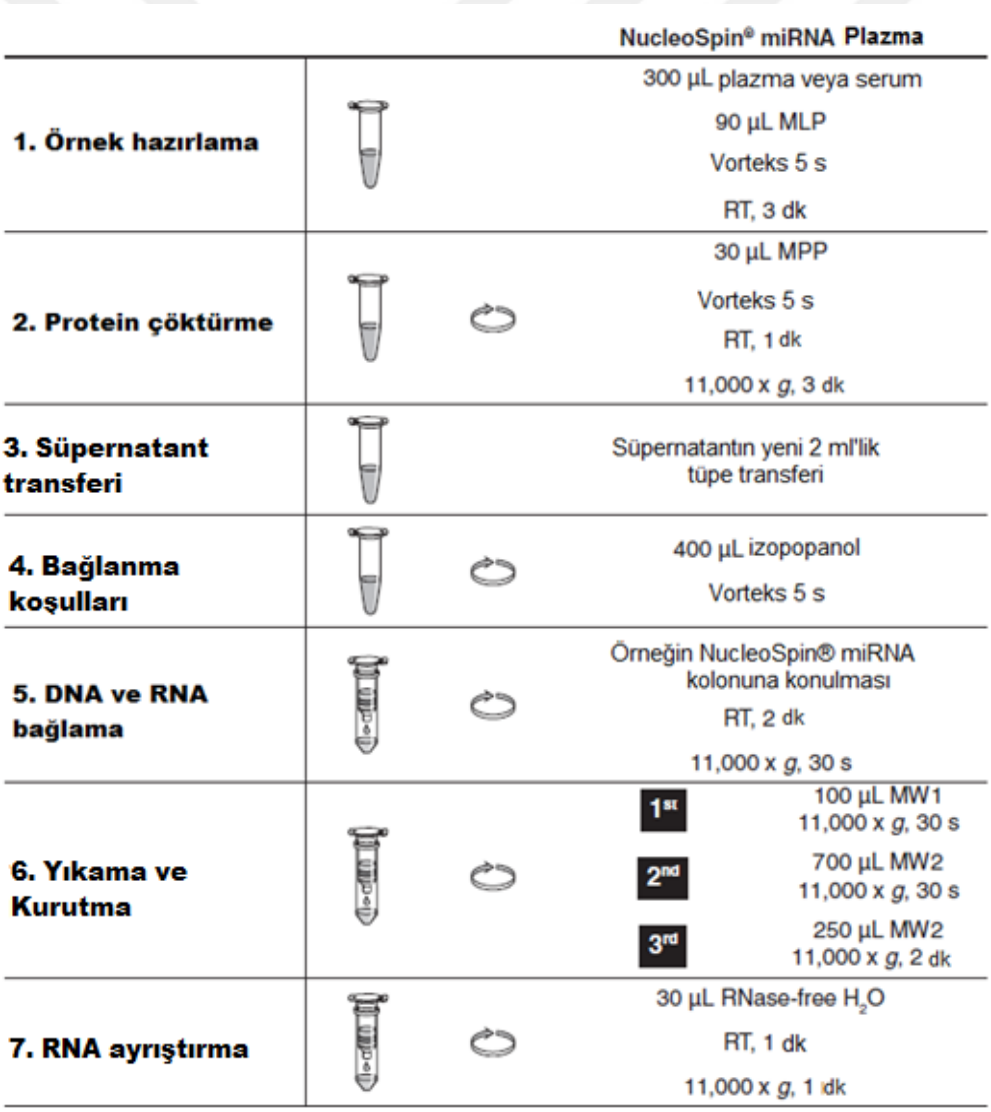
RNase-free rDNase (liyofilize): 250 testlik kit için; 5 adet ayrı şişe/falkona 3 mL Reaksiyon Tampon hacmini rDNase şişesine ekledikten sonra oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildi. RDNase'i tamamen çözmek için şişe/falkon yavaşça döndürüldü.

RDNase mekanik çalkalamaya duyarlı olduğundan, yavaşça karıştırmaya dikkat edildi. Solüsyon alikotlanıp -20 ° C'de saklandı.

1. **Örnek Hazırlama**

- 300 µL örnek üzerine 90 µL Lizis Tamponu MLP eklendi ve 5 saniye vortekslendi.
- 3 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi (18–25 °C).

NOT: Kısa bir protein digestion aşaması, özellikle düşük kaliteli hemolizli plazma için miRNA verimini arttırabilir. 30 µL plazmaya 10 µL Proteinaz K eklendi. 37 ° C'de 10 dakika inkübe edildi.



Şekil 3-2: MiRNA izolasyonunun şematik özeti (Macherey-Nagel, 2015)

2. Protein Çöktürme

- 30 µL protein çöktürme tamponu MPP eklendi ve 5 saniye vortekslendi.
- 1 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi (18–25 °C).
- 11,000 xg de 3 dakika santrifüjlendi.

3. Süpernatant Transferi

- Berrak süpernatant yeni 2 mL kapaklı tüpe aktarıldı.

4. Bağlanma Koşulları

- 400 µL izopropanol eklendi ve 5 saniye vortekslendi.

5. DNA ve RNA Bağlama

- NucleoSpin® miRNA Kolonu 2 mL toplama tüpüne konuldu. Daha sonra örnek kolona yüklendi. 2 dakika oda sıcaklığında (18–25 °C) inkübe edildi.
- 11,000 xg de 30 saniye santrifüj edildi.
- Alttaki sıvı dökülüp ve kolon tekrar toplama tüpüne yerleştirildi**.**

6. Yıkama ve Kurutma

1.Yıkama

- 100 µL Yıkama Tamponu MW1 NucleoSpin® miRNA kolonuna eklendi.
- 11,000 xg de 30 saniye santrifüj edildi.
- Alttaki sıvı dökülüp, kolon tekrar toplama tüpüne yerleştirildi.

2.Yıkama

- 700 µL Yıkama Tamponu MW2 NucleoSpin® miRNA kolonuna eklendi.
- 11,000 xg de 30 saniye santrifüj edildi.
- Alttaki sıvı dökülüp, kolon tekrar toplama tüpüne yerleştirildi.

3.Yıkama

- 250 µL Yıkama Tamponu MW2 kolona eklendi**.**
- Tamamen kuruması için 11,000 xg de 2 dakika santrifüj edildi**.**

7. DNA ve RNA'yı Ayrıştırma

- NucleoSpin® miRNA kolonu yeni 1,5 mL olan toplama tüpüne yerleştirildi.
- 30 µL RNase-free H_2O kolona eklendi.
- 1 dakika oda sıcaklığında (18–25 °C) inkübe edildi.
- Kapak kapatılıp 11,000 x g de 1 dakika santrifüj edildi.

3.4.2. RNA miktar tayini

RNA konsantrasyonunun ve saflığının tespit edilmesi için NanoDrop spektrofotometre cihazı kullanıldı. 260 ve 280 nm dalga boyunda ışığı soğurma (OD-optik dansite) ölçümü yapılarak her örnekteki RNA miktarı hesaplandı. A260/A280 değeri 1,8-2 arasında olanlar çalışmaya dâhil edildi.

3.4.3. Komplementer DNA (cDNA) sentezlenmesi

RNA eldesinden sonra diğer bir işlem olan komplementer DNA (cDNA) sentezi için hazır ticari kitler kullanıldı. cDNA sentez kiti (Jena Bioscience, Almanya, Katalog no: PCR511) ve Suarge Biyoteknoloji firmasının (Katalog no: SUA-MIREXs, Türkiye) miRNA qPCR SL Assay Kit içeriğindeki miRNA'ya özgü Real Time primeri kullanılarak cDNA sentezi gerçekleştirildi.

cDNA sentez kitinin içeriği:

- SCRIPT Revers (Ters) Transkriptaz (200 ünite/µl)
- SCRIPT RT Tamponu (x5 konsantre)
- dNTP karışımı (10 mM)
- DTT stok çözeltisi (100 mM)
- Oligo-dT 20 primer (100 µM)
- Random Hekzamerler V (100 µM)
- RNase İnhibitor (40 ünite/µl)
- Pozitif Kontrol RNA (10 ng/µl)
- RNase-free su

cDNA sentezi öncesi tüm RNA konsantrasyonları eşitlendi. Tüm işlemler buz içerisinde yapıldı. Toplam hacim 20 µL olacak şekilde reaksiyon örnek başına aşağıdaki Tablo 3.1 'deki gibi gerçekleştirildi.

Tablo 3-1: cDNA sentezi için reaksiyon karışımı

Reaksiyon Bileşenleri	Hacimleri (µL)
RNAse free su	10
Script RT tamponu	4
dNTP Karışımı	1
let-7c, miR-21, miR-155, RNU44 miRNA spesifik primerler	Her biri 0,25 toplam 1
DTT	1
RNAse İnhibitor	0,5
RT Enzimi	0,5
RNA	2

Hazırlanan reaksiyon karışımı pipetaj yapıldıktan sonra kuyucuklara dağıtıldı ve ardından RNA ürünleri dağıtıldı. 96 kuyucuklu mikroplaka içine konulan kontrol ve örnek karışımları Biorad CFX Connect cihazına konularak reaksiyon aşağıdaki gibi gerçekleştirildi. Elde edile cDNA ürünleri -20 ºC'de saklandı.

Sıcaklık	Süre
42 ºC	10 dakika
50 ºC	60 dakika
70 ºC	10 dakika

3.4.4. Real-Time PCR ile mikroRNA ekspresyon analizleri

cDNA eldesinden sonra diğer bir işlem olan Real-time PCR işlemi için hazır ticari kitler kullanıldı. Jena Bioscience firmasının (Almanya, Katalog no: PCR 372) qPCR GreenMaster with UNG/lowROX kiti ve Suarge Biyoteknoloji firmasının (Türkiye, Katalog no: SUA-MIREXs) miRNA qPCR SL Assay Kit içeriğindeki Tablo 3.2'de gösterilen miRNA'ya özgü qPCR primerleri kullanılarak RT-PCR reaksiyonları

hazırlandı. Tüm işlemler buz içerisinde gerçekleştirildi. Toplam hacim 20 µL olacak şekilde reaksiyon örnek başına aşağıdaki Tablo 3.3' deki gibi gerçekleştirildi.

Tablo 3-2: MikroRNA'lara özgü qRT-PCR'da kullanılan primer dizileri

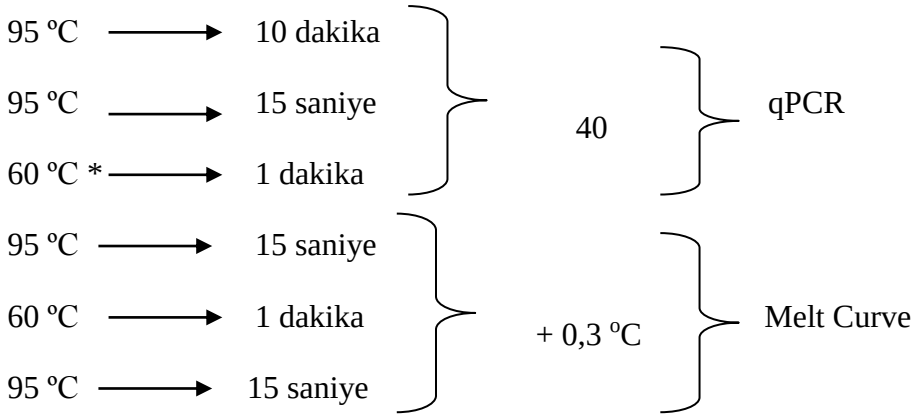
Primer	**Dizi (Revers Transkripsiyon)**
miR-155	GAAAGAAGGCGAGGAGCAGATCGAGGAAGAAGACGGAAGAATGT GCGTCTCGCCTTCTTTCAACCCCTA
let-7c	GAAAGAAGGCGAGGAGCAGATCGAGGAAGAAGACGGAAGAATGT GCGTCTCGCCTTCTTTCAACCATAC
miR-21	GAAAGAAGGCGAGGAGCAGATCGAGGAAGAAGACGGAAGAATGT GCGTCTCGCCTTCTTTCTCAACATC
RNU44	GAAAGAAGGCGAGGAGCAGATCGAGGAAGAAGACGGAAGAATGT GCGTCTCGCCTTCTTTCAGTCAGTT
Primer	**Dizi (Forward)**
miR-155	GCGGTTAATGCTAATCGTGATA
let-7c	GCGGTGAGGTAGTAGGTT
miR-21	GCGGTAGCTTATCAGACTGATGT
RNU44	CCTGGATGATGATAAGCAAATG
Universal Reverse	CGAGGAAGAAGACGGAAGAAT

Tablo 3-3: Real-Time PCR reaksiyon karışımı

Reaksiyon Bileşenleri	**Hacimleri (µL)**
PCR grade Su	7,3
Real Time Master Mix	10
Forward Primer	0,6
Reverse Primer	0,6
cDNA	1,5

Reaksiyon koşulları ve cihazda yapılan ayarlamalar üretici firma talimatlarına göre uygulandı. Hazırlanan Real-Time PCR standart ve örnek karışımları, 96 kuyucuklu

mikroplaka içine 3 tekrar olarak dağıtıldı ve StepOnePlus Real-time PCR cihazında reaksiyon aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi.



* Çalışmada miRNA'ların ekspresyon düzeylerini belirlemek için SYBR green temelinen dayalı RT-PCR yöntemi uygulandı. Cihaz üzerinde SYBR green deteksiyon seçildi ve deteksiyon adımı olarak 60 ºC belirlendi.

Floresan değerlerinin eşik değerini geçtiği noktaya eşik döngüsü (cycle threshold, Ct, Cp) denir. Ct değeri, sistemin floresan miktarındaki artışı farketmeye başladığı ve PCR ürününün log-lineer fazda eksponensiyal olarak artmaya başladığı zamandır. Cihazdan elde edilen Ct değerleri ilk önce endojen kontrol RNU44 ile normalize edildi daha sonra meme kanseri ve İGM grubundaki kat değişimleri kontrol grubuna göre değerlendirilerek analiz edildi.

3.5. Sonuçların değerlendirilmesi ve istatistiksel analizi

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS v.20 paket programı kullanıldı. Tanımlayıcı istatistiklerde kategorik değişkenler frekans (n) ve yüzde(%) ile ifade edilirken; sürekli değişkenler ortalama ± standart sapma ile ifade edildi. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu; Skewness, kurtousis değerleri, normalite testleri ve histogramlarına göre karar verildi.

Kategorik değişkenlerin analizinde Ki-kare testi ve Fisherin kesin testi kullanıldı. Bağımsız iki grubun normal dağılmayan sürekli değişkenlerinin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Bağımsız ikiden fazla grup arasında sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında normal dağılıma uymadığı durumlarda Kruskall-Wallis testi kullanıldı; farkın kaynaklandığı grupların belirlenmesi amacıyla düzeltilmiş p değerleri kullanıldı.

Sürekli değişkenlerin birbiriyle olan ilişkisini belirlemek amacıyla Spearman Korelasyon analizi uygulandı. $2^{-\Delta Ct}$ yöntemi ile belirlenen serum miRNA ekspresyon düzeyleri ile prognostik faktörler arasındaki ilişki ROC analizi yapılarak değerlendirildi. ROC analizi sonucunda eğri altında kalan alan (AUC), duyarlılık (sensitivite) ve özgüllük (spesifite) hesaplandı. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ değeri kabul edildi.

MiRNA'ların ekspresyon düzeylerindeki değişimleri hesaplamak için her bir örnek için ortalama Ct değerleri kullanıldı. Hedef genin Ct değerinden normalizasyon için kullanılan RNU44 geninin Ct değeri çıkarılarak rölatif ΔCt_{hasta} ve $\Delta Ct_{kontrol}$ değerleri hesaplandı.

$$\Delta Ct_{hasta} = (Ct_{hedef\ gen} - Ct_{referans\ gen})$$

$$\Delta Ct_{kontrol} = (Ct_{hedef\ gen} - Ct_{referans\ gen})$$

Rölatif gen ekspresyonlarının miktarlarını belirlemek için kanser grubu kontrol ve mastit grubuna göre ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{memekanseri} - \Delta Ct_{kontrol}$$

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{memekanseri} - \Delta Ct_{IGM}$$

Aynı şekilde mastit grubuda kontrol grubuna karşı değerlendirilmiştir.

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{IGM} - \Delta Ct_{kontrol}$$

MiRNA gen ekspresyon düzeylerinin belirlenmesinde "$2^{-\Delta\Delta Ct}$" formülü kullanıldı. Real-time kantitatif PCR deneylerinden elde edilen verileri analiz etmek için en yaygın kullanılan iki yöntem; mutlak ve relatif kantifikasyondur. Mutlak kantifikasyon, genellikle PCR sinyalini standart bir eğriyle ilişkilendirerek giren kopya sayısını belirler. Relatif kantifikasyon, bir tedavi grubundaki hedef transkriptin PCR sinyalini, muamele edilmemiş bir kontrol gibi başka bir örneğinkiyle ilişkilendirir. $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemi, gen ekspresyonundaki bağıl değişiklikleri Real-time kantitatif PCR deneylerinden analiz etmek için uygun bir yoldur (Livak ve Schmittgen 2001).

$$2^{-\Delta\Delta Ct} = 2^{-[\Delta Cthasta - \Delta Ctkontrol]}$$

4. BULGULAR

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi genel cerrahi polikliniğinde tümü kadınlardan oluşan meme kanseri tanısı ile takipli 45 solid tümörlü hasta, İGM tanısı konmuş 50 hasta ve kontrol grubu olarak 48 sağlıklı gönüllü çalışmaya dahil edilmiştir.

Meme kanseri, İGM ve kontrol gruplarının demografik özellikleri ve laboratuvar bulguları Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4-1: Meme kanseri, İGM ve kontrol gruplarının demografik özellikleri ve laboratuvar bulguları

	Meme Kanseri (n=45)	İGM (n=50)	Kontrol (n=48)	p değeri^{KW}
Yaş	47,58±11,46	45,90±6,31	47,71±9,83	0,24
Vücut Kitle İndeksi (VKİ)	29,23±5,85^{b*}	26,39±4,43	27,08±5,30	**0,036**
Glukoz (mg/dL)	95,56±20,61	91,50±21,23	87,23±10,86	0,072
Üre (mg/dL)	24,80±5,55	22,22±5,55^{a*}	26,17±7,70	**0,014**
Kreatinin (mg/dL)	0,59±0,11^{a***}	0,60±0,08^{a***}	0,67±0,11	**< 0,001**
AST (IU/L)	17,84±6,94	16,96±3,93	19,38±7,06	0,159
ALT (IU/L)	17,52±8,76	16,48±9,77	18,42±8,49	0,423
Albumin (g/dL)	4,48±0,51	4,63±0,53	4,62±0,23	0,496
Total Protein (g/dL)	7,24±0,32	7,28±0,45	7,29±0,38	0,684
CRP (mg/L)	3,00±3,58	10,09±18,66^{a***,c***}	2,19±2,37	**< 0,001**
WBC (mm^3)	6,77±2,14	8,71±2,54^{a***,c***}	6,83±1,72	**< 0,001**
Hb (g/dL)	12,57±1,34	12,08±1,52^{a**}	12,99±1,14	**0,004**
Hct (%)	37,70±3,87	36,46±4,01^{a**}	38,56±3,10	**0,022**
PLT (mm^3)	279,22±70,36	287,86±77,47	266,58±58,96	0,239
Sedimentasyon 1.saat (mm)	17,78±13,58	21,02±20,27	16,56±14,95	0,551
Sedimentasyon 2.saat (mm)	42,60±23,33	46,98±29,70	39,02±22,66	0,384
CEA (ng/ml)	2,10±0,79	1,76±0,84	2,04±0,95	0,064
CA 19-9 (U/ml)	17,89±12,10	23,16±20,10^{a*}	14,04±11,20	**0,034**
CA 15-3 (U/ml)	22,97±13,81^{a**}	19,06±6,97	16,45±6,83	**0,008**
CA 125 (U/ml)	14,94±7,61	27,77±15,34^{a***,c***}	12,76±7,55	**< 0,001**
PTEN (pg/ml)	13,03±3,85^{a***}	7,63±3,12^{a***,c***}	18,28±4,19	**< 0,001**

AST: Aspartat amino transferaz; ALT: Alanin amino transferaz; CRP: C-reaktif protein; WBC: Beyaz kan hücreleri; Hb: Hemoglobin; Hct: Hematokrit; PLT: Trombosit; CEA: Karsinoembriyojenik antijen; CA: Kanser antijeni; PTEN: Fosfataz ve tensin homolog
KW: Kruskall Wallis Testi a: Kontrole göre ; b: İGM e göre ; c: Meme kanserine göre
***p<0,001; **p<0,01; *p<0,05

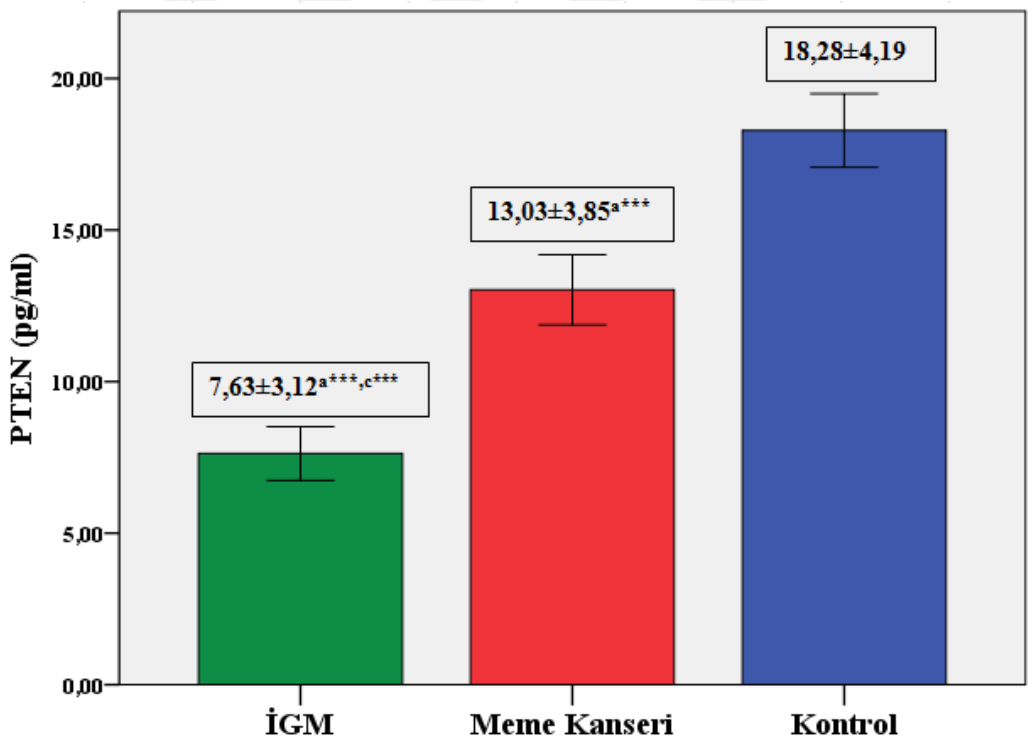
Meme kanserinde kanserin tipi, tümörün hangi memede bulunduğu, histolojik incelemede bulunan derecesi, reseptörlerin (ER: Östrojen reseptörü; PR: Progesteron reseptörü; CerbB-2: HER2/neu) durumu ile ilgili demografik bilgiler Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4-2: Meme kanseri grubunun klinikopatolojik özellikleri

	n (hasta sayısı)	**%**
Kanserin tipi		
IDC	34	75,5
Mikst	11	24,5
Lokalizasyon		
Sağ Meme	22	48,9
Sol Meme	23	51,1
Histolojik Grade		
II	29	64,4
III	16	35,6
Östrojen reseptörü		
Negatif	13	28,9
Pozitif	32	71,1
Progesteron reseptörü		
Negatif	14	31,1
Pozitif	31	68,9
CerbB-2: HER2/neu		
Negatif	25	55,6
Pozitif	20	44,4

Meme kanseri, İGM ve kontrol gruplarının demografik özellikleri ve laboratuvar bulgularının karşılaştırılması

Meme kanseri, İGM ve kontrol grupları yaşları bakımından karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır (p= 0,24). Tablo 4.1'de görüldüğü gibi glukoz, AST ve ALT, albumin, total protein, trombosit düzeyi, sedimentasyon 1. ve 2. saat, Karsinoembriyojenik antijen (CEA) düzeyleri bakımından gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Vücut kitle indeksi (VKİ), meme kanserinde İGM grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p= 0,036). İGM grubunda serum üre düzeyleri, kontrole göre anlamlı düşük bulunmuştur (p=0,014). Kreatinin düzeyleri, hem meme kanseri hem de İGM grubunda kontrole göre anlamlı düşük bulunmuştur (p< 0,001). C-reaktif protein (CRP) düzeyleri, İGM grubunda meme kanseri ve kontrole göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p< 0,001). Beyaz kan hücreleri (WBC), İGM grubunda meme kanseri ve kontrole göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p< 0,001).



*** p<0,001 a: Kontrole göre ; b: İGM e göre ; c: Meme kanserine göre

Şekil 4-1: Meme kanseri, İGM ve kontrol gruplarında PTEN düzeylerinin karşılaştırılması

Hemoglobin ve hematokrit normal aralıkta olsa da gruplar arasında karşılaştırıldığında İGM grubunda kontrole göre anlamlı düşük bulunmuştur (sırasıyla p=0,004; p=0,022). Kanser antijenlerinden CA 19-9, İGM grubunda kontrole göre

(p=0,034); CA 125, İGM grubunda meme kanseri ve kontrole göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p< 0,001). CA 15-3 ise meme kanserinde kontrole göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,008). PTEN düzeyleri gruplar arasında karşılaştırıldığında en düşük düzeyler İGM grubunda bulunmuştur (7,63±3,12; p< 0,001). Meme kanserinde de PTEN düzeyleri kontrole göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur (13,03±3,85; p<0,001).Grupların PTEN düzeylerinin karşılaştırılması Şekil 4.1'de gösterilmiştir.

Meme kanseri, İGM ve kontrol gruplarının Real-Time PCR sonuçları

RT-PCR cihazı ile örneklerin CT değerleri ölçüldü ve grup bazında ortalama CT değerleri ve standart sapmaları Tablo 4-3 'te gösterilmiştir. MiR-21 CT değerleri, meme kanserinde İGM ve kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulunmuştur (p< 0,001). Meme kanserinde ve İGM grubunda miR-155 CT değerleri kontrole göre yüksek bulunmuştur (p< 0,001). Let-7c CT değerleri, İGM grubunda kontrole göre anlamlı yüksek, meme kanserinde ise İGM grubuna göre anlamlı düşük bulunmuştur (p< 0,001).

Tablo 4-3: Meme kanseri, İGM ve kontrol gruplarının miRNA ortalama CT değerleri

	Meme Kanseri (n=45)	**İGM (n=50)**	**Kontrol (n=48)**	**p değeri KW**
miR-155	37,36±1,14^{a***}	37,42±1,11^{a***}	36,69±0,83	**< 0,001**
let-7c	34,47±1,49^{b***}	35,85±1,03^{a***}	33,98±1,06	**< 0,001**
miR-21	29,43±0,71^{a***,b***}	30,78±0,62	31,30±1,20	**< 0,001**

KW: Kruskall Wallis Testi a: Kontrole göre ; b: İGM e göre ; c: Meme kanserine göre
***p<0,001; **p<0,01; *p<0,05

Tablo 4-4: Meme kanseri, İGM ve kontrol gruplarının miRNA ortalama ΔCT değerleri

	Meme Kanseri (n=45)	**İGM (n=50)**	**Kontrol (n=48)**	**p değeri KW**
miR-155	3,40±1,14^{a***}	2,93±1,11^{a***}	1,97±0,83	**< 0,001**
let-7c	0,50±1,49^{a***}	1,36±1,03^{a***,c***}	-0,74±1,06	**< 0,001**
miR-21	-4,54±0,71^{a***,b***}	-3,71±0,62	-3,42±1,20	**< 0,001**

KW: Kruskall Wallis Testi a: Kontrole göre ; b: İGM e göre ; c: Meme kanserine göre
***p<0,001; **p<0,01; *p<0,05

Grupların ortalama CT değerlerinden referans miRNA olarak kullandığımız RNU44 'ün ortalama CT değerlerini çıkarttığımızda elde ettiğimiz ΔCT değerlerinin ortalaması Tablo 4.4'te verilmiştir. ΔCT değerlerinin logaritması alınarak bulunan rölatif ekspresyon derecesinin göstergesi $2^{-\Delta CT}$ değerlerinin ortalaması, standart sapmaları ve gruplar arası anlamlılık düzeyleri Tablo 4.5'te verilmiştir.

Tablo 4-5: Meme kanseri, İGM ve kontrol gruplarının miRNA ortalama $2^{-\Delta CT}$ değerleri

	Meme Kanseri (n=45)	**İGM (n=50)**	**Kontrol (n=48)**	**p değeri^{KW}**
miR-155	0,13^{a***}	0,19^{a***}	0,31	**< 0,001**
let-7c	1,10^{a***}	0,50^{a***,c***}	2,13	**< 0,001**
miR-21	25,83^{a***,b***}	14,21	13,61	**< 0,001**

KW: Kruskall Wallis Testi a: Kontrole göre ; b: İGM e göre ; c: Meme kanserine göre

***p<0,001; **p<0,01; *p<0,05

MiRNA'ların hesaplanmış kat değişimleri (fold change)

Meme kanseri ve İGM gruplarındaki ΔCT değerlerinden kontrol grubunun ortalama ΔCT değerinin çıkartılması ile ΔΔCT değerleri, daha sonra bu değerlerin logaritması alınarak kat değişimi diğer adıyla fold change ($2^{-\Delta\Delta CT}$) değerleri hesaplandı. Bu değerlerin ortalaması, standart sapmaları Tablo 4-6 'da verilmiştir.

Tablo 4-6: Meme kanseri ve İGM gruplarında kontrole göre düzenlenmiş miR-155, let-7c ve miR-21'in kat değişimleri

	Meme Kanseri (n=45)	**p değeri^{MWU}**	**İGM (n=50)**	**p değeri^{MWU}**
miR-155	0,51^{a***}	**< 0,001**	0,73 ^{a***}	**< 0,001**
let-7c	0,66 ^{a***}	**< 0,001**	0,299 ^{a***}	**< 0,001**
miR-21	2,42^{a***}	**< 0,001**	1,33 ^{a*}	**=0,019**

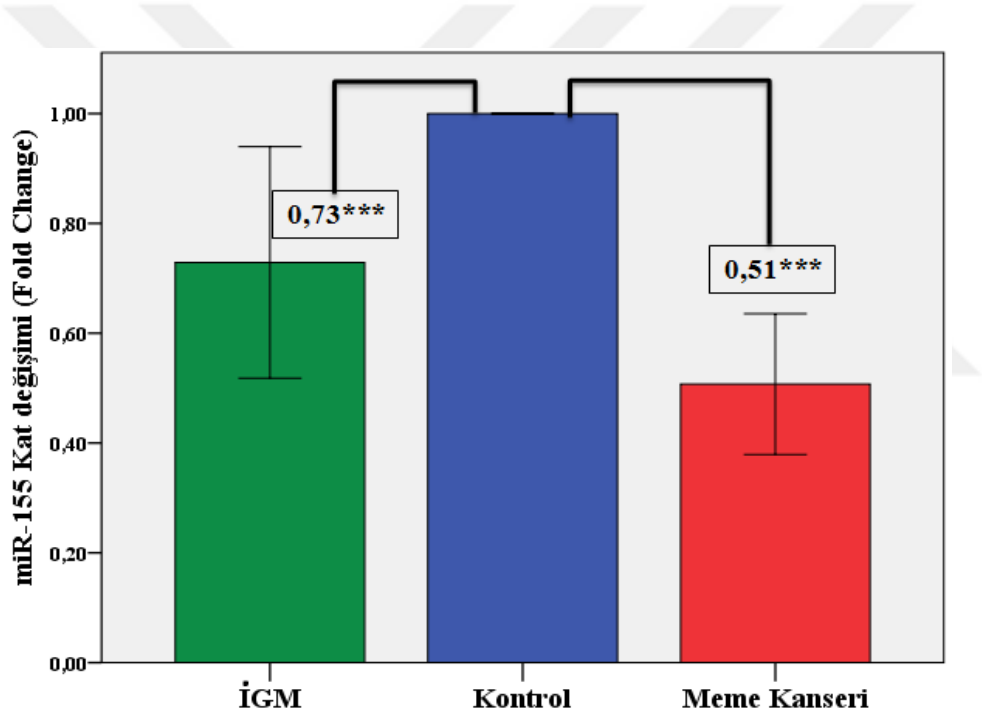
MWU: Mann-Whitney U Testi uygulandı a: Kontrole göre ***p<0,001; **p<0,01; *p<0,05

Kat değişimleri $2^{-\Delta\Delta CT}$ formülüyle hesaplanmıştır.

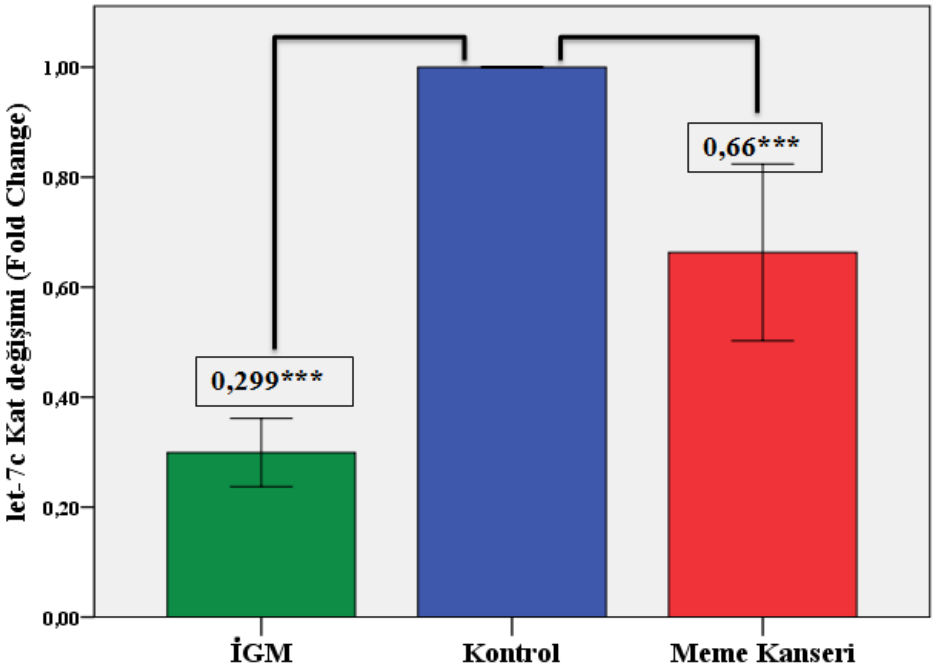
MiR-155'in meme kanseri ve İGM grubunda kontrole göre kat değişimi Şekil 4.2'te verilmiştir. MiR-155'in kat değişimi kontrole göre meme kanserinde 0,51 kat, İGM grubunda 0,73 kat azalmıştır (p< 0,001).

Let-7c'nin meme kanseri ve İGM grubunda kontrole göre kat değişimi Şekil 4.3'te gösterilmiştir. Let-7c'nin kat değişimi kontrole göre meme kanserinde 0,66 kat, İGM grubunda 0,299 kat azalmıştır (p< 0,001).

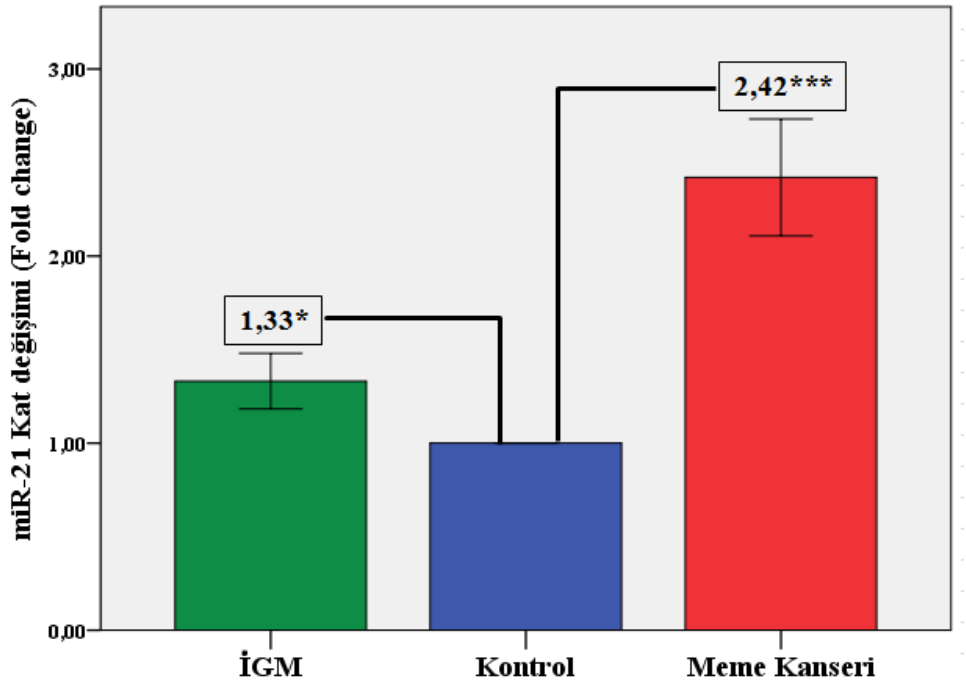
MiR-21'in meme kanseri ve İGM grubunda kontrole göre kat değişimi Şekil 4.4'de verilmiştir. MiR-21'in kat değişimi kontrole göre meme kanserinde 2,42 kat (p< 0,001), İGM grubunda 1,33 kat artmıştır (p=0,019).



Şekil 4-2: Meme kanseri ve İGM gruplarında kontrole göre düzenlenmiş miR-155'in kat değişimi



Şekil 4-3: Meme kanseri ve İGM gruplarında kontrole göre düzenlenmiş let-7c'nin kat değişimi



Şekil 4-4: Meme kanseri ve İGM gruplarında kontrole göre düzenlenmiş miR-21'in kat değişimi

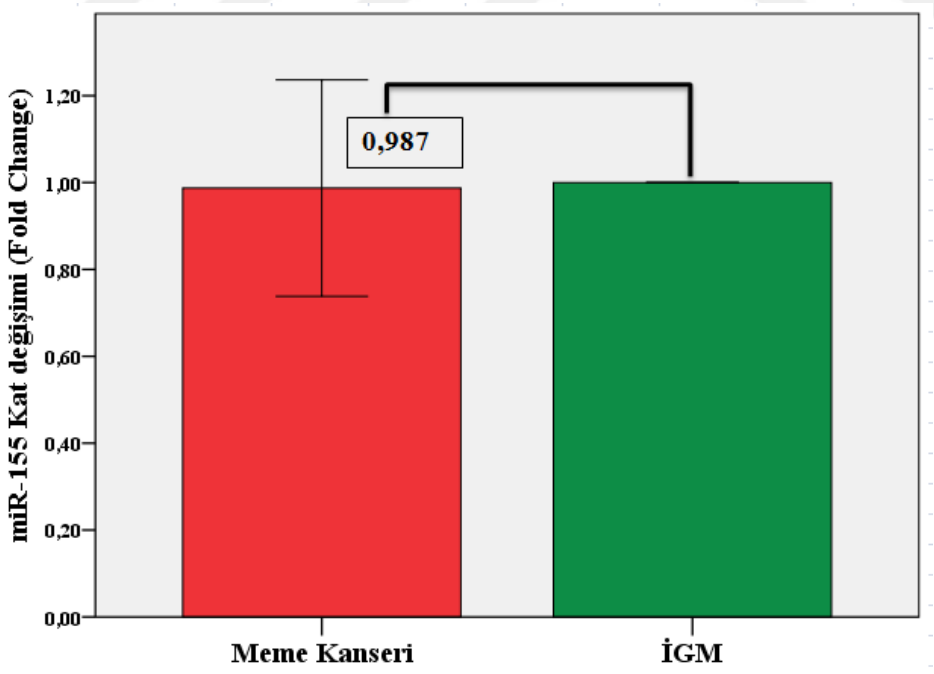
Meme kanseri grubu ΔCT değerlerinden İGM grubunun ortalama ΔCT değerinin çıkartılması ile İGM'e göre düzenlenmiş ΔΔCT değerleri, daha sonra bu değerlerin logaritması alınarak kat değişimi diğer adıyla fold change ($2^{-\Delta\Delta CT}$) değerleri hesaplandı. Bu değerlerin ortalaması, standart sapmaları Tablo 4.7 'de verilmiştir. MiR-155 ve let-7c'nin standart sapmaları yüksek olduğundan bu miRNA'larda anlamlılık gözlenmezken(Şekil 4.5; Şekil 4.6); miR-21'in kat değişimi İGM grubuna göre meme kanserinde 1,976 kat anlamlı olarak yüksek bulunmuş (Şekil 4.7).

Tablo 4-7: Meme kanserinde İGM'e göre düzenlenmiş miR-155, let-7c ve miR-21'in kat değişimleri

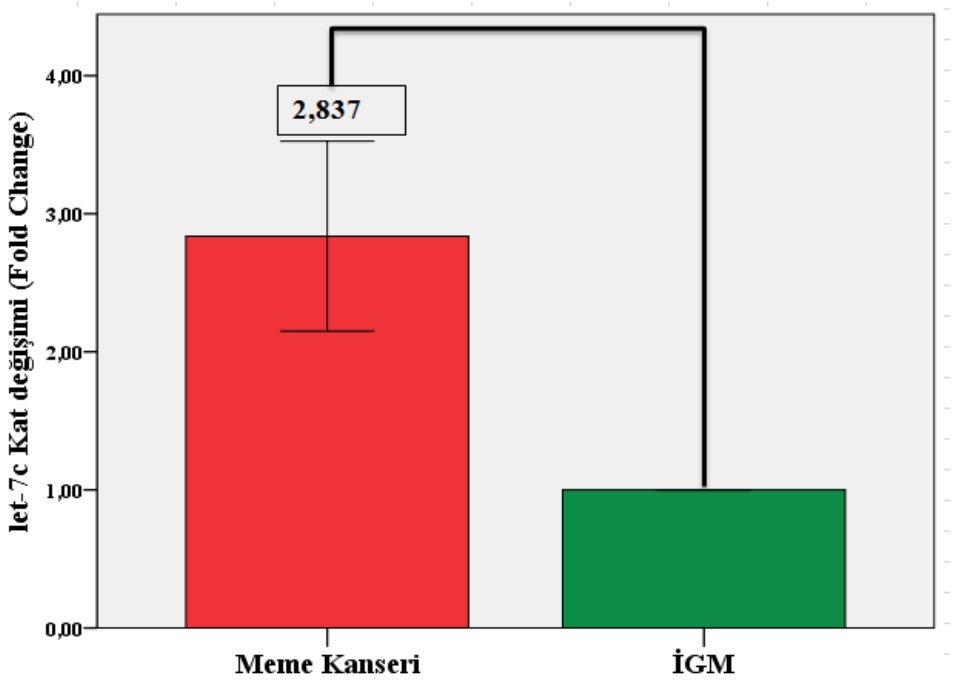
	Meme Kanseri (n=45)	p değeri*
miR-155	0,987	**< 0,158**
let-7c	2,837	**< 0,158**
miR-21	1,976[b***]	**< 0,001**

*: Mann-Whitney U Testi uygulandı b: İGM e göre ***p<0,001; **p<0,01; *p<0,05

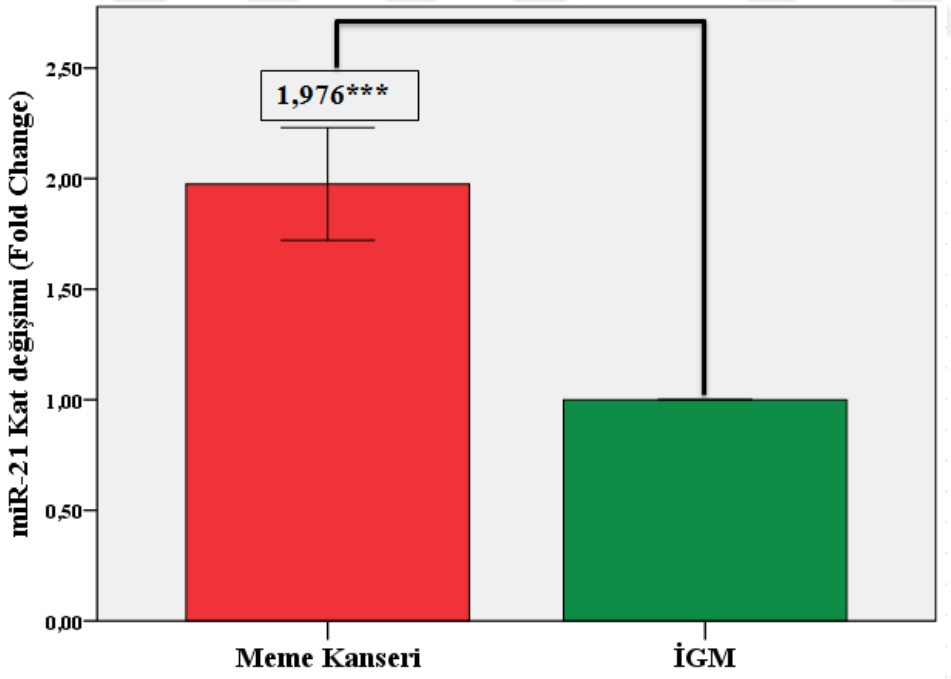
Kat değişimleri $2^{-\Delta\Delta CT}$ formülüyle hesaplanmıştır.



Şekil 4-5: Meme kanserinde İGM'e göre düzenlenmiş miR-155'in kat değişimi



Şekil 4-6: Meme kanserinde İGM'e göre düzenlenmiş let-7c'nin kat değişimi



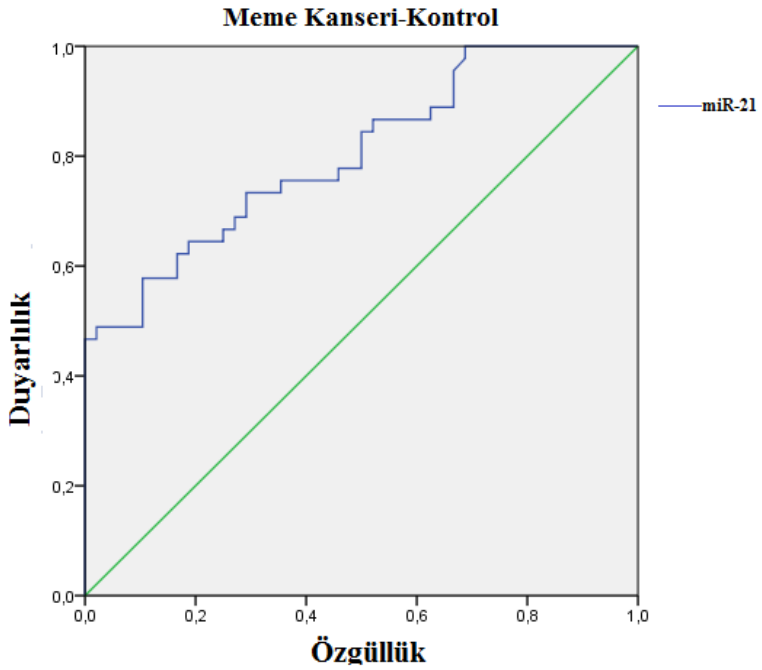
Şekil 4-7: Meme kanserinde İGM'e göre düzenlenmiş miR-21'in kat değişimi

Serum miRNA ekspresyonlarının gruplar arası ayırıcı tanıda ROC eğrisi bulguları

Grupların ayırıcı tanısında serum miRNA'ların ekspresyon ($2^{-\Delta CT}$) ve PTEN düzeylerinin ROC eğrisinde duyarlılık (sensitivite), özgüllük (spesifite), eğri altında kalan (AUC: area under curve), %95 güven aralığı, cut-off değerleri ve anlamlılık düzeyleri; meme kanseri ve kontrol grubu için Tablo 4.8, Şekil 4.8, Tablo 4.9 ve Şekil 4.9; İGM ve kontrol grubu için Tablo 4.10, Şekil 4.10, Tablo 4.11 ve Şekil 4.11; meme kanseri ve İGM grubu için Tablo 4.12, Şekil 4.12, Tablo 4.13 ve Şekil 4.13'te gösterilmiştir.

Tablo 4-8: Meme kanseri ve kontrol grubunun ayırıcı tanısında serum miR-21 ekspresyon düzeylerinin duyarlılık ve özgüllük Değerleri

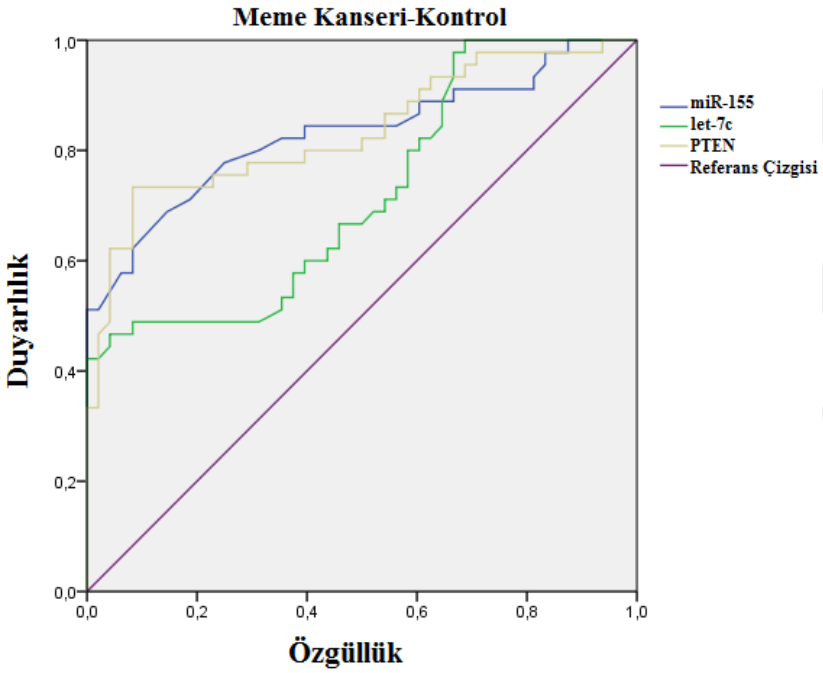
	Eğri Altı Alan (%95 GA)	Duyarlılık %	Özgüllük %	Cut-off (< değer)	p değeri
miR-21	0,803 (0,715-0,890)	57,7778	89,5833	23,625	< **0,001**



Şekil 4-8: Meme kanseri ve kontrol grubunun ayırıcı tanısında miR-21 düzeylerinin ROC eğrisi

Tablo 4-9: Meme kanseri ve kontrol grubunun ayırıcı tanısında serum miR-155, let-7c ve PTEN düzeylerinin duyarlılık ve özgüllük değerleri

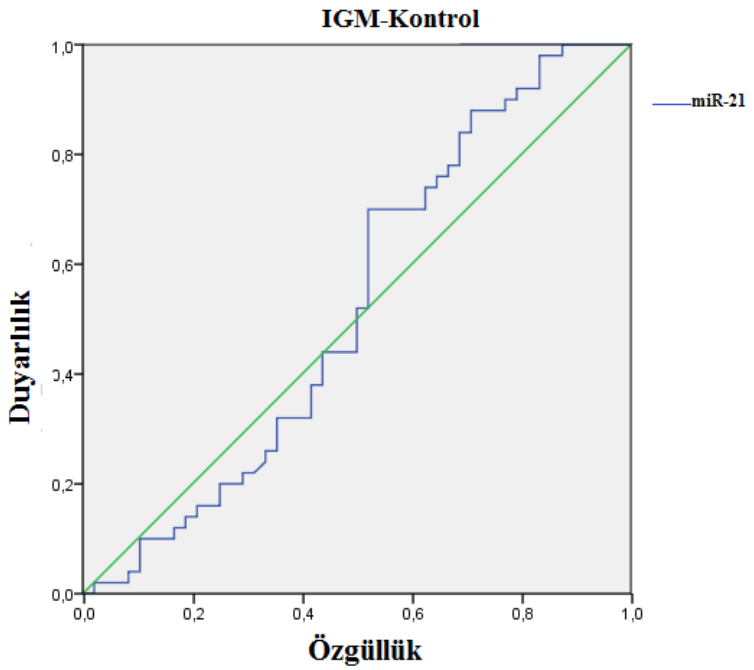
	Eğri Altı Alan (%95 GA)	Duyarlılık %	Özgüllük %	Cut-off (< değer)	p değeri
miR-155	0,830 (0,743-0,916)	68,8889	85,4167	0,145	< **0,001**
let-7c	0,712 (0,617-0,824)	46,6667	95,8333	0,47	< **0,001**
PTEN	0,834 (0,749-0,919)	73,3333	91,6667	14,785	< **0,001**



Şekil 4-9: Meme kanseri ve kontrol grubunun ayırıcı tanısında serum miR-155, let-7c ve PTEN Düzeylerinin ROC eğrisi

Tablo 4-10: İGM ve kontrol grubunun ayırıcı tanısında serum miR-21 ekspresyonunun duyarlılık ve özgüllük değerleri

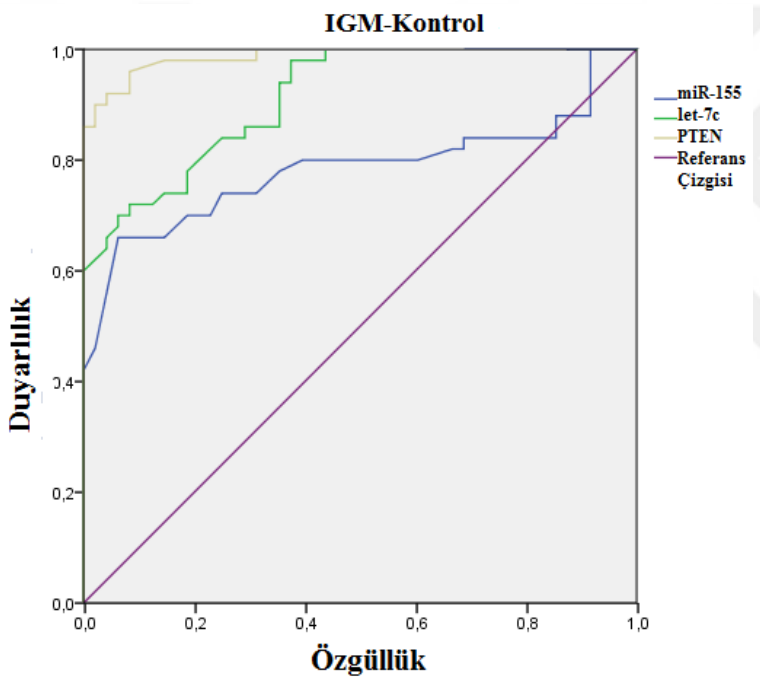
	Eğri Altı Alan (%95 GA)	Duyarlılık %	Özgüllük %	Cut-off (< değer)	p değeri
miR-21	0,526 (0,408-0,643)	-	-	-	0,662



Şekil 4-10: Meme kanseri ve kontrol grubunun ayırıcı tanısında serum miR-21 düzeylerinin ROC eğrisi

Tablo 4-11: İGM ve kontrol grubunun ayırıcı tanısında serum miR-155, let-7c ve PTEN düzeylerinin duyarlılık ve özgüllük değerleri

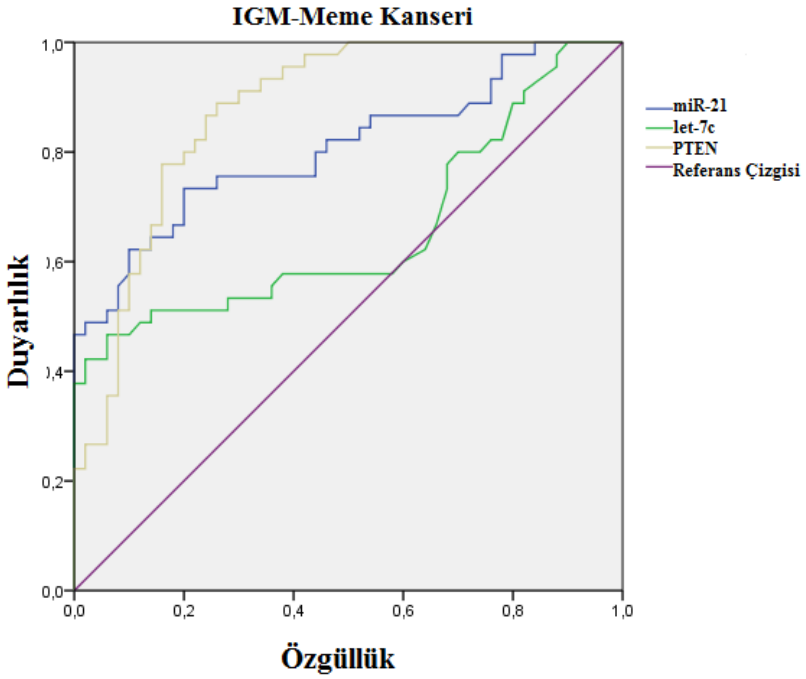
	Eğri Altı Alan (%95 GA)	Duyarlılık %	Özgüllük %	Cut-off (< değer)	p değeri
miR-155	0,784 (0,685-0,882)	66	93,75	0,115	**< 0,001**
let-7c	0,913 (0,861-0,965)	70	93,75	0,52	**< 0,001**
PTEN	0,986 (0,970-1)	90	97,9167	11,855	**< 0,001**



Şekil 4-11: İGM ve kontrol grubunun ayırıcı tanısında serum miR-155, let-7c ve PTEN düzeylerinin ROC eğrisi

Tablo 4-12: İGM ve meme kanseri grubunun ayırıcı tanısında serum miR-21, let-7c ve PTEN düzeylerinin duyarlılık ve özgüllük değerleri

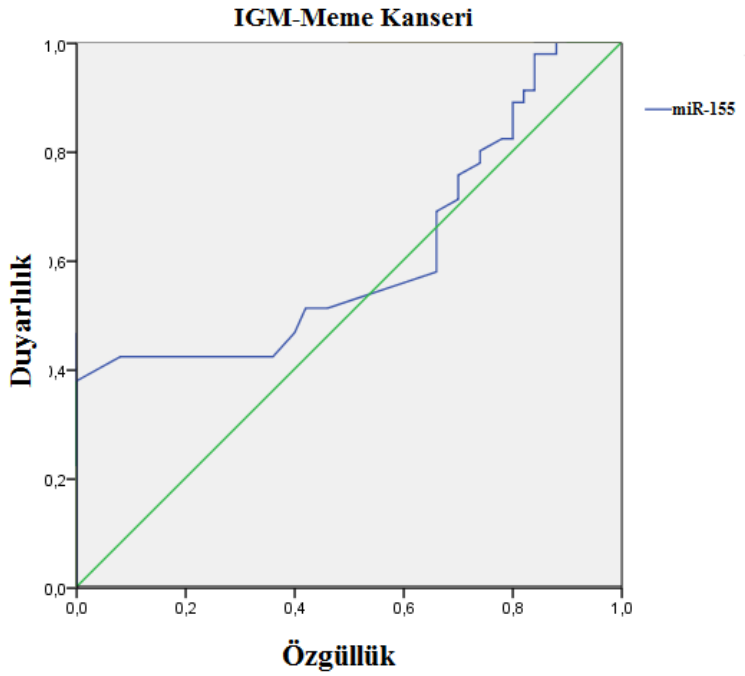
	Eğri Altı Alan (%95 GA)	Duyarlılık %	Özgüllük %	Cut-off (< değer)	p değeri
miR-21	0,806 (0,716-0,896)	73,3333	80	17,945	< **0,001**
let-7c	0,658 (0,542-0,773)	46,6667	94	1,155	**0,008**
PTEN	0,877 (0,808-0,946)	91,1111	70	8,58	< **0,001**



Şekil 4-12: İGM ve meme kanseri grubunun ayırıcı tanısında serum miR-21, let-7c ve PTEN düzeylerinin ROC eğrisi

Tablo 4-13: İGM ve meme kanseri grubunun ayırıcı tanısında serum miR-155 düzeylerinin duyarlılık ve özgüllük değerleri

	Eğri Altı Alan (%95 GA)	Duyarlılık %	Özgüllük %	Cut-off (< değer)	p değeri
miR-155	0,610 (0,491-0,729)	-	-	-	0,066



Şekil 4-13: İGM ve meme kanseri grubunun ayırıcı tanısında serum miR-155 düzeylerinin ROC eğrisi

Meme kanseri alt gruplarının karşılaştırılması

Meme kanseri hastaları, invaziv duktal karsinom (İDC, n=34) ve mikst tip (n=11) olmak üzere iki gruptan oluşmaktadır. Bu iki alt grup istatiksel olarak Mann-Whitney U Testi uygulanarak karşılaştırıldı ve sonuçlar Tablo 4.14'te gösterilmiştir.

CEA düzeyleri, mikst tipte İDC grubuna göre anlamlı yüksek (p=0,017) iken; CA 19-9, CA 15-5 ve CA 125 düzeylerinde anlamlı fark saptanmadı. Tümör çapı mikst tipte İDC grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,020). Serum miRNA ve PTEN düzeylerinde iki grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

Tablo 4-14: İnvaziv duktal karsinom ve mikst tipi meme kanserlerinin karşılaştırılması

	İDC (n=34)	**Mikst (n=11)**	**p değeri^{MWU}**
CEA	1,95±0,79	2,56±0,64*	**0,017**
CA 19-9	18,84±13,09	14,94±8,11	0,625
CA 15-3	23,72±15,33	20,65±7,49	0,663
CA 125	14,12±6,74	17,49±9,75	0,335
Tümör Çapı	2,50±1,42	4,80±3,97*	**0,020**
PTEN	12,91±4,09	13,39±3,12	0,570
miR-155	0,14±0,12	0,10±0,06	0,340
let-7c	1,18±0,89	0,87±0,89	0,335
miR-21	26,01±11,59	25,28±9,91	0,958

MWU: Mann-Whitney U Testi uygulandı ***p<0,001; **p<0,01; *p<0,05

Meme kanseri hastaları östrojen reseptör (ER) durumuna göre karşılaştırılması Tablo 4.15'te gösterilmiştir. ER (-) ve ER (+) hastalarda parametrelerde istatiksel anlamlılık gözlenmemiştir.

Tablo 4-15: Östrojen reseptör durumunun meme kanseri grubunda karşılaştırılması

	ER (-) (n=13)	ER (+) (n=32)	p değeri^{MWU}
CEA	1,55±0,95	2,13±0,70	0,096
CA 19-9	14,65±7,10	15,25±13,49	0,460
CA 15-3	21,13±15,32	20,17±13,36	0,416
CA 125	13,41±5,73	12,79±8,32	0,802
Tümör Çapı	1,80±1,69	2,80±2,70	0,070
PTEN	10,68±4,92	12,98±3,27	0,057
miR-155	0,13±0,09	0,09±0,12	0,314
let-7c	1,03±0,94	0,75±0,88	0,381
miR-21	28,86±12,35	24,13±10,76	0,980

MWU: Mann-Whitney U Testi uygulandı ***p<0,001; **p<0,01; *p<0,05

Meme kanseri hastaları progesteron (PR) reseptör durumuna göre arşılaştırılması Tablo 4.16'da gösterilmiştir. PTEN düzeyleri, PR (+) olanlarda PR (-) olanlara göre anlamlı yüksek iken (p=0,019), diğer parametrelerde iki grup arasında anlamlı fark bulunmadı.

Tablo 4-16: Progesteron reseptör durumunun meme kanseri grubunda karşılaştırılması

	PR (-) (n=14)	PR (+) (n=31)	p değeri^{MWU}
CEA	1,53±0,92	2,15±0,70	0,064
CA 19-9	15,09±8,51	14,67±13,45	0,778
CA 15-3	18,88±14,78	20,39±13,51	0,297
CA 125	13,23±5,79	13,00±8,34	0,864
Tümör Çapı	1,90±1,63	2,80±2,74	0,112
PTEN	10,58±4,84	13,08±3,16*	**0,019**
miR-21	29,38±12,20	23,97±10,76	0,750
miR-155	0,12±0,09	0,08±0,12	0,301
let-7c	1,19±0,90	0,44±0,89	0,339

MWU: Mann-Whitney U Testi uygulandı ***p<0,001; **p<0,01; *p<0,05

Meme kanseri hastaları CerbB-2 (HER2/neu) reseptör durumuna göre karşılaştırılması Tablo 4.17'de gösterilmiştir. Tümör çapı, reseptör (-) olan hastalarda (+) olanlara göre anlamlı yüksek bulunmuştur (p=0,031). PTEN düzeyleri, reseptörü (-) olan hastalarda reseptörü (+) olanlara göre anlamlı yüksek bulunmuştur (p<0,001). Serum miR-155 ekspresyon düzeyi reseptörü (+) olan hastalarda, (-) hastalara göre anlamlı yüksek iken (p=0,037), diğer parametreler arasında anlamlılık bulunmadı.

Tablo 4-17: CerbB-2 reseptör durumunun meme kanseri grubunda karşılaştırılması

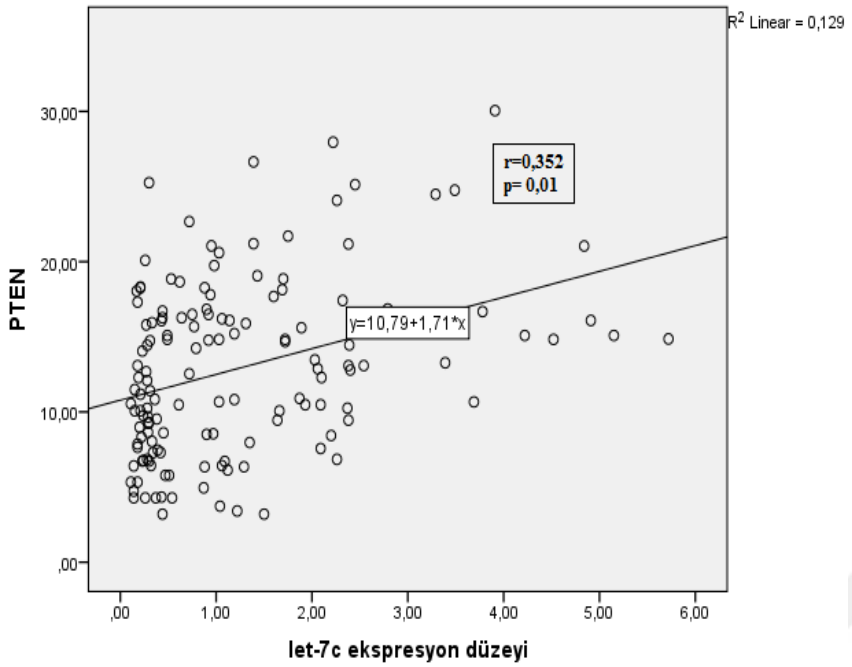
	CerbB-2 (-) (n=25)	**CerbB-2 (+) (n:20)**	**p değeri^{MWU}**
CEA	1,97±0,81	1,80±0,79	0,909
CA 19-9	14,67±13,37	12,91±10,15	0,309
CA 15-3	20,39±16,55	19,50±8,36	0,222
CA 125	12,57±7,30	14,56±8,11	0,417
Tümör Çapı	3,00±2,39*	2,00±2,56	**0,031**
PTEN	14,74±3,47***	10,25±1,74	**<0,001**
miR-155	0,06±0,12	0,14±0,09*	**0,037**
let-7c	0,44±0,90	1,11±0,89	0,500
miR-21	29,22±11,37	23,93±10,91	0,553

MWU: Mann-Whitney U Testi uygulandı ***p<0,001; **p<0,01; *p<0,05

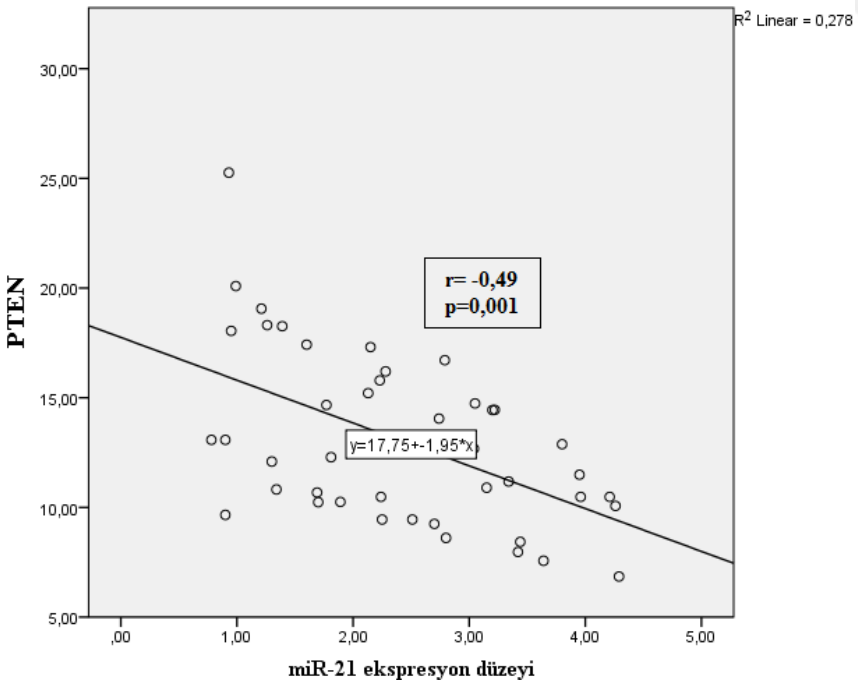
Korelasyon Bulguları

Meme kanseri, İGM ve kontrol grubu dahil olmak üzere bütün örneklerde PTEN ve miRNA'lar arasında ilişki araştırılmış, PTEN ile let-7c ekspresyonu arasında zayıf pozitif yönde korelasyon olduğu gözlenmiştir. PTEN ile let-7c korelasyon (r=0, 352; p=0,01) saptandı (Şekil 4.14).

Meme kanseri, İGM gruplarında PTEN ve miRNA'ların korelasyonları incelendiğinde İGM grubunda parametreler arasında herhangi bir ilişki bulunmamıştır. Meme kanserinde ise miR-21 ve PTEN arasında orta derecede negatif (r=-0,49; p=0,001) ilişki bulunmuştur (Şekil 4.15).



Şekil 4-14: PTEN ve let-7c korelasyon grafiği



Şekil 4-15: PTEN ve miR-21 korelasyon grafiği

5. TARTIŞMA

Meme kanseri dünyadaki en yaygın malign hastalıklardan biri olup her yıl 2,1 milyon kadını etkilemektedir (WHO 2018). Meme kanserinin etkin yönetimi erken teşhise ve hastaların tedaviye yanıtının doğru bir şekilde izlenmesine bağlıdır. Aynı zamanda erken teşhis, tedaviyle ilişkili morbidite ve mortaliteyi en aza indirmek ve maksimum uzun süreli sağ kalım elde etmek için nihai amaçtır. Gelişen teknolojiye rağmen kanserin erken teşhisi uzmanlar için zorlayıcı olmaya devam etmektedir. Bununla birlikte, erken tanı ve hastalık izleme için duyarlı ve özgül biyolojik belirteçlerin olmaması nedeniyle bu hedeflere ulaşmak zordur.

İGM, nadir görülen klinik ve radyolojik olarak meme kanserini taklit eden ve etiyolojisi tam olarak bilinmeyen kronik enflamatuvar meme hastalığıdır (Benson ve Dumitru 2016). Günümüzde, İGM'e yol açan etiyolojik nedenlerden en yaygın olarak desteklenen teori otoimmünitedir, ancak diğer olası etiyolojik nedenler hormon dengesizliği, mikrobiyolojik ajanlar, hiperprolaktinemi, sigara ve α_1-antitripsin eksikliğidir (Akbulut ve ark. 2011; Gautier ve ark. 2013; Pereira ve ark. 2012). Hastalığın klinik bulguları ve radyolojik görüntülemeleri meme kanseriyle sıkça karışmaktadır (Gurleyik ve ark. 2012; Milward ve Gough 1970). Her ne kadar nadiren bilateral görülse de hastalık tipik olarak tek taraflı her hangi bir meme kadranında sert ve düzensiz kitle şeklinde ortaya çıkabilmekte ve bu kitle meme kanseriyle karışabilmektedir (Velidedeoglu ve ark. 2016). Yine, enflamatuvar meme kanseri tipinde görülen ve kitleye eşlik eden ciltte eritematöz değişiklikler, meme başı akıntısı, meme başında çökme, hatta peau d'orange (portakal kabuğu) görünümü olması İGM'de de sıkça görülebilen enflamatuvar meme kanserinin fizik muayene bulgularıyla karışabilen belirtilerdir (Hovanessian Larsen ve ark. 2009). Mamografi, ultrasonografi, doppler ultrasonografi ve hatta manyetik rezonans görüntülemenin İGM'i meme kanserinden ayırt etmede yetersiz kaldığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Bu nedenle İGM'nin kesin tanısı için ultrasonografide tespit edilen anormal bulguların hastadan biyopsi alınarak histopatolojik değerlendirilmesi gereklidir. Meme kanserinin agresif davranışı endişesiyle birlikte, İGM hastaları tekrarlanan biyopsilere veya gereksiz cerrahi müdahalelere maruz kalmakta ve meme kanseri veya İGM tanısı zaman almaktadır (Gudimani ve ark. 2015; Taghizadeh ve ark. 2007). İGM'nin meme

kanseriyle ayırıcı tanısının klinik olarak yapılamaması, invaziv olmayan yöntemlerin, özellikle moleküllerin araştırılmasına yol açmıştır (Mathew ve ark. 2015). Yapılan literatür taramasında İGM ve meme kanserinin ayırıcı tanısı ile ilgili moleküler düzeyde yapılan çalışma çok azdır. Aynı şekilde literatür taramasına göre günümüzde İGM'li hastalarda dolaşımda miRNA düzeyine bakılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu tez çalışmasında İGM'li ve meme kanserli hastaların ayırıcı tanısında kullanılabilmesi için dolaşımdaki miR-155, let-7c, miR-21 ve PTEN düzeylerinin belirlenerek bu miRNA'ların PTEN ile ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Aynı zamanda bu çalışmada İGM'li hastalarda ilk defa dolaşımdaki miRNA düzeyleri belirlenmiştir.

Son yıllarda, miRNA'ların düzenlenmesi, biyolojik süreçlerin yanı sıra çeşitli hastalıkların gelişmesinde ve ilerlemesinde rolleri bakımından kapsamlı bir şekilde çalışılmaktadır. Yapılan çalışmalar miRNA ekspresyonunun düzensizliğinin hastalığın ilerlemesinde önemli bir rol oynadığını ve bu nedenle miRNA ekspresyon profillerinin hastalıkların teşhisinde önemli faktörler olduğunu göstermektedir (Vishnoi ve Rani 2017). Son yıllarda kanser başta olmak üzere birçok hastalığın fizyopatolojisini tanımlamak ve tanıda kullanılabilecek non-invaziv biyobelirteç olarak serum, plazma ve dokularda çeşitli miRNA'lar araştırılmaktadır ve araştırılmaya da devam edilmektedir. Yapılan çalışmalarda miRNA'ların disregülasyonu, miyokard enfarktüsü ve kardiyovasküler hastalıklar (Eulalio ve ark. 2012; Nishiguchi ve ark. 2015; Quiat ve Olson 2013), diyabet (Chen ve ark. 2014), obezite (Cao ve ark. 2009; Dehwah ve ark. 2012; Hilton ve ark. 2013) ve kanser (Croce 2009; Hayes ve ark. 2014), böbrek ve karaciğer hastalıkları (Arrese ve ark. 2015; Trionfini ve ark. 2015), infertilite (Abu-Halima ve ark. 2014; Khazaie ve Nasr Esfahani 2014) ve yaşlanma (Jung ve Suh 2012) gibi birçok hastalıkla ilişkili bulunmuştur. Kanserde miRNA ekspresyonu, tümör tanısında, prognozun değerlendirilmesinde ve tedaviye yanıtın izlenmesinde moleküler biyobelirteçler olarak kullanılabilir. Ayrıca, miRNA'lar gen tedavisinde özgül hedefler olarak seçilebilir. Son yıllarda yapılan araştırmalarda prostat, meme, kolon, akciğer gibi birçok kanser tipinde miRNA'ların serum ekspresyon düzeyinin kanser tipine göre değişkenlik göstermesiyle hastalıkların tanısının erken dönemde konulup tedavisine başlanabileceği ve prognoz konusunda da önemli bilgiler elde edilebileceği öngörülmüştür (Bushati ve Cohen 2007). Erken tanı ve tedavide son gelişmeler çok etkileyici olsa da, bilim insanları hala kanser tanı ve tedavisi ile ilgili bazı zorluklarla

karşı karşıya kalmaktadır. Diğer taraftan, erken teşhis ve prognoz için bazı spesifik ve invaziv olmayan biyobelirteçlerin kullanılması, tümör maligniteleri ile başa çıkma ve uygun tedaviyi uygulama umudunu arttırmaktadır.

MiR-155, hücre büyümesi, invazyonu, migrasyonu ve hayatta kalma ile ilişkili çoklu sinyal yolaklarını düzenleyen onkojenik bir miRNA'dır (Faraoni ve ark. 2009). DNA'nın tamir edilmesi ve hücre döngüsü progresyonu ile ilgili olan *BRCA1*'i hedef alan miR-155'in, meme kanseri dâhil birçok malignitede aşırı miktarda eksprese edildiği bildirilmiştir (Iorio ve ark. 2005; O'Donovan ve Livingston 2010). Iorio ve ark. 76 meme kanserli hastada miR-21 ve miR-155'in aşırı ekspresyonunu bildirmişlerdir (Iorio ve ark. 2005). Liu ve ark. serum miR-155 ekspresyonunu 20 meme kanserli hasta ve 10 sağlıklı gönüllüde değerlendirmiş, tümör örneklerinde miR-155'in up-regüle olduğunu göstermişlerdir (Liu ve ark. 2013). Roth ve ark. meme kanserli hastaların periferik kanındaki miR-155 düzeylerinin ve tümör progresyonundaki artışın sonucu olarak, gelecekte biyobelirteçlerin bir sınıfı olarak dolaşımdaki miRNA'ların potansiyel fayda sağlayabileceğini öngörmüşlerdir (Roth ve ark. 2010). Zhu ve ark. progesteron reseptörü pozitif olan meme kanserli kadınların, negatif olanlara göre daha yüksek miR-155 ekspresyonuna sahip olduğunu bildirmişlerdir (Zhu ve ark. 2009). Heneghan ve ark. meme kanseri dahil birçok kanserin ayırıcı tanısında 7 adet miRNA ölçmüşler, meme kanserinde miR-155'i kontrole göre anlamlı farklı bulamamışlardır (Heneghan ve ark. 2010). Yapılan literatür taramasında meme kanserinde miR-155 düzeyleri ile ilgili sonuçlar tartışmalıdır. Çalışmalardaki miR-155 ekspresyonundaki farklılıklar ırk, örnek tipleri ve tedavi durumu ile ilgili değişikliklerden kaynaklanabilir. Bizim bulgularımıza göre meme kanserinde ve İGM'de miR-155 rölatif ekspresyon ($2^{-\Delta Ct}$) değerleri kontrole göre düşük bulunurken meme kanseri ve İGM arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. RT-PCR sonuçlarımıza göre meme kanserinde miR-155 ekspresyonu kontrole göre 0,51 kat, İGM grubunda 0,73 kat down-regüle olmuştur. Meme kanserinin İGM'e göre düzenlenmiş miR-155'in kat değişiminde, standart sapmaları yüksek olduğundan anlamlılık gözlenmemiştir. Bulgularımız, dolaşımdaki miR-155 ekspresyonunun, meme kanseri ve İGM'in ayırıcı tanısında uygun kullanıma sahip olamayacağını göstermiştir. Çalışmamızda miR-155 ekspresyonunun azalması dolaşımdaki düzeyinin tümörün kendisinden üretilmediğini, bunun yerine sağlık ve hastalık sırasındaki genelleştirilmiş homeostatik tepkileri yansıttığını gösterebilir.

Let-7 grubundaki miRNA'lar, hücre farklılaşması ve normal gelişimdeki rolleri ile karsinogenez ve tümör progresyonu ile ilgilidir (Reinhart ve ark. 2000a; Wang ve ark. 2012). Let-7 ekspresyonu, akciğer, mide, kolon ve meme dâhil olmak üzere birçok kanser türünde down-regüle edilir. Let-7'nin RAS ve HMGA2'yi hedef alarak meme kanseri tümör başlatıcı hücreleri (T-IC) düzenlediği bulunmuştur (Yu ve ark. 2007). Let-7 miRNA ailesinden olan let-7c, onkogenleri hedef alarak tümör baskılayıcı olarak fonksiyon görür. Tümör baskılayıcı rolü nedeniyle çeşitli kanserlerde ekspresyonu azaldığı bildirilmiştir (Pelosi ve ark. 2014) . Let-7c ekpresyonu, meme kanserinde hastalığın ilerlemesinin erken bir aşamasında kaybolmaktadır (Singh ve Mo 2013). Li ve ark., kanser dokusuna komşu kontrol dokusu ile meme kanseri dokusunda let-7c'nin ekspresyonunu değerlendirmiş ve meme kanserinde let-7c'nin önemli ölçüde down-regüle olduğunu, serum let-7c ekspresyon düzeyinin meme kanserini sağlıklı kontrollerden ayırmak için %87,5 duyarlılık ve %78,9 özgüllük gösterdiğini bildirmişlerdir (Li ve ark. 2015). Ayrıca ER/PR pozitif ve negatif hastalar arasında let-7c serum düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamamışlardır. Bulgularımız, diğer çalışmalara benzer olarak let-7c seviyelerini meme kanserinde ve İGM grubunda kontrol grubuna göre 0, 66 kat, İGM grubunda ise 0,299 kat down-regüle olduğunu göstermektedir. Meme kanserinde İGM grubuna göre 2,837 kat up-regüle olmuştur fakat standart sapma yüksek olduğu için istatistikte anlamlı sonuç çıkmamıştır. İGM ve meme kanseri grubunun ayırıcı tanısında serum let-7c seviyeleri yüksek özgüllük (%94) gösterirken düşük duyarlılık (%47) göstermiştir. Serum let-7c düzeyleri, meme kanserli hastaları İGM'den ve her iki hastalığı kontrol grubundan ayırmada önemli bir tanısal fonksiyona sahip olabilir.

MiR-21, birkaç tümör baskılayıcı geni inhibe eden ve böylelikle hücre büyümesini, invazyonunu ve tümör metastazını arttıran onkojenik bir miRNA'dır. MiR-21'in, akciğer kanseri, prostat kanseri, hepatoselüler karsinom, glioblastoma, meme kanseri ve mide karsinomları gibi çeşitli solid tümörlerde up-regüle olduğu gösterilmiştir (Pfeffer ve ark. 2015). MiR-21 meme kanserinde en fazla ifade edilen miRNA'lardan biridir ve up-regülasyonu tümör progresyonu ve kötü prognoz ile ilişkilidir (Frankel ve ark. 2008; Zhu ve ark. 2007). Wang ve ark., çeşitli miRNA'ların normal dokulara kıyasla tümör numunelerinde azalmasına karşın, miR-21 ve miR-155 düzeylerinin up-regüle olduğunu bildirmişlerdir. Aynı şekilde, dolaşımdaki miR-21 ve miR-155 seviyelerini histolojik tümör derecesi ve östrojen reseptörü ekspresyonu ile

ilişkili bulmuşlardır (Wang ve ark. 2010). Si ve ark., meme kanserli hastaların doku örneklerinde miR-21 seviyesini, normal örneklere göre anlamlı derecede yüksek olduğunu bildirmişlerdir (Si ve ark. 2013). Kumar ve ark. dolaşımdaki miR-21 ekspresyonunu incelemiş, meme kanserli hastalarda sağlıklı kontrollere göre arttığını bildirmişlerdir (Kumar ve ark. 2013). Soleimanpour ve ark. miR-21 ve miR-155 onkomiR'leri meme karsinomlarının izlenmesinde invaziv olmayan biyobelirteçler olarak düşünülebileceğini bildirmişlerdir (Soleimanpour ve ark. 2019). Wang ve ark. ise yaptıkları çalışmada meme kanseri tespiti için serum miR-21'in yüksek duyarlılığa (%80'e kadar) ve yüksek özgüllüğe (%87,7) sahip olduğu için potansiyel bir biyobelirteç olarak önermişlerdir (Wang ve Zhang 2012). Her ne kadar miR-21 meme kanseri için potansiyel yeni bir tanısal biyobelirteç olarak önerilmiş olsa da, ilgili çalışmaların sonuçları çelişkili kalmaktadır. Bu çelişkiye bir örnek Gao ve ark.'nın yaptıkları çalışmada meme kanserinde tek miR-21'in tanısal doğruluğunun sadece %25,8 duyarlılıkla çok daha düşük olduğunu göstermiş olmasıdır (Gao ve ark. 2013). Bizim bulgularımızda, daha önce yapılan çalışmalarla uyumlu olarak, meme kanserli hastalarda serum miR-21 düzeyleri anlamlı olarak artmış; serum miR-21 düzeyleri meme kanserli hastalarda kontrol grubuna göre 2,41 kat ve İGM grubunda da 1,33 kat up-regüle olduğu bulunmuştur. Ek olarak meme kanseri grubunda miR-21 düzeyleri İGM'e göre anlamlı olarak 1,976 kat up-regüle bulunmuştur. Meme kanseri ve kontrol grubunun ayırıcı tanısında serum miR-21 düzeyleri %57,78 duyarlılık ve %89,58 özgüllükte; İGM ve meme kanseri grubunun ayırıcı tanısında ise, %73,33 duyarlılık ve % 80 özgüllükte olduğu bulunmuştur. Tüm bu bulgular dolaşımdaki miR-21'in invaziv olmayan meme kanseri biyobelirteci olarak kullanılabileceğini aynı zamanda İGM ve meme kanserinin ayırıcı tanısında potansiyel kullanıma sahip olabileceğini göstermiştir.

PTEN, fosfoinositid-3-kinaz yolundaki negatif regülasyon ile ilişkili bir tümör baskılayıcı gen olup kanser gelişimi ve ilerlemesi ile ilgili birçok süreci düzenleyen önemli bir faktördür (Milella ve ark. 2015). Protein veya genomik olarak PTEN aktivitesinin kaybı, meme kanseri dâhil birçok primer ve metastatik malignite ile ilişkilidir. Birçok çalışmada meme kanserinde azalmış PTEN ekspresyonu bildirilmiştir (Bakarakos ve ark. 2010; Lopez-Knowles ve ark. 2010; Perren ve ark. 1999). Kechagioglou ve ark. 43 meme kanserli hasta ve 10 sağlıklı kontrolde PTEN mutasyon spektrumu ve protein ekspresyonu arasındaki ilişki olup olmadığını araştırmış ve meme kanseri hastalarında immün boyama ile artmış dolaşımdaki PTEN ve fosforlanmış

PTEN proteini seviyelerini gözlemlemişlerdir. Destek olarak, karşılık gelen doku örneklerinde artan PTEN protein ekspresyonunu belirterek meme karsinojenezinin ekspresyon kaybı ile değil mutasyon nedeniyle gerçekleşen PTEN aktivite kaybı ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Kechagioglou ve ark. 2014). PTEN geni, miRNA'ların bir hedefi olup özellikle miR-21 tarafından baskılandığı bilinmektedir (Dai ve ark. 2017). Qi ve ark. yaptıkları çalışmada miR-21 ve onun hedeflediği proteinleri meme kanseri hastalarında immünohistokimya ile incelemiş, doku kesitlerinde PTEN ekspresyonunda azalma olmazken, miR-21 artmış bulunmuştur. Sonuç olarak PTEN protein ekspresyonu ile miR-21 arasında korelasyon bulamamışlardır (Qi ve ark. 2009). Başka bir immünohistokimya çalışmasında kanserli dokularda PTEN proteininin azalmış ekspresyonunu lenf nodu metastazı ve hastalarda daha kötü bir prognoz ile korele bulmuşlardır (Tsutsui ve ark. 2005). Yapılan literatür taramasında meme kanserli hastalarda dolaşımda PTEN düzeylerinin ELİSA yöntemi ile ölçüldüğü herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Yapılan çalışmalarda ya DNA üzerinden gen ekspresyonuna ya da Western blot yöntemiyle dokuda protein ekspresyonuna bakılmıştır. Aynı zamanda İGM'li hastalarda da dolaşımda PTEN düzeyinin bakıldığı herhangi bir çalışma mevcut değildir. Bu tez çalışması hem meme kanserli hastalarda hem de İGM grubunda dolaşımda PTEN düzeylerinin ELİSA yöntemi ile ölçüldüğü ilk çalışmadır. Bulgularımızda PTEN düzeyleri hem meme kanseri hem de İGM grubunda kontrole göre anlamlı düşük bulunmuştur. Meme kanseri ve kontrol grubunun ayırıcı tanısında serum PTEN düzeyleri %73,33 duyarlılık ve %91,67 özgüllük; İGM ve kontrol grubunun ayırıcı tanısında %90 duyarlılık ve %97,92 özgüllük; İGM ve meme kanseri grubunun ayırıcı tanısında %91 duyarlılık ve %70 özgüllük göstermiştir. PTEN, İGM'li hastalarda klinik sonuçları tahmin etmek için umut verici, faydalı bir biyobelirteç olabilir. Ancak bulgumuz daha fazla vaka içeren ileriye dönük çalışmalarla bu konuda daha bilgilendirici olabilir.

PTEN düzeyleri, PR (+) olanlarda PR (-) olanlara göre anlamlı yüksek bulundu. Bu bulgu, çalışmamızda, PTEN ekspresyonu kaybı ve PR (-) tümörlerde neredeyse önemli PTEN kaybı ile doğrulanmıştır. Son zamandaki çalışmalar ile PTEN protein kaybının steroid reseptörü hormonal kaybı, lenf nodu metastazı ve meme kanserinde sağkalım gibi olumsuz prognostik faktörlerle anlamlı bir korelasyon olduğu bildirilmiştir (Bose ve ark. 2006; Depowski ve ark. 2001; Perren ve ark. 1999; Saal ve ark. 2007). Sonuçlarımız meme kanserinde PTEN'i aday tümör baskılayıcı gen olarak

gösterilen önceki çalışmalarla uyumludur. Tüm gruplarda PTEN ile let-7c ekspresyonu arasında zayıf pozitif yönde korelasyon bulunurken meme kanserinde ise miR-21 ve PTEN arasında orta derecede negatif ilişki bulundu. Mevcut çalışmanın sonuçları, serum let-7c ekspresyon seviyelerinin meme kanseri hastaları için yeni bir tanı biyobelirtecini temsil edebileceğini göstermesine rağmen, let-7c'nin kanser tanısındaki rolünü doğrulamak için daha büyük örneklem büyüklüğüne sahip iyi tasarlanmış çalışmalar gereklidir. PTEN kaybı, meme kanseri olan hastalarda daha agresif davranışlar ve daha kötü sonuçlar öngörebilir. Sonuçlarımız PTEN'in meme kanserinde tümör baskılayıcı rolünü desteklemekte ve bu belirtecin daha fazla çalışılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu tez çalışması, meme kanserinde farklılaşmış miRNA'ların (miR-155, let-7c ve miR-21) ekspresyon profilini tanımlayabilir ve aşırı eksprese olan miR-21 moleküler diagnostik belirteç olarak görev alıyor olabilir. Aynı zamanda bulgularımıza göre serum let-7c ekspresyonu İGM ve meme kanseri grubunun ayırıcı tanısında duyarlı olmamakla birlikte özgül bir biyobelirteç gibi gözükmektedir. MiR-21 ekspresyonu ve PTEN düzeyleri meme kanseri ve İGM ayırıcı tanısında non-invaziv yöntem olarak histopatolojik ve radyolojik verilere ek olarak tayin edilebilir. Meme kanserinde miR-21 ve PTEN arasındaki negatif korelasyon, panel olarak meme kanserli hastalarda klinik sonuçları tahmin etmek için umut verici, faydalı biyobelirteç olabilir. Meme kanseri hastalarında PTEN, PR (-) ve CerbB (+) hastalarda, PR (+) ve CerbB (-) hastalara göre ekspresyonunun azalması PTEN'in mene kanseri ve hastalık progresyonu için moleküler diagnostik ve prognostik belirteç olarak görev yapabileceğini göstermektedir. Panel olarak, bu sonuçlar let-7c, miR-21 ve PTEN'in meme kanserinde erken tanı için bir araç olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Literatürdeki çalışmalarda validasyonu yapılmış miR-21 ekspresyonu ve PTEN düzeylerinin ölçülmesinin gelecekte İGM ve meme kanseri ayırıcı tanısında rutin analiz olarak değerlendirilebileceği görüşündeyiz. Bu tez çalışması daha sonra yapılacak olan çalışmalara öncülük edecektir. Sonuçlarımız daha fazla miRNA, farklı hedef genlerle ve yüksek vaka sayılarının olduğu çalışmalarla desteklenmelidir. MiRNA ekspresyonlarının önemini, mekanik ve düzenleyici faaliyetlerini ve bunların meme kanserine katkısını doğrulamak ve tam olarak anlamak için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

Abu-Halima M., Backes C., Leidinger P., Keller A., Lubbad A.M., Hammadeh M. ve ark. (2014). MicroRNA expression profiles in human testicular tissues of infertile men with different histopathologic patterns. *Fertil Steril*; **101** (1): 78-86.e72.

AJCC (2017). What is Cancer Staging? Son Erişim tarihi: 24.06.2019, Erişim site adı: https://cancerstaging.org/references-tools/Pages/What-is-Cancer-Staging.aspx

Akbulut S., Yilmaz D. ve Bakir S. (2011). Methotrexate in the management of idiopathic granulomatous mastitis: review of 108 published cases and report of four cases. *Breast J*; **17** (6): 661-668.

Altintoprak F., Kivilcim T. ve Ozkan O.V. (2014). Aetiology of idiopathic granulomatous mastitis. *World J Clin Cases*; **2** (12): 852-858.

Arrese M., Eguchi A. ve Feldstein A.E. (2015). Circulating microRNAs: emerging biomarkers of liver disease. *Semin Liver Dis*; **35** (1): 43-54.

Aure M.R., Leivonen S.K., Fleischer T., Zhu Q., Overgaard J., Alsner J. ve ark. (2013). Individual and combined effects of DNA methylation and copy number alterations on miRNA expression in breast tumors. *Genome Biol*; **14** (11): R126.

Backes C., Meese E. ve Keller A. (2016). Specific miRNA Disease Biomarkers in Blood, Serum and Plasma: Challenges and Prospects. *Mol Diagn Ther*; **20** (6): 509-518.

Baek D., Villen J., Shin C., Camargo F.D., Gygi S.P. ve Bartel D.P. (2008). The impact of microRNAs on protein output. *Nature*; **455** (7209): 64-71.

Bakarakos P., Theohari I., Nomikos A., Mylona E., Papadimitriou C., Dimopoulos A.M. ve ark. (2010). Immunohistochemical study of PTEN and phosphorylated mTOR proteins in familial and sporadic invasive breast carcinomas. *Histopathology*; **56** (7): 876-882.

Bakaris S., Yuksel M., Ciragil P., Guven M.A., Ezberci F. ve Bulbuloglu E. (2006). Granulomatous mastitis including breast tuberculosis and idiopathic lobular granulomatous mastitis. *Canadian journal of surgery Journal canadien de chirurgie*; **49** (6): 427-430.

Bani-Hani K.E., Yaghan R.J., Matalka, II ve Shatnawi N.J. (2004). Idiopathic granulomatous mastitis: time to avoid unnecessary mastectomies. *Breast J*; **10** (4): 318-322.

Bartel D.P. (2004). MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*; **116** (2): 281-297.

Baslaim M.M., Khayat H.A. ve Al-Amoudi S.A. (2007). Idiopathic Granulomatous Mastitis: A Heterogeneous Disease with Variable Clinical Presentation. *World Journal of Surgery*; **31** (8): 1677-1681.

Benson J.R. ve Dumitru D. (2016). Idiopathic granulomatous mastitis: presentation, investigation and management. *Future Oncol*; **12** (11): 1381-1394.

Bertoli G., Cava C. ve Castiglioni I. (2015). MicroRNAs: New Biomarkers for Diagnosis, Prognosis, Therapy Prediction and Therapeutic Tools for Breast Cancer. *Theranostics*; **5** (10): 1122-1143.

Bose S., Chandran S., Mirocha J.M. ve Bose N. (2006). The Akt pathway in human breast cancer: a tissue-array-based analysis. *Mod Pathol*; **19** (2): 238-245.

Brandmaier A., Hou S.-Q. ve Shen W.H. (2017). Cell Cycle Control by PTEN. *Journal of molecular biology*; **429** (15): 2265-2277.

Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I., Siegel R.L., Torre L.A. ve Jemal A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*; **68** (6): 394-424.

Brewer H.R., Jones M.E., Schoemaker M.J., Ashworth A. ve Swerdlow A.J. (2017). Family history and risk of breast cancer: an analysis accounting for family structure. *Breast Cancer Res Treat*; **165** (1): 193-200.

Bundred N.J. (2001). Prognostic and predictive factors in breast cancer. *Cancer Treatment Reviews*; **27** (3): 137-142.

Bushati N. ve Cohen S.M. (2007). microRNA functions. *Annu Rev Cell Dev Biol*; **23** 175-205.

Cai Y., Yu X., Hu S. ve Yu J. (2009). A brief review on the mechanisms of miRNA regulation. *Genomics, proteomics & bioinformatics*; **7** (4): 147-154.

Calin G.A., Dumitru C.D., Shimizu M., Bichi R., Zupo S., Noch E. ve ark. (2002). Frequent deletions and down-regulation of micro- RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*; **99** (24): 15524-15529.

Calin G.A., Sevignani C., Dumitru C.D., Hyslop T., Noch E., Yendamuri S. ve ark. (2004). Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A*; **101** (9): 2999-3004.

Cao L., Lin E.J., Cahill M.C., Wang C., Liu X. ve During M.J. (2009). Molecular therapy of obesity and diabetes by a physiological autoregulatory approach. *Nat Med*; **15** (4): 447-454.

Chan J.A., Krichevsky A.M. ve Kosik K.S. (2005). MicroRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells. *Cancer Res*; **65** (14): 6029-6033.

Chang S., Wang R.-H., Akagi K., Kim K.-A., Martin B.K., Cavallone L. ve ark. (2011). Tumor suppressor BRCA1 epigenetically controls oncogenic microRNA-155. *Nature Medicine*; **17** (10): 1275-1282.

Cheang M.C.U., Chia S.K., Voduc D., Gao D., Leung S., Snider J. ve ark. (2009). Ki67 Index, HER2 Status, and Prognosis of Patients With Luminal B Breast Cancer. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*; **101** (10): 736-750.

Chen H., Lan H.Y., Roukos D.H. ve Cho W.C. (2014). Application of microRNAs in diabetes mellitus. *J Endocrinol*; **222** (1): R1-r10.

Chen J., Wang B.C. ve Tang J.H. (2012). Clinical significance of microRNA-155 expression in human breast cancer. *J Surg Oncol*; **106** (3): 260-266.

Chen L. ve Guo D. (2017). The functions of tumor suppressor PTEN in innate and adaptive immunity. *Cellular & molecular immunology*; **14** (7): 581-589.

Croce C.M. (2009). Causes and consequences of microRNA dysregulation in cancer. *Nature reviews Genetics*; **10** (10): 704-714.

Dai X., Fang M., Li S., Yan Y., Zhong Y. ve Du B. (2017). miR-21 is involved in transforming growth factor beta1-induced chemoresistance and invasion by targeting PTEN in breast cancer. *Oncology letters*; **14** (6): 6929-6936.

Dai X., Li T., Bai Z., Yang Y., Liu X., Zhan J. ve ark. (2015). Breast cancer intrinsic subtype classification, clinical use and future trends. *Am J Cancer Res*; **5** (10): 2929-2943.

Davies E.L. (2012). Breast cancer. *Medicine*; **40** (1): 5-9.

Dedes K.J., Natrajan R., Lambros M.B., Geyer F.C., Lopez-Garcia M.A., Savage K. ve ark. (2011). Down-regulation of the miRNA master regulators Drosha and Dicer is associated with specific subgroups of breast cancer. *Eur J Cancer*; **47** (1): 138-150.

Dehwah M.A., Xu A. ve Huang Q. (2012). MicroRNAs and type 2 diabetes/obesity. *J Genet Genomics*; **39** (1): 11-18.

Depowski P.L., Rosenthal S.I. ve Ross J.S. (2001). Loss of expression of the PTEN gene protein product is associated with poor outcome in breast cancer. *Mod Pathol*; **14** (7): 672-676.

Diesing D., Axt-Fliedner R., Hornung D., Weiss J.M., Diedrich K. ve Friedrich M. (2004). Granulomatous mastitis. *Arch Gynecol Obstet*; **269** (4): 233-236.

Du T. ve Zamore P.D. (2005). microPrimer: the biogenesis and function of microRNA. **132** (21): 4645-4652.

Dunham I., Kundaje A., Aldred S.F., Collins P.J., Davis C.A., Doyle F. ve ark. (2012). An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature*; **489** 57.

Dupont W.D. ve Page D.L. (1985). Risk factors for breast cancer in women with proliferative breast disease. *N Engl J Med*; **312** (3): 146-151.

Dursun M., Yilmaz S., Yahyayev A., Salmaslioglu A., Yavuz E., Igci A. ve ark. (2012). Multimodality imaging features of idiopathic granulomatous mastitis: outcome of 12 years of experience. *Radiol Med*; **117** (4): 529-538.

Edge S.B. ve Compton C.C. (2010). The American Joint Committee on Cancer: the 7th Edition of the AJCC Cancer Staging Manual and the Future of TNM. *Annals of Surgical Oncology*; **17** (6): 1471-1474.

Eulalio A., Mano M., Dal Ferro M., Zentilin L., Sinagra G., Zacchigna S. ve ark. (2012). Functional screening identifies miRNAs inducing cardiac regeneration. *Nature*; **492** (7429): 376-381.

Faraoni I., Antonetti F.R., Cardone J. ve Bonmassar E. (2009). miR-155 gene: a typical multifunctional microRNA. *Biochim Biophys Acta*; **1792** (6): 497-505.

Filippini S.E. ve Vega A. (2013). Breast cancer genes: beyond BRCA1 and BRCA2. *Front Biosci (Landmark Ed)*; **18** 1358-1372.

Frankel L.B., Christoffersen N.R., Jacobsen A., Lindow M., Krogh A. ve Lund A.H. (2008). Programmed cell death 4 (PDCD4) is an important functional target of the microRNA miR-21 in breast cancer cells. *J Biol Chem*; **283** (2): 1026-1033.

Gao J., Zhang Q., Xu J., Guo L. ve Li X. (2013). Clinical significance of serum miR-21 in breast cancer compared with CA153 and CEA. *Chin J Cancer Res*; **25** (6): 743-748.

Gaur A., Jewell D.A., Liang Y., Ridzon D., Moore J.H., Chen C. ve ark. (2007). Characterization of microRNA expression levels and their biological correlates in human cancer cell lines. *Cancer Res*; **67** (6): 2456-2468.

Gautier N., Lalonde L., Tran-Thanh D., El Khoury M., David J., Labelle M. ve ark. (2013). Chronic granulomatous mastitis: Imaging, pathology and management. *Eur J Radiol*; **82** (4): e165-175.

Ghildiyal M. ve Zamore P.D. (2009). Small silencing RNAs: an expanding universe. *Nature reviews Genetics*; **10** (2): 94-108.

Giuliano A.E., Connolly J.L., Edge S.B., Mittendorf E.A., Rugo H.S., Solin L.J. ve ark. (2017). Breast Cancer—Major changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. **67** (4): 290-303.

GLOBOCAN (2018). The Global Cancer Observatory. Son Erişim tarihi: 17.06.2019, Erişim site adı: https://gco.iarc.fr/

Goh J.N., Loo S.Y., Datta A., Siveen K.S., Yap W.N., Cai W. ve ark. (2016). microRNAs in breast cancer: regulatory roles governing the hallmarks of cancer. *Biol Rev Camb Philos Soc*; **91** (2): 409-428.

Gudimani S.C., Rohit K.C., Mithun V.V., Gowda C.K. ve Deepa A.B. (2015). Idiopathic granulomatous mastitis: diagnostic and therapeutic challenges to general surgeon. *Breast Dis*; **35** (1): 67-72.

Guray M. ve Sahin A.A. (2006). Benign breast diseases: classification, diagnosis, and management. *Oncologist*; **11** (5): 435-449.

Gurleyik G., Aktekin A., Aker F., Karagulle H. ve Saglamc A. (2012). Medical and Surgical Treatment of Idiopathic Granulomatous Lobular Mastitis: A Benign Inflammatory Disease Mimicking Invasive Carcinoma. *J Breast Cancer*; **15** (1): 119-123.

Ha M. ve Kim V.N. (2014). Regulation of microRNA biogenesis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*; **15** 509.

Hamam R., Hamam D., Alsaleh K.A., Kassem M., Zaher W., Alfayez M. ve ark. (2017). Circulating microRNAs in breast cancer: novel diagnostic and prognostic biomarkers. *Cell Death Dis*; **8** (9): e3045.

Hayes J., Peruzzi P.P. ve Lawler S. (2014). MicroRNAs in cancer: biomarkers, functions and therapy. *Trends Mol Med*; **20** (8): 460-469.

Heer R., Shrimankar J. ve Griffith C.D.M. (2003). Granulomatous mastitis can mimic breast cancer on clinical, radiological or cytological examination: a cautionary tale. *The Breast*; **12** (4): 283-286.

Hemmatzadeh M., Mohammadi H., Jadidi-Niaragh F., Asghari F. ve Yousefi M. (2016). The role of oncomirs in the pathogenesis and treatment of breast cancer. *Biomed Pharmacother*; **78** 129-139.

Heneghan H.M., Miller N., Kelly R., Newell J. ve Kerin M.J. (2010). Systemic miRNA-195 differentiates breast cancer from other malignancies and is a potential biomarker for detecting noninvasive and early stage disease. *Oncologist*; **15** (7): 673-682.

Hilton C., Neville M.J. ve Karpe F. (2013). MicroRNAs in adipose tissue: their role in adipogenesis and obesity. *Int J Obes (Lond)*; **37** (3): 325-332.

Hovanessian Larsen L.J., Peyvandi B., Klipfel N., Grant E. ve Iyengar G. (2009). Granulomatous lobular mastitis: imaging, diagnosis, and treatment. *AJR Am J Roentgenol*; **193** (2): 574-581.

Humphries B., Wang Z. ve Yang C. (2019). MicroRNA Regulation of Epigenetic Modifiers in Breast Cancer. *Cancers (Basel)*; **11** (7).

Iorio M.V., Ferracin M., Liu C.G., Veronese A., Spizzo R., Sabbioni S. ve ark. (2005). MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer Res*; **65** (16): 7065-7070.

Jiang S., Zhang H.-W., Lu M.-H., He X.-H., Li Y., Gu H. ve ark. (2010). MicroRNA-155 Functions as an OncomiR in Breast Cancer by Targeting the Suppressor of Cytokine Signaling 1 Gene. **70** (8): 3119-3127.

Jorgensen K.J., Kalager M., Barratt A., Baines C., Zahl P.H., Brodersen J. ve ark. (2017). Overview of guidelines on breast screening: Why recommendations differ and what to do about it. *Breast*; **31** 261-269.

Jung H.J. ve Suh Y. (2012). MicroRNA in Aging: From Discovery to Biology. *Curr Genomics*; **13** (7): 548-557.

Kamal R.M., Hamed S.T. ve Salem D.S. (2009). Classification of inflammatory breast disorders and step by step diagnosis. *Breast J*; **15** (4): 367-380.

Kara F., İlter H. ve Keskinkılıç B. (2018). *Türkiye Kanser İstatistikleri, 2015* (Ankara).

Kechagioglou P., Papi R.M., Provatopoulou X., Kalogera E., Papadimitriou E., Grigoropoulos P. ve ark. (2014). Tumor suppressor PTEN in breast cancer: heterozygosity, mutations and protein expression. *Anticancer Res*; **34** (3): 1387-1400.

Kessler E. ve Wolloch Y. (1972). Granulomatous mastitis: a lesion clinically simulating carcinoma. *Am J Clin Pathol*; **58** (6): 642-646.

Key T.J., Verkasalo P.K. ve Banks E. (2001). Epidemiology of breast cancer. *Lancet Oncol*; **2** (3): 133-140.

Khazaie Y. ve Nasr Esfahani M.H. (2014). MicroRNA and Male Infertility: A Potential for Diagnosis. *Int J Fertil Steril*; **8** (2): 113-118.

Kim J., Yao F., Xiao Z., Sun Y. ve Ma L. (2018). MicroRNAs and metastasis: small RNAs play big roles. *Cancer Metastasis Rev*; **37** (1): 5-15.

Kong W., He L., Coppola M., Guo J., Esposito N.N., Coppola D. ve ark. (2016). MicroRNA-155 regulates cell survival, growth, and chemosensitivity by targeting FOXO3a in breast cancer. *J Biol Chem*; **291** (43): 22855.

Kong W., Yang H., He L., Zhao J.-j., Coppola D., Dalton W.S. ve ark. (2008). MicroRNA-155 is regulated by the transforming growth factor beta/Smad pathway and contributes to epithelial cell plasticity by targeting RhoA. *Molecular and cellular biology*; **28** (22): 6773-6784.

Korkut E., Akcay M.N., Karadeniz E., Subasi I.D. ve Gursan N. (2015). Granulomatous Mastitis: A Ten-Year Experience at a University Hospital. *The Eurasian journal of medicine*; **47** (3): 165-173.

Krichevsky A.M. ve Gabriely G. (2009). miR-21: a small multi-faceted RNA. *J Cell Mol Med*; **13** (1): 39-53.

Kumar M.S., Lu J., Mercer K.L., Golub T.R. ve Jacks T. (2007). Impaired microRNA processing enhances cellular transformation and tumorigenesis. *Nat Genet*; **39** (5): 673-677.

Kumar S., Keerthana R., Pazhanimuthu A. ve Perumal P. (2013). Overexpression of circulating miRNA-21 and miRNA-146a in plasma samples of breast cancer patients. *Indian J Biochem Biophys*; **50** (3): 210-214.

Kwak P.B., Iwasaki S. ve Tomari Y. (2010). The microRNA pathway and cancer. *Cancer Sci*; **101** (11): 2309-2315.

Lagos-Quintana M., Rauhut R., Lendeckel W. ve Tuschl T. (2001). Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science*; **294** (5543): 853-858.

Lee R.C., Feinbaum R.L. ve Ambros V. (1993). The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. *Cell*; **75** (5): 843-854.

Lei X., Chen K., Zhu L., Song E., Su F. ve Li S. (2017). Treatments for Idiopathic Granulomatous Mastitis: Systematic Review and Meta-Analysis. *Breastfeed Med*; **12** (7): 415-421.

Li J., Yen C., Liaw D., Podsypanina K., Bose S., Wang S.I. ve ark. (1997). PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. *Science*; **275** (5308): 1943-1947.

Li S., Shen Y., Wang M., Yang J., Lv M., Li P. ve ark. (2017). Loss of PTEN expression in breast cancer: association with clinicopathological characteristics and prognosis. *Oncotarget*; **8** (19): 32043-32054.

Li W., Zhang T., Guo L. ve Huang L. (2018). Regulation of PTEN expression by noncoding RNAs. *Journal of experimental & clinical cancer research : CR*; **37** (1): 223-223.

Li X.X., Gao S.Y., Wang P.Y., Zhou X., Li Y.J., Yu Y. ve ark. (2015). Reduced expression levels of let-7c in human breast cancer patients. *Oncology letters*; **9** (3): 1207-1212.

Lin S. ve Gregory R.I. (2015). MicroRNA biogenesis pathways in cancer. *Nat Rev Cancer*; **15** (6): 321-333.

Lin X., Wu M., Liu P., Wei F., Li L., Tang H. ve ark. (2014). Up-regulation and worse prognostic marker of cytoplasmic TARBP2 expression in obstinate breast cancer. *Med Oncol*; **31** (4): 868.

Liu J., Mao Q., Liu Y., Hao X., Zhang S. ve Zhang J. (2013). Analysis of miR-205 and miR-155 expression in the blood of breast cancer patients. *Chin J Cancer Res*; **25** (1): 46-54.

Livak K.J. ve Schmittgen T.D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*; **25** (4): 402-408.

Loberg M., Lousdal M.L., Bretthauer M. ve Kalager M. (2015). Benefits and harms of mammography screening. *Breast Cancer Res*; **17** 63.

Lopez-Knowles E., O'Toole S.A., McNeil C.M., Millar E.K., Qiu M.R., Crea P. ve ark. (2010). PI3K pathway activation in breast cancer is associated with the basal-like phenotype and cancer-specific mortality. *Int J Cancer*; **126** (5): 1121-1131.

Lu J., Getz G., Miska E.A., Alvarez-Saavedra E., Lamb J., Peck D. ve ark. (2005). MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature*; **435** (7043): 834-838.

Lu M., Zhang Q., Deng M., Miao J., Guo Y., Gao W. ve ark. (2008). An Analysis of Human MicroRNA and Disease Associations. *PLOS ONE*; **3** (10): e3420.

Ma X., Conklin D.J., Li F., Dai Z., Hua X., Li Y. ve ark. (2015). The oncogenic microRNA miR-21 promotes regulated necrosis in mice. *Nat Commun*; **6** 7151.

Mansfield C.M. (1993). A review of the etiology of breast cancer. *J Natl Med Assoc*; **85** (3): 217-221.

Mashima R. (2015). Physiological roles of miR-155. *Immunology*; **145** (3): 323-333.

Mathew M., Siwawa P. ve Misra S. (2015). Idiopathic granulomatous mastitis: an inflammatory breast condition with review of the literature. *BMJ Case Rep*; **2015**.

Meisner A.L., Fekrazad M.H. ve Royce M.E. (2008). Breast disease: benign and malignant. *Med Clin North Am*; **92** (5): 1115-1141, x.

Melo S.A. ve Kalluri R. (2012). Molecular Pathways: MicroRNAs as Cancer Therapeutics. **18** (16): 4234-4239.

Meng F., Henson R., Wehbe-Janek H., Ghoshal K., Jacob S.T. ve Patel T. (2007). MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer. *Gastroenterology*; **133** (2): 647-658.

Michael M.Z., SM O.C., van Holst Pellekaan N.G., Young G.P. ve James R.J. (2003). Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Mol Cancer Res*; **1** (12): 882-891.

Miki Y., Swensen J., Shattuck-Eidens D., Futreal P.A., Harshman K., Tavtigian S. ve ark. (1994). A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science*; **266** (5182): 66-71.

Milella M., Falcone I., Conciatori F., Cesta Incani U., Del Curatolo A., Inzerilli N. ve ark. (2015). PTEN: Multiple Functions in Human Malignant Tumors. *Frontiers in oncology*; **5** 24-24.

Milward T.M. ve Gough M.H. (1970). Granulomatous lesions in the breast presenting as carcinoma. *Surg Gynecol Obstet*; **130** (3): 478-482.

Nishiguchi T., Imanishi T. ve Akasaka T. (2015). MicroRNAs and cardiovascular diseases. *Biomed Res Int*; **2015** 682857.

O'Day E. ve Lal A. (2010). MicroRNAs and their target gene networks in breast cancer. *Breast Cancer Res*; **12** (2): 201-201.

O'Donovan P.J. ve Livingston D.M. (2010). BRCA1 and BRCA2: breast/ovarian cancer susceptibility gene products and participants in DNA double-strand break repair. *Carcinogenesis*; **31** (6): 961-967.

Oran E.S., Gurdal S.O., Yankol Y., Oznur M., Calay Z., Tunaci M. ve ark. (2013). Management of idiopathic granulomatous mastitis diagnosed by core biopsy: a retrospective multicenter study. *Breast J*; **19** (4): 411-418.

Orr B. ve Kelley J.L. (2016). Benign Breast Diseases: Evaluation and Management. *Clin Obstet Gynecol*; **59** (4): 710-726.

Osborne C., Wilson P. ve Tripathy D. (2004). Oncogenes and tumor suppressor genes in breast cancer: potential diagnostic and therapeutic applications. *Oncologist*; **9** (4): 361-377.

Paviour S., Musaad S., Roberts S., Taylor G., Taylor S., Shore K. ve ark. (2002). Corynebacterium species isolated from patients with mastitis. *Clin Infect Dis*; **35** (11): 1434-1440.

Pelosi A., Careccia S., Sagrestani G., Nanni S., Manni I., Schinzari V. ve ark. (2014). Dual Promoter Usage as Regulatory Mechanism of let-7c Expression in Leukemic and Solid Tumors. *Molecular Cancer Research*; **12** (6): 878-889.

Pereira F.A., Mudgil A.V., Macias E.S. ve Karsif K. (2012). Idiopathic granulomatous lobular mastitis. *Int J Dermatol*; **51** (2): 142-151.

Perou C.M., Sorlie T., Eisen M.B., van de Rijn M., Jeffrey S.S., Rees C.A. ve ark. (2000). Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*; **406** (6797): 747-752.

Perren A., Weng L.P., Boag A.H., Ziebold U., Thakore K., Dahia P.L. ve ark. (1999). Immunohistochemical evidence of loss of PTEN expression in primary ductal adenocarcinomas of the breast. *Am J Pathol*; **155** (4): 1253-1260.

Pfeffer S.R., Yang C.H. ve Pfeffer L.M. (2015). The Role of miR-21 in Cancer. *Drug Dev Res*; **76** (6): 270-277.

Qi L., Bart J., Tan L.P., Platteel I., Sluis T., Huitema S. ve ark. (2009). Expression of miR-21 and its targets (PTEN, PDCD4, TM1) in flat epithelial atypia of the breast in relation to ductal carcinoma in situ and invasive carcinoma. *BMC Cancer*; **9** 163.

Quiat D. ve Olson E.N. (2013). MicroRNAs in cardiovascular disease: from pathogenesis to prevention and treatment. *J Clin Invest*; **123** (1): 11-18.

Rakha E.A., Putti T.C., Abd El-Rehim D.M., Paish C., Green A.R., Powe D.G. ve ark. (2006). Morphological and immunophenotypic analysis of breast carcinomas with basal and myoepithelial differentiation. *J Pathol*; **208** (4): 495-506.

Reinhart B.J., Slack F.J., Basson M., Pasquinelli A.E., Bettinger J.C., Rougvie A.E. ve ark. (2000a). The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in Caenorhabditis elegans. *Nature*; **403** (6772): 901-906.

Reinhart B.J., Slack F.J., Basson M., Pasquinelli A.E., Bettinger J.C., Rougvie A.E. ve ark. (2000b). The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in Caenorhabditis elegans. *Nature*; **403** (6772): 901-906.

Ross J.S., Fletcher J.A., Bloom K.J., Linette G.P., Stec J., Symmans W.F. ve ark. (2004). Targeted therapy in breast cancer: the HER-2/neu gene and protein. *Mol Cell Proteomics*; **3** (4): 379-398.

Roth C., Rack B., Muller V., Janni W., Pantel K. ve Schwarzenbach H. (2010). Circulating microRNAs as blood-based markers for patients with primary and metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res*; **12** (6): R90.

Russo J. ve Russo I.H. (2006). The role of estrogen in the initiation of breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol*; **102** (1-5): 89-96.

Saal L.H., Johansson P., Holm K., Gruvberger-Saal S.K., She Q.B., Maurer M. ve ark. (2007). Poor prognosis in carcinoma is associated with a gene expression signature of aberrant PTEN tumor suppressor pathway activity. *Proc Natl Acad Sci U S A*; **104** (18): 7564-7569.

Schelfout K., Tjalma W.A., Cooremans I.D., Coeman D.C., Colpaert C.G. ve Buytaert P.M. (2001). Observations of an idiopathic granulomatous mastitis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*; **97** (2): 260-262.

Scott G.K., Mattie M.D., Berger C.E., Benz S.C. ve Benz C.C. (2006). Rapid alteration of microRNA levels by histone deacetylase inhibition. *Cancer Res*; **66** (3): 1277-1281.

Selbach M., Schwanhausser B., Thierfelder N., Fang Z., Khanin R. ve Rajewsky N. (2008). Widespread changes in protein synthesis induced by microRNAs. *Nature*; **455** (7209): 58-63.

Selcuklu S.D., Donoghue Mark T.A. ve Spillane C. (2009). miR-21 as a key regulator of oncogenic processes. *Biochemical Society Transactions*; **37** (4): 918-925.

Sestak I., Cuzick J. ve Evans G. (2012). *Breast Cancer: Epidemiology, Risk Factors and Genetics*. İçinde Breast DiseasesWiley-Blackwell: Fourth edition, JM, ed., pp. 41-47.

Sheedy F.J. (2015). Turning 21: Induction of miR-21 as a Key Switch in the Inflammatory Response. *Front Immunol*; **6** 19.

Shi J. (2016). Considering Exosomal miR-21 as a Biomarker for Cancer. *Journal of clinical medicine*; **5** (4): 42.

Si H., Sun X., Chen Y., Cao Y., Chen S., Wang H. ve ark. (2013). Circulating microRNA-92a and microRNA-21 as novel minimally invasive biomarkers for primary breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*; **139** (2): 223-229.

Si M.L., Zhu S., Wu H., Lu Z., Wu F. ve Mo Y.Y. (2007). miR-21-mediated tumor growth. *Oncogene*; **26** (19): 2799-2803.

Siegel R.L., Miller K.D. ve Jemal A. (2017). Cancer Statistics, 2017. *CA Cancer J Clin*; **67** (1): 7-30.

Singh R. ve Mo Y.-Y. (2013). Role of microRNAs in breast cancer. *Cancer biology & therapy*; **14** (3): 201-212.

Singletary S.E., Allred C., Ashley P., Bassett L.W., Berry D., Bland K.I. ve ark. (2002). Revision of the American Joint Committee on Cancer Staging System for Breast Cancer. **20** (17): 3628-3636.

Sinn H.-P. ve Kreipe H. (2013). A Brief Overview of the WHO Classification of Breast Tumors, 4th Edition, Focusing on Issues and Updates from the 3rd Edition. *Breast care (Basel, Switzerland)*; **8** (2): 149-154.

Slamon D.J., Clark G.M., Wong S.G., Levin W.J., Ullrich A. ve McGuire W.L. (1987). Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science*; **235** (4785): 177-182.

Soleimanpour E., Babaei E., Hosseinpour-Feizi M.A. ve Montazeri V. (2019). Circulating miR-21 and miR-155 as potential noninvasive biomarkers in Iranian Azeri patients with breast carcinoma. *J Cancer Res Ther*; **15** (5): 1092-1097.

Sørlie T., Perou C.M., Tibshirani R., Aas T., Geisler S., Johnsen H. ve ark. (2001). Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. **98** (19): 10869-10874.

Sotiriou C., Neo S.Y., McShane L.M., Korn E.L., Long P.M., Jazaeri A. ve ark. (2003). Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study. *Proc Natl Acad Sci U S A*; **100** (18): 10393-10398.

Sripathi S., Ayachit A., Bala A., Kadavigere R. ve Kumar S. (2016). Idiopathic granulomatous mastitis: a diagnostic dilemma for the breast radiologist. *Insights Imaging*; **7** (4): 523-529.

Steck P.A., Pershouse M.A., Jasser S.A., Yung W.K., Lin H., Ligon A.H. ve ark. (1997). Identification of a candidate tumour suppressor gene, MMAC1, at chromosome 10q23.3 that is mutated in multiple advanced cancers. *Nat Genet*; **15** (4): 356-362.

Sun X., Xu C., Tang S.C., Wang J., Wang H., Wang P. ve ark. (2016). Let-7c blocks estrogen-activated Wnt signaling in induction of self-renewal of breast cancer stem cells. *Cancer Gene Ther*; **23** (4): 83-89.

Sun Y., Wang M., Lin G., Sun S., Li X., Qi J. ve ark. (2012). Serum microRNA-155 as a potential biomarker to track disease in breast cancer. *PLOS ONE*; **7** (10): e47003.

Sun Y.S., Zhao Z., Yang Z.N., Xu F., Lu H.J., Zhu Z.Y. ve ark. (2017). Risk Factors and Preventions of Breast Cancer. *Int J Biol Sci*; **13** (11): 1387-1397.

Taghizadeh R., Shelley O.P., Chew B.K. ve Weiler-Mithoff E.M. (2007). Idiopathic granulomatous mastitis: surgery, treatment, and reconstruction. *Breast J*; **13** (5): 509-513.

Takamizawa J., Konishi H., Yanagisawa K., Tomida S., Osada H., Endoh H. ve ark. (2004). Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival. *Cancer Res*; **64** (11): 3753-3756.

Taylor G.B., Paviour S.D., Musaad S., Jones W.O. ve Holland D.J. (2003). A clinicopathological review of 34 cases of inflammatory breast disease showing an association between corynebacteria infection and granulomatous mastitis. *Pathology*; **35** (2): 109-119.

Trionfini P., Benigni A. ve Remuzzi G. (2015). MicroRNAs in kidney physiology and disease. *Nat Rev Nephrol*; **11** (1): 23-33.

Tsutsui S., Inoue H., Yasuda K., Suzuki K., Higashi H., Era S. ve ark. (2005). Reduced expression of PTEN protein and its prognostic implications in invasive ductal carcinoma of the breast. *Oncology*; **68** (4-6): 398-404.

Valente S.A. ve Grobmyer S.R. (2018). Mastitis and Breast Abscess. İçinde Bland K.I., Copeland E.M., Klimberg S. ve Gradishar W.J. (Ed.), *The Breast (Fifth Edition)*, (Elsevier), pp. 93-103.e102.

Velidedeoglu M., Kilic F., Mete B., Yemisen M., Celik V., Gazioglu E. ve ark. (2016). Bilateral idiopathic granulomatous mastitis. *Asian J Surg*; **39** (1): 12-20.

Virtue A., Wang H. ve Yang X.-f. (2012). MicroRNAs and Toll-like Receptor/Interleukin-1 Receptor Signaling. *Journal of Hematology & Oncology*; **5** (1): 66.

Vishnoi A. ve Rani S. (2017). MiRNA Biogenesis and Regulation of Diseases: An Overview. *Methods Mol Biol*; **1509** 1-10.

Volinia S., Calin G.A., Liu C.G., Ambs S., Cimmino A., Petrocca F. ve ark. (2006). A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci U S A*; **103** (7): 2257-2261.

Vuong D., Simpson P.T., Green B., Cummings M.C. ve Lakhani S.R. (2014). Molecular classification of breast cancer. *Virchows Arch*; **465** (1): 1-14.

Wang B. ve Zhang Q. (2012). The expression and clinical significance of circulating microRNA-21 in serum of five solid tumors. *J Cancer Res Clin Oncol*; **138** (10): 1659-1666.

Wang F., Zheng Z., Guo J. ve Ding X. (2010). Correlation and quantitation of microRNA aberrant expression in tissues and sera from patients with breast tumor. *Gynecol Oncol*; **119** (3): 586-593.

Wang X., Cao L., Wang Y., Wang X., Liu N. ve You Y. (2012). Regulation of let-7 and its target oncogenes (Review). *Oncology letters*; **3** (5): 955-960.

Wee E.J., Peters K., Nair S.S., Hulf T., Stein S., Wagner S. ve ark. (2012). Mapping the regulatory sequences controlling 93 breast cancer-associated miRNA genes leads to the identification of two functional promoters of the Hsa-mir-200b cluster, methylation of which is associated with metastasis or hormone receptor status in advanced breast cancer. *Oncogene*; **31** (38): 4182-4195.

Welcsh P.L. ve King M.C. (2001). BRCA1 and BRCA2 and the genetics of breast and ovarian cancer. *Hum Mol Genet*; **10** (7): 705-713.

WHO (2018). Breast Cancer:early diagnosis and screening. Son Erişim tarihi: 24.06.2019, Erişim site adı: https://www.who.int/cancer/prevention/diagnosis-screening/breast-cancer/en/

Winter J., Jung S., Keller S., Gregory R.I. ve Diederichs S. (2009). Many roads to maturity: microRNA biogenesis pathways and their regulation. *Nature Cell Biology*; **11** 228.

Winters S., Martin C., Murphy D. ve Shokar N.K. (2017). Breast Cancer Epidemiology, Prevention, and Screening. *Prog Mol Biol Transl Sci*; **151** 1-32.

Wooster R., Bignell G., Lancaster J., Swift S., Seal S., Mangion J. ve ark. (1995). Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature*; **378** (6559): 789-792.

Yip C.H. ve Rhodes A. (2014). Estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *Future Oncol*; **10** (14): 2293-2301.

Yu F., Yao H., Zhu P., Zhang X., Pan Q., Gong C. ve ark. (2007). let-7 regulates self renewal and tumorigenicity of breast cancer cells. *Cell*; **131** (6): 1109-1123.

Zhang J.G., Wang J.J., Zhao F., Liu Q., Jiang K. ve Yang G.H. (2010). MicroRNA-21 (miR-21) represses tumor suppressor PTEN and promotes growth and invasion in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Clin Chim Acta*; **411** (11-12): 846-852.

Zhu S., Si M.L., Wu H. ve Mo Y.Y. (2007). MicroRNA-21 targets the tumor suppressor gene tropomyosin 1 (TPM1). *J Biol Chem*; **282** (19): 14328-14336.

Zhu S., Wu H., Wu F., Nie D., Sheng S. ve Mo Y.-Y. (2008). MicroRNA-21 targets tumor suppressor genes in invasion and metastasis. *Cell Research*; **18** (3): 350-359.

Zhu W., Qin W., Atasoy U. ve Sauter E.R. (2009). Circulating microRNAs in breast cancer and healthy subjects. *BMC Res Notes*; **2** 89.

FORMLAR

GÖNÜLLÜLERE VERİLECEK BİLGİLENDİRİLMİŞ ONAM FORMU

Araştırmanın yürütüldüğü kuruluş: İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı ve İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Araştırmanın Adı: "İdiyopatik Granülomatöz Mastit ve Meme Kanserinin Ayırıcı Tanı ve Prognozunda Non-invaziv Biyobelirteç Olarak Dolaşımdaki mikroRNA-155, let-7c, mikroRNA-21 Düzeylerinin Belirlenmesi"

Araştırmanın Amacı: Yapılan literatür taramasında İdiyopatik granülomatöz mastit ve meme kanserinin ayırıcı tanısı ile ilgili moleküler düzeyde yapılan çalışma çok azdır. Aynı şekilde literatür taramasına göre günümüzde İGM 'li hastalarda dolaşımda mikroRNA düzeyine bakılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Seçilen mikroRNA'ların (miR-155, let-7c ve miR-21) dolaşımdaki düzeyleri belirlenecek İdiyopatik granülomatöz mastit ve meme kanserli hastaların ayırıcı tanısında kullanılabilirliği tartışılacaktır. Bu çalışma literatürde ilk defa İGM'li hastalarda ve aynı zamanda meme kanserinde mikroRNA düzeyinin öneminin daha kapsamlı anlaşılması açısından büyük önem taşımaktadır.

Sizin dosyanızdaki verileri bu çalışma kapsamında hiçbir özel kimlik bilginiz, adresinizi ve telefonunuzu paylaşmadan yayınlamak istemekteyiz. Bu nedenle aşağıdaki maddeleri okumanız rica olunur. Bunlara göre en sonunda çalışmaya katılmak için fikriniz biz doktorlarınız tarafından size sorulacak ve uygun görürseniz imzalamanız istenecektir.

Yapılan çalışmanın akademik amaçlı bir araştırma olduğu tarafıma anlatıldı.

Araştırmamızda hastalara herhangi bir tedavi uygulanmayacaktır.

Araştırmamızda çalışmamıza katılan hastaların herhangi bir mali veya deneysel sorumluluğu olmayacaktır.

Araştırmamızda hastaların fiziksel veya ruhsal bir zarar görmeyeceği öngörülmektedir.

Araştırmaya katılan hastalarla ilgili tıbbi kayıtlara izleyiciler, yoklama yapan kişiler, etik kurul, bakanlık ve diğer otoriteler tarafından ulaşılan bilgilerin gizli tutulacağı koşuluyla erişim olabilir.

Araştırmaya katılan gönüllülerin kimliğini ortaya çıkaracak kayıtlar gizli tutulacaktır. Araştırma sonuçları yayınlansa dahi gönüllülerin kimlikleri ve kişisel bilgileri gizli tutulacaktır.

Sizden herhangi bir ücret alınmayacak, size de herhangi bir ücret ödenmeyecektir. Bağlı bulunduğunuz Sosyal Güvenlik Kurumu (SGK)'ndan da herhangi bir ücret alınmayacaktır.

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı ve dosyalarımdan bilgi alınacağını biliyorum.

Söz konusu araştırma sonucu hastalığımda klinik değişiklik olmayabileceği konusunda bilgilendirildim.

Söz konusu araştırma hakkında bilgi alabileceğim doktor ve bölüm numaraları tarafıma iletildi.

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

''İdiyopatik Granülomatöz Mastit ve Meme Kanserinin Ayırıcı Tanı ve Prognozunda Non-invaziv Biyobelirteç Olarak Dolaşımdaki mikroRNA-155, let-7c, mikroRNA-21 Düzeylerinin Belirlenmesi" çalışması kapsamında bilgilerimin,

- Sadece yukarıda bahsi geçen çalışmada kullanılmasına izin veriyorum.
- İleride yapılması planlanan tüm çalışmalarda kullanılmasına izin veriyorum.
- Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.

Gönüllünün Adı Soyadı:

Tarih:

İmza:

Telefon:

Tarih ve Sayı: 08/11/2017-419807

* B E 8 R A 0 5 T 7 *

ETİK KURUL KARARI

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dekanlığı

Sayı :59491012-604.01.02-
Konu :Doktora Öğrencisi Hülya Aksan'ın etik kurul kararı A-46

AZİZ SANCAR DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

İlgi : 20.10.2017 tarih, 60624295-604.02.01-393249 sayılı yazı

Enstitünüz Moleküler Tıp Anabilim Dalı **Doktora Öğrencisi Hülya AKSAN'ın** yürütücülüğünde **Prof.Dr.Hafize UZUN'un danışmanlığında Prof.Dr.İlhan YAYLIM, Doç.Dr.Mehmet VELİDEDEOĞLU, Doç.Dr.Bilgül METE, Doç.Dr.Fahrettin KILIÇ ve Op.Dr.Berrin PAPİLA'nın** yardımcılıklarında **"İdiyopatik Granülomatöz Mastit ve Meme Kanserinin Ayırıcı Tanı ve Prognozunda Non-invaziv Biyobelirteç Olarak Dolaşımdaki mikroRNA-155, let-7c, mikroRNA-21 Düzeylerinin Belirlenmesi"** başlıklı Doktora Tez hakkında ilgi yazınız ve ekleri **07 Kasım 2017** tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup; Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) desteği alınması koşuluyla etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

e-İmzalı
Prof. Dr. Mehmet Faik ÖZÇELİK
Başkan V.

e-İmzalı
Prof. Dr. Feray SAVRUN
Dekan a.
Dekan Yardımcısı

NOT:Yönetmelik gereği Sonuç Raporunun ve Bilimsel Araştırma Projeleri Desteği onay belgesinin Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna iletilmesi gerekmektedir.

EK :
1 dosya elden teslim edilecektir.

Doğrulamak İçin:http://194.27.128.66/envision.Sorgula/belgedogrulama.aspx?V=BE8RA05T7

Ayrıntılı bilgi için irtibat : Güler SOYDANER Dahili : 22300
İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 34303 Cerrahpaşa/ İSTANBUL
Tel : 0 (212) 414 30 00 21107- 21108 Faks : 0 (212) 632 00 33
e-posta : ctfpersonel@istanbul.edu.tr Elektronik Ağ : www.istanbul.edu.tr

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: A-46	Tarih: 07 Kasım 2017
	Doktora Öğrencisi Hülya AKSAN'ın yürütücülüğünde **Prof.Dr.Hafize UZUN'un** danışmanlığında **Prof.Dr.İlhan YAYLIM, Doç.Dr.Mehmet VELİDEDEOĞLU, Doç.Dr.Bilgül METE, Doç.Dr.Fahrettin KILIÇ** ve **Op.Dr.Berrin PAPİLA'nın** yardımcılıklarında yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir.	

ÇALIŞMA ESASI	İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu

ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI: Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR

ETİK KURUL ÜYELERİ						
Unvanı/Adı/Soyadı	**Uzmanlık Alanı**	**Kurumu**	**Cinsiyet**	**İlişki ***	**Katılım ****	**İmza**
Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR (Başkan)	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	Kongrede
Prof. Dr. Mehmet Faik ÖZÇELİK (Başkan Yard.)	Genel Cerrahi	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Muhlis Cem AR (Raportör)	İç Hastalıkları Hematoloji	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	Mazeretli
Prof. Dr. Zeki ÖNGEN	Kardiyoloji	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Mahmut Reha BAYAR	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Öner SÜZER	Tıbbi Farmakoloji	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Nurten Uzun ADATEPE	Nöroloji	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Hakkı Oktay SEYMEN	Fizyoloji	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Oktay DEMİRKIRAN	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr.Gülten DİNÇ	Tıp Tarihi ve Etik	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Suphi VEHİD	Halk Sağlığı	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç.Dr.Zeynep Hande TURNA	İç Hastalıkları Medikal Onkoloji	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Mutlu NİYAZOĞLU	İç Hastalıkları End./Metb./Diabet	İst. Eğitim ve Araştırma Hast.	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Avukat Ayfer DİKMEN	Ticaret ve Sağlık Hukuku	Serbest Hukuk Bürosu	K	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	Mazeretli
Zümrüt GAMLI	Emekli Öğretmen	Sivil Üye	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	

* :Araştırma ile İlişki ** :Toplantıda Bulunma

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

İDİYOPATİK GRANÜLOMATÖZ MASTİT VE MEME KANSERİNİN AYIRICI TANI VE PROGNOZUNDA NON-İNVAZİV BİYOBELİRTEÇ OLARAK DOLAŞIMDAKİ MİKRORNA-155, LET-7C, MİKRORNA-21 DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

ORIJINALLIK RAPORU

%9	%4	%2	%7
BENZERLIK ENDEKSI	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCI ÖDEVLERI

BIRINCIL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	%1
2	Submitted to Selçuk Üniversitesi Öğrenci Ödevi	%1
3	cms.galenos.com.tr İnternet Kaynağı	<%1
4	Submitted to Eastern Mediterranean University Öğrenci Ödevi	<%1
5	Submitted to Mersin Ãniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
6	"Poster Özetleri / Poster Abstracts", Turkish Journal of Biochemistry, 2015 Yayın	<%1
7	Submitted to Sakarya University Öğrenci Ödevi	<%1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Hülya	**Soyadı**	AKSAN
Doğ.Yeri	SAMSUN	**Doğ.Tar.**	10.08.1988
Email	hulyairmakk@hotmail.com	**Uyruğu**	T.C.

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mez. Yılı**
Doktora	İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ	2019
Yük.Lis.	İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ	2014
Lisans	MARMARA ÜNİVERSİTESİ	2011

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**
1.	Araştırma Görevlisi	HALİÇ ÜNİVERSİTESİ	2015-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma***	**Yazma***	**YDS Puanı**	**(Diğer) Puanı**
İngilizce	İyi	Orta	Orta	58,75	86,75 (YÖKDİL)

***Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	**Kullanma becerisi**

Yayınları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):