

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**MEME BİYOPSİLERİNDE HİSTOPATOLOJİLERİ DUKTAL
KARSİNOMA İN SİTU OLARAK SONUÇLANAN LEZYONLARIN
İNVAZİVLİĞİNİ ÖNGÖRMEDE MİKRO RİBONÜKLEİK ASİTLERİN
ROLÜ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Hacer KUNDAKÇIOĞLU

Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Yeliz Emine ERSOY

İSTANBUL- Haziran 2023

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**MEME BİYOPSİLERİNDE HİSTOPATOLOJİLERİ DUKTAL
KARSİNOMA İN SİTU OLARAK SONUÇLANAN LEZYONLARIN
İNVAZİVLİĞİNİ ÖNGÖRMEDE MİKRO RİBONÜKLEİK ASİTLERİN
ROLÜ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Hacer KUNDAKÇIOĞLU

Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Yeliz Emine ERSOY

İSTANBUL- Haziran 2023

Bu tez, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Birimi
tarafından 20201214 kodlu proje ile desteklenmiştir.

TEZ ONAY FORMU

Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi, Cerrahi Tıp Bilimleri, Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda tıpta uzmanlık öğrencisi olan Hacer KUNDAKÇIOĞLU'nun, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “Meme Biyopsilerinde Histopatolojileri Duktal Karsinoma İn Situ Olarak Sonuçlanan Lezyonların İnvazivliğini Öngörmeye Mikro Ribonükleik Asitlerin Rolü” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Yeliz Emine ERSOY

Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Jüri Üyeleri: Prof. Dr. Adem AKÇAKAYA

Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Prof. Dr. Ertan BÜLBÜLOĞLU

Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Teslim Tarihi : / / 2023

Savunma Tarihi : / / 2023

BEYAN FORMU

Uzmanlık Tezi olarak sunduğum “Meme Biyopsilerinde Histopatolojileri Duktal Karsinoma İn Situ Olarak Sonuçlanan Lezyonların İnvazivliğini Öngörmeye Mikro Ribonükleik Asitlerin Rolü” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar tez danışmanım Prof. Dr. Yeliz Emine ERSOY’un sorumluluğunda tamamladığımı, tezin planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynakçada eksiksiz gösterdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim

İsim ve soy isim: Hacer KUNDAKÇIOĞLU

İmza:

Tarih:

TEŞEKKÜR

Tıpta uzmanlık eğitimim süresince tecrübesi, bilgisi ve disipliniyle bana yol gösteren, teorik ve pratik eğitimime destek olan, biz öğrencilerine değer veren BVU Genel Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Adem AKÇAKAYA'ya öncelikle ve içtenlikle teşekkür ederim.

Tez çalışmamın her aşamasında yanımda olan, her koşulda beni destekleyen; çalışma ahlakı, yardımseverliği, açık görüşlülüğü ve bilime saygısını kendime örnek aldığım kıymetli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Yeliz Emine ERSOY'a, tez çalışmamın tüm aşamalarında benimle birlikte çalışan Dr. Beyza GÖNCÜ'ye, yine çalışmamızın Patoloji Anabilim Dalı ile birlikte yürüttüğümüz kısımda desteğini ve bilgisini esirgemeyen Prof. Dr. Zuhal GÜCİN'e ve teknik kısımdaki yardımlarından dolayı güzel arkadaşım Öğr. Gör. Burcu GÜL'e ve tez istatistiğimi yapan Ayşegül YABACI'ya teşekkür ederim.

Genel cerrahi asistanlığım boyunca tecrübeleri, bilgileri ve hayata bakış açılarıyla bana sonsuz katkıları olan, her birinden çok kıymetli bilgiler öğrendiğim, bugüne gelmemde büyük etkileri olan hocalarım Prof. Dr. Ertan BÜLBÜLOĞLU, Prof. Dr. İsmail OKAN, Prof. Dr. Halil COŞKUN, Prof. Dr. Kamuran Cumhuriyet DEĞER, Doç. Dr. Enver KUNDUZ, Doç. Dr. Erkan YARDIMCI, Doç. Dr. Hasan DAĞMURA, Doç. Dr. Hüseyin Kazım BEKTAŞOĞLU, Doç. Dr. Sabahattin DESTEK, Doç. Dr. Fatma Ümit MALYA, Doç. Dr. Emin DALDAL, Uzm. Dr. Naim MEMNİ, Uzm. Dr. Harika SALEPÇİOĞLU, Uzm. Dr. Vasıf MEMMEDOV, Uzm. Dr. Ulvi ABDULLAYEV, Uzm. Dr. Süleyman ATALAY'a teşekkür ve minnetlerimi sunarım.

Bu süreçte çalışma fırsatı bulduğum için kendimi hep şanslı hissettiğim, bana her zaman destek olan, kendi ağabeylerim gibi gördüğüm kıdemlilerim Uzm. Dr. Mehmet GÜZEL, Uzm. Dr. Elnur PİRALİYEV, Uzm. Dr. Samet YIĞMAN, Uzm. Dr. Yunus YAPALAK, Uzm. Dr. Yusuf Yunus KORKMAZ'a; klinikte güvenle ve huzurla çalıştığım dünyalar iyisi çalışma arkadaşlarım Dr. Yiğit, Dr. Ceren, Dr. Safa, Dr. Berde, Dr. Ercan, Dr. Burak, Dr. Serhan, Dr. Emir'e ve kliniğimizden ayrılan nicelerine içtenlikle teşekkür ederim.

Hayatımın her anında sonsuz desteklerini hissettiğim, beni yetiştirmek için türlü fedakarlıklar yapan, en büyük özveriyi gösteren ve hala göstermekte olan sevgili ve saygıdeğer aileme, varlığıyla bana huzur veren sevgili eşim Metin'e, süreç boyunca evde yolumu gözleyen birtanecik oğlum Alp'e, son olarak birlikte büyüdüğüm, dert ortaklarım, manevi kız kardeşlerim Betül, Özlem, Damla ve İmge'ye büyük bir minnetle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY FORMU	i
BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ.....	xiv
ÖZET.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Meme Anatomisi.....	3
a. Meme Damarlanması.....	4
b. Memenin Lenfatik Drenajı.....	5
c. Aksilla Sinir Anatomisi.....	7
2.2. Meme Histolojisi.....	8
2.3. Meme Embriyolojisi.....	10
2.4. Meme Fizyolojisi.....	12
2.4.1. Emzirmenin Başlatılması.....	12
2.4.2. Hormonal Düzenleme	13
a. Prolaktin.....	14
b. Progesteron.....	14
c. Metabolik hormonlar.....	14
2.4.3. Süt Salgılanması.....	14
2.4.4. Emzirmenin Sürdürülmesi	15
2.4.5. Emzirme Sonrası Meme İnvolüsyonu.....	15
2.5. Meme Kanseri Epidemiyolojisi.....	15
2.6. Meme Kanseri Histopatolojisi.....	18

2.6.1 Noninvaziv Meme Kanseri.....	18
a. LKİS (Lobuler karsinoma in situ).....	18
b. DKİS (Duktal karsinoma in situ)	19
2.6.2. İnvaziv Meme Kanseri.....	20
a. İnvaziv Meme Karsinomu Özel Tip İçermeyen.....	21
b. İnvaziv Meme Karsinomunun Özel Alt Tipleri.....	21
c. Özel Durumlar.....	22
d. Biyolojik Sınıflandırma.....	23
e. Moleküler Subtipler.....	23
• Luminal A ve Luminal B.....	24
• HER2 Zengin Grup	25
• Basal-Like Grup	25
• Claudin-fakir Grup.....	25
• Normal-like Grup	25
2.7. Meme Kanseri Evrelemesi.....	26
2.8. Meme Kanseri Tanısı.....	31
2.8.1. Görüntüleme Yöntemleri.....	31
2.8.2. Biyobelirteçler.....	
2.9. Meme Kanseri Tedavisi VeTarihçesi.....	34
2.9.1 Cerrahi Tedavi.....	34
2.9.2. Radyoterapi.....	36
2.9.3.Hormonoterapi.....	37
2.9.4.Kemoterapi.....	39
2.9.5.Anti- HER2 Tedavi.....	41
2.10. Mikro Ribonükleik Asit (miRNA).....	43
2.10.1. Mikro Ribonükleik Asit Nedir	43
2.10.2. Duktal Karsinoma İn Situ(DKİS) ile Mikro Ribonükleik Asit (miRNA) İlişkisi	45
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	47
3.1. Vakaların Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri.....	48
3.2.Vakaların Çalışmaya Alınmama/ Çalışmadan Çıkarılma Kriterleri.....	49
3.3. Kullanılan Cihazlar.....	49

3.4. Hasta ve Parafin Bloklarının Seçilmesi.....	50
3.5. Doku Homojenizasyonu ve RNA İzolasyonu.....	50
3.6. RNA'ların Konsantrasyon ve Kalitesinin Tayini.....	51
3.7. Komplementer (Tamamlayıcı) DNA (cDNA) Sentez Aşaması.....	51
3.8. qRT-PCR (Stem-Loop PCR) Süreci.....	52
3.9. İstatistiksel Analiz.....	53
4. BULGULAR.....	54
5. TARTIŞMA.....	62
6. SONUÇ.....	71
7. KAYNAKÇA.....	72
8. EKLER.....	90
8.1. EK-1: Etik Kurul Kararına İlişkin Belgeler.....	90

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

3'UTR: Haberci RNA'nın çeviri sonlandırma kodonunu hemen takip eden bölümü

ACOSOG: The American College of Surgeons Oncology Group / Amerikan Cerrahlar Koleji Onkoloji Grubu

ADH: Atipik Duktal Hiperplazi

AI: Aromataz İnhibitörü

AJCC: The American Joint Committee on Cancer / Amerikan Kanser Komitesi

AKT: Serin- treonin Proteinkinaz ailesi

ALND: Aksiller Lenf Nodu Diseksiyonu

APC: Alveolar Progenitör Cell

ASCENT: Trial of Sacituzumab Govitecan in Participants With Refractory/Relapsed Metastatic Triple-Negative Breast Cancer (TNBC) / Dirençli/Tekrarlayan Metastatik Üçlü Negatif Meme Kanseri (TNBC) Olan Katılımcılarda Sacituzumab Govitecan Çalışması

Bcl2: B-cell lymphoma 2 / B Hücreli Lenfoma 2 Geni

BM: Bazal membran

BMI1: Polycomb kompleks proteini

BRCA-1: Breast Cancer Gene-1 / Meme Kanseri Geni-1

CBCSG: Adjuvant Capecitabine With Docetaxel and Cyclophosphamide Plus Epirubicin for Triple-Negative Breast Cancer / Üçlü Negatif Meme Kanseri için Dosetaksel ve Siklofosfamid Artı Epirubisin ile Adjuvan Kapesitabin Çalışması

CCND1: Siklin D1 geni

CDC25: Cell Division Cycle 25 / Hücre Bölünme Kontrolü 25

CDK: Sikline Bağımlı Kinaz

cDNA: Complementary DNA/ Tamamlayıcı DNA

CEA: Karsino Embriyonik Antijen

CSC: Cancer Stem Cell / Meme Kanseri Kök Hücreleri

Ct: Cycle Treashold / Döngü Eşiği

DFS: Hastalıksız Sağkalım / Disease Free Survival

DGCR8: DiGeorge syndrome critical region 8 / DiGeorge sendromu kritik bölge 8 geni

DKİS: Duktal Karsinoma in Situ

DKİS: Duktal karsinoma in situ

DM1: Mikrotübül Depolimerize Edici Ajan

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

DSS: Hastalığa Özel Sağkalım (Disease Spesific Survival)

EBCTCG: Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group / Erken Meme Kanseri Araştırmacıları İşbirliği Grubu

EGFR: Epidermal Büyüme (Growth) Faktörü Reseptörü

EMBRACA: A Study Evaluating Talazoparib (BMN 673), a PARP Inhibitor, in Advanced and/or Metastatic Breast Cancer Patients With BRCA Mutation / Bir PARP İnhibitörü olan Talazoparib'in (BMN 673) BRCA Mutasyonlu İlerlemiş ve/veya Metastatik Meme Kanseri Hastalarında Değerlendirilmesi

EMT: Epitelyal-Mezenkimal Geçiş (Transfer)

EORTC: European Organisation for. Research and Treatment of Cancer / Avrupa Kanseri Araştırma ve Tedavi Örgütü

ER: Östrojen Reseptörü

ERa, ERβ ve ERRγ: Östrojen reseptörleri alfa, beta, gama

ESM: Extra Sellüler Matrix

FDA: Food and Drug Administration / Gıda ve İlaç İdaresi

FFPE: Formalin-Fixed Paraffin-Embedded /Formalinle Fikse Edilmiş Parafin Bloklar

FGF3: FİBROBLAST GROWTH FACTOR 3/ Fibroblast Büyüme Faktörü 3

FHL1: Four And A Half LIM Domains 1 / Dört Buçuk LIM Alanı Protein 1

GATA3: T hücresi reseptörü alfa ve delta genlerinin güçlendiricisine bağlanan transkripsiyonel aktivatör

GH: Growth Hormon / Büyüme Hormonu

GPX3: Glutatyon peroksidaz-3

HER2: Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 / İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 2

HOXA1: Homeobox A1geni

HR: Hormon Reseptörü

IGF-1: Insulinlike Growth Factor 1 / İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1

IGF-1R: Insulinlike Growth Factor 1 Receptor / İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1 Reseptörü

IMMU-132: Sacituzumab govitecan İlacı

İGE: İnsani Gelişmişlik Endeksi

İLC: İnvaziv Lobüler Karsinom

İMK: İnvaziv Meme Kanseri

KATHERINE: Phase III study of trastuzumab emtansine (T-DM1) vs trastuzumab as adjuvant therapy in patients with HER2-positive early breast cancer with residual invasive disease after neoadjuvant chemotherapy and HER2-targeted therapy including trastuzumab / Neoadjuvan kemoterapi ve trastuzumab dahil HER2-hedefli tedaviden sonra rezidüel invaziv hastalığı olan HER2-pozitif erken meme kanserli hastalarda adjuvan tedavi olarak trastuzumab emtansin (T-DM1) ile trastuzumab arasındaki Faz III çalışması

Ki67: Mitotik index antijeni

LHRH: Luteinize Edici Hormon Salgılayan Hormonlar

LIF: Lösemi İnhibitör Faktör

LKİS: Lobüler Karsinoma İn Situ

MaSC: Multipotent Meme Kök Hücreleri / Mammary stem cell

MEH: Meme Epitel Hücreleri / Mammary Epithelial Cells (MEC)

MiRNA: Mikro Ribonükleik Asit

MMG: Mamografi

MÖ: Milattan Önce

MRG: Manyetik Rezonans Görüntüleme

mRNA: Messenger Ribonükleik Asit

MTA: Metastaz Tümör Antijeni

mTOR: Mammalian target of rapamycin / Rapamisinin memeli hedefi

NEO-ORB: A Phase II Randomized Study of Neoadjuvant Letrozole Plus Alpelisib for Hormone Receptor-Positive, Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Negative Breast Cancer / Hormon Reseptörü-Pozitif, İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 2-Negatif Meme Kanseri için Neoadjuvan Letrozole Plus Alpelisib'in Faz II Randomize Çalışması

NF-κB: Nükleer Faktör Kappa Beta

NSABP: The National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project / Ulusal Cerrahi Adjuvan Meme ve Bağırsak Projesi

NST: Nonspesifik Type/ Özel Tip İçermeyen Meme Kanseri

OlympiAD: Assessment of the Efficacy and Safety of Olaparib Monotherapy Versus Physicians Choice Chemotherapy in the Treatment of Metastatic Breast Cancer Patients With Germline BRCA1/2 Mutations./ Germline BRCA1/2 Mutasyonları Olan Metastatik Meme

Kanseri Hastalarının Tedavisinde Olaparib Monoterapisinin Kemoterapiye Karşı Etkinlik ve Güvenliğinin Değerlendirilmesi

OS: Overall Survival / Genel Sağkalım

PARP: Poli Adenozin Difosfat-Riboz Polimeraz

PDCD4: Programmed Cell Death 4 / Programlanmış Hücre Ölümü Proteini 4

PET: Pozitron Emisyon Tomografisi

PFS: Progresyonsuz Sağkalım (Progression Free Survival)

PI3K: Fosfatidilinositol 3-Kinaz

PIK3CA: Fosfatidilinositol-4,5-Bifosfat 3-Kinaz

PR: Progesteron Reseptörü

PTEN: Phosphatase And Tensin Homolog / Fosfataz ve Tensin Homologu

PTX: Paklitaksel

qRT-PCR: Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction / Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RANKL: NF-κB ligandı

RISC: RNA Inducing Silencing Complex / Susturucu Kompleksi İndükleyen RNA

RT: Radyoterapi

SERD: Seçici Östrojen Reseptörü İndirgeyici

SLNB: Sentinel Lenf Nodu Biyopsisi

SN-38: Küçük Molekül Topoizomeraz İnhibitörü

SOFT: The Suppression of Ovarian Function Trial / Yumurtalık Fonksiyonunun Baskılanması Çalışması

SOLAR: Switch Onto Long-Acting Regimen Trial / Uzun Süreli Rejime Geçiş Çalışması

Sp1: Specificity Protein 1 / Spesifiklik Proteini 1

SPECT: Single-Photon Emission Computerized Tomography/ Tek Foton Emisyonlu Bilgisayarlı Tomografi

STAT3: Signal Transducer And Activator Of Transcription 3/ Sinyal Dönüştürücü Ve Transkripsiyon Aktivatörü 3

TAM: Tümör İlişkili Makrofaj

TEXT: Tamoxifen and Exemestane Trial / Adjuvan Hormonoterapi Çalışması

TGF-β3: transforming growth factor beta-3 / dönüştürücü büyüme faktörü beta-3

TIMP3: Metaloproteinaz 3'ün Doku İnhibitörü

TME: Tümör Mikroçevresi

TNBC: Triple Negative Breast Cancer/Üçlü Negatif Meme Kanseri

TP53: Tümör Protein 53

TPM1: Tropomiyosin 1

TROP-2: Trofoblast Hücre Yüzey Antijeni 2

TSGF: Tumour Specific Growth Factor / Tümöre Özgü Büyüme Faktörü

TUT: Terminal Uç Tomurcuğu / Terminal End Bud (TEB)

USG: Ultrasonografi

Wip1: Recombinant Wild-Type (Wt) P53-İnduced Phosphatase 1 / Rekombinant Vahşi Tip P53 Kaynaklı Fosfataz 1

ZEB1: Zinc Finger E-Box Binding Homeobox 1 / Çinko Parmak E-Kutu Bağlayıcı Homeobox 1

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil-1. Memenin yapısı (a) ve emzirme döneminde meme yapısındaki meydana gelen değişiklikler (b). From Standring, S. Gray's anatomy, 41st edn, 2016. Edinburgh: Elsevier.....	3
Şekil-2. Memenin fasyaları ve Cooper ligamanı. (Netter Anatomy kitabından alınmıştır).....	4
Şekil-3. Meme damarlanması. (Relations of the breast. From Standring, S. Gray's anatomy, 41st edn, 2016. Edinburgh: Elsevier.)	5
Şekil-4. Aksiller ve interpektoral lenf nodu grupları (sol aksilla önden görünümü).....	6
Şekil-5. 1.Nervus Thoracodorsalis, 2. Nervus Thoracicus Longus, 3. Nervus Intercostrabrachialis.....	8
Şekil-6. (A) Yetişkin insan meme bezinin şematik gösterimi (B) Terminal uç tomurcuğunun (TUT/TEB-Terminal End Bud) şematik gösterimi.....	9
Şekil-7. Epitelyal-mezenkimal hücrelerin kökeninin ve embriyonik dönemden erişkin aşamaya kadar gelişiminin şematik bir temsili.....	10
Şekil-8. (A) Meme plakodları meme tomurcuklarını oluşturur.(B) Hamileliğin neden olduğu değişiklikler de dahil olmak üzere yetişkin meme bezi gelişiminin çeşitli aşamaları.....	11
Şekil-9. Süt sentezi ve hormonal kontrol mekanizması.....	13
Şekil-10- Meme kanseri vakalarının ve ölümlerinin dünya bölgelerine göre dağılımı.....	17
Şekil-11. Duktal karsinoma in situ (DKİS). A. Kraniokaudal mamografik görüntü, B. Histopatolojik olarak nekrozlu DKİS.....	20
Şekil-12. Meme kanseri moleküler alt tipleri.....	24
Şekil-13. T1-Tümör boyutu ≤ 20 mm, T2- Tümör boyutu > 20 mm fakat ≤ 50 mm, T3- Tümör en büyük boyutu > 50 mm [1] T4-Boyuttan bağımsız tümörün göğüs duvarı ve /veya cilt tutulumu (ülserasyon veya makroskopik nodüller), T4a- Göğüs duvarı tutulumu, T4b- İnflamatuar karsinom olmayan, cilt ülserasyonu ve /veya ipsilateral makroskopik satellit nodülleri ve/veya ödemi, T4c- T4a ve T4b birlikteliği, T4d-İnflamatuar karsinom.....	27
Şekil-14. N1- İpsilateral mobil level I, II aksiller lenf nod(lar)a metastaz, N2a- İpsilateral birbirine veya diğer yapılara fikse level I, II aksiller lenf nodlarına metastaz, N2b- Aksiller lenf	

nodu metastazı olmadan ipsilateral internal mammarian lenf nodlarına metastaz, N3a- İpsilateral infraklaviküler lenf nod(lar)a metastaz, N3b- İpsilateral internal mammarian lenf nod(lar)a ve aksiller lenf nod(lar)a metastaz, N3c- İpsilateral supraklaviküler lenf nod(lar)a metastaz.....28

Şekil-15. Meme kanserinde terapötik moleküler hedefler. ER (östrojen reseptörü), SERD (seçici östrojen reseptörü indirgeyici), HER1/2 (insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 1/2), EGFR (epidermal büyüme faktörü reseptörü) ve TROP-2 (trofoblast hücre yüzey antijeni2)...38

Şekil-16. Kemoterapi ve yeni ilaçların hücre döngüsü hedefleri.....40

Şekil-17. Hücre reseptörlerinin hedefleyen ilaçlar özetlenmiştir.....43

Şekil-18. miRNA biyogenezi.....44

Şekil-19. A ve B grubu arasında miR-21-5p ve miR-210 için çizilen ROC eğrileri.....60

Şekil-20. Kontrol ve B grubu arasında miR-210 için çizilen ROC eğrisi.....61

TABLolar DİZİNİ

Tablo-1. Meme kanseri 2020 yılı yeni vaka ile meme kanserinden ölüm sayısı ve yüzdeleri...	16
Tablo-2. İnsani Gelişme Endeksi (İGE) düzeyine göre 2020'den 2040'a kadar tahmini meme kanseri vakası ve ölüm sayısı.....	18
Tablo-3. T evresi için tümör çapının değerlendirilmesi.....	28
Tablo-4. Klinik lenf nodu evrelemesi.....	29
Tablo-5. Patolojik lenf nodu evrelemesi.....	29
Tablo-6. Uzak metastaz varlığına göre klinik M evrelemesi.....	30
Tablo-7. TNM evre gruplaması.....	30
Tablo-8. DKİS ile ilişkili miRNA'lar ve hedef genleri.....	45
Tablo-9. Çalışmada kullanılan gruplar ve örneklem büyüklükleri. B grubunda bir hastanın doku çalışmasından miRNA eldesi sağlanamamıştır*.....	47
Tablo-10. cDNA sentezi karışım miktarları.....	51
Tablo-11. qRT-PCR Karışım miktarları.....	52
Tablo-12. Real Time PCR reaksiyon aşamaları.....	52
Tablo-13. Gruplar arası demografik veriler ve meme kanseri risk faktörlerinin karşılaştırılması.....	54
Tablo-14. Gruplar arası miRNA rölatif ekspresyon değerleri ortalamasının karşılaştırılması ve p değerleri. miR-21-5p ve miR-210 gruplar arasında farklı eksprese edilmektedir.....	55
Tablo-15. miR-21-5p ve miR-210'un rölatif ekspresyon değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması ve p değerleri.....	56
Tablo-16. Gruplara göre rölatif miRNA ekspresyon değerleri ortalamaları grafik gösterimi....	56
Tablo-17. miR-21-5p, miR-410-3p ve miR-99b rölatif miRNA ekspresyon değerlerinin hormon reseptörleri ile ilişkisi ve p değerleri.....	57
Tablo-18. MiR182 ve miR-183' ün papiller ve kribriform tip DKİS'ta rölatif ekspresyon değerleri ortalamaları ve p değerleri. DKİS papiller ve kribriform tipte solid ve komedo tipe göre downregüle olmuşlardır.....	57

Tablo-19. B grubunda miRNA rölatif ekspresyon değerlerinin ER, PR, Ki-67 ve Cerb-B2 pozitiflikleriyle ilişkileri (p değerleri).....	58
Tablo-20. MiR-21-5p ve miR376a nın Luminal A ve HER2+ meme kanseri gruplarında rölatif ekspresyon değerleri ortalamaları ve p değerleri.....	58
Tablo-21. Evre ile miRNA rölatif ekspresyon değerleri ortalamaları arasındaki istatistiksel ilişki ve p değerleri.....	58
Tablo-22. B grubunun alt grupları arasında miRNA rölatif ekspresyon değerleri ortalamalarının karşılaştırılması ve p değerleri.....	59
Tablo-23. B grubunun alt grupları arasında miRNA rölatif ekspresyon değerleri ortalamalarının karşılaştırılması grafik gösterimi.....	59
Tablo-24. MiR-21-5p ve miR-210'un gruplar arasındaki ayırım gücü.....	61

ÖZET

Meme kanseri görülme sıklığı ve ölüm oranı yüksek olması nedeniyle önemli bir hastalıktır. Erken tanı aldığında yaşam süresi çok yüksektir. Duktal karsinoma in situ (DKİS) ise meme kanserinin öncül lezyonu kabul edilen, henüz metastaz yapma yeteneğinde olmayan neoplastik hücre çoğalmasdır. Son dönemlerde meme kanseri üzerinde genetik çalışmalar yapılmış ve karsinogenez basamaklarındaki gen değişimleri ve mikroRNA'ların genler üzerindeki etkileri ortaya konmuştur. Ancak normal dokudan DKİS'e geçişte rolü olan mekanizmalar çalışılmış olsa da, bu noktada meme kanserini tespit edebilecek ve tedavi hedefi olarak da kullanılabilecek biyobelirteç tanımlanmamıştır. Çalışmamızda normal dokudan DKİS'a geçişte disregüle olan 11 miRNA'nın DKİS tanısı almış lezyonların invaziv meme kanserine dönüşümünü öngörmedeki etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Çalışmamıza Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Meme Hastalıkları Polikliniği'ne başvuran meme biyopsisi yapılmış ve histopatolojik olarak DKİS tanısı almış, 40 kadın hasta ve kontrol grubu olarak fibroadenom tanısı alan 8 kadın hasta dahil edildi. Hasta grupları; cerrahi eksizyon sonrası patolojik tanılarına göre DKİS grubu (A grubu) ve invaziv karsinom grubu (B grubu) olarak planlandı. Patoloji Anabilim Dalı arşivinden taranarak hastaların FFPE (Formalin-Fixed Paraffin-Embedded) bloklarına ulaşıldı. Parafin bloklardan total RNA ve miRNA eldesi FFPE RNA Purification Kit ile yapıldı, sonrasında RT-PCR yöntemi kullanıldı. Tüm çalışma süresince referans gen olarak miR-let-7a kullanıldı. Elde edilecek Ct değerleri ile genlerin artış ve azalış oranları $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemi kullanılarak hesaplandı ve istatistiksel olarak anlamlılık $p<0,05$ kabul edildi.

Çalışmamızda miR-21-5p ve miR-210'un gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklı eksprese edildiği ve invazyon derecesinin artmasıyla ekspresyon değerlerinin arttığı görülmüş olup, klinikte erken tanıda ve biyopsisi DKİS olarak saptanan lezyonların invaziv komponentinin olup olmadığını öngörmek için kullanılabılırler.

Anahtar kelimeler: DKİS, Duktal karsinoma in situ, miRNA, Meme kanseri

ABSTRACT

Breast cancer is an important disease due to its high incidence and mortality rate. When diagnosed early, life expectancy is very high. Ductal carcinoma in situ (DCIS) is neoplastic cell proliferation, which is considered a precursor lesion of breast cancer and is not capable of metastasis yet. Recently, genetic studies have been carried out on breast cancer and gene changes in carcinogenesis steps and the effects of microRNAs on genes have been revealed. However, although the mechanisms involved in the transition from normal tissue to DCIS have been studied, no biomarker that can detect breast cancer and be used as a treatment target has been identified at this point. In our study, we aimed to evaluate the effectiveness of 11 miRNAs that are dysregulated in the transition from normal tissue to DCIS in predicting the transformation of DCIS-diagnosed lesions into invasive breast cancer.

Our study included 40 female patients who applied to Bezmialem Vakif University Medical Faculty Hospital, Department of General Surgery, Breast Diseases Polyclinic, who underwent trucut breast biopsy and were diagnosed with DCIS histopathologically, and 8 female patients diagnosed with fibroadenoma as the control group. Patient groups; DCIS group (group A) and invasive carcinoma group (group B) were planned according to their pathological diagnoses after surgical excision. The FFPE (Formalin-Fixed Paraffin-Embedded) blocks of the patients were found by scanning the archives of the Department of Pathology. Total RNA and miRNA were obtained from paraffin blocks with FFPE RNA Purification Kit and then RT-PCR was used. MiR-let-7a was used as the reference gene throughout the study. The Ct values to be obtained and the increase and decrease rates of the genes were calculated using the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method and statistical significance was accepted as $p < 0.05$.

In our study, it was observed that miR-21-5p and miR-210 were expressed statistically significantly different between the groups and the expression values increased comparatively with the degree of invasion. Clinically, these results can be helpful in early diagnosis and may help to predict if the lesions that were diagnosed as DCIS in core biopsy had invasive components.

Key words: DCIS, Ductal carcinoma in situ, miRNA, Breast cancer

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri, yüksek görülme sıklığı ve ölüm oranları nedeniyle önemli bir hastalıktır. Kadınlarda en sık teşhis edilen kanserdir ve kanser nedeniyle ölümlerin ilk sıradaki nedenidir [1].

Meme kanseri hastaları, onkolojik hastaların %36'sını oluşturmaktadır [2]. Bu habis tümörün insidansı dünyanın tüm bölgelerinde artmaktadır. Küresel ölçekte vakaların neredeyse yarısı gelişmiş ülkelerdedir [3]. En yüksek ölüm oranı ise %60 oranında gelişmekte olan ülkelerde kaydedilmiştir [4]. Bu eğilim temel olarak gelişmiş ülkelerdekinden daha az tarama, teşhis ve modern tedavi olanaklarının mevcudiyeti ile ilgilidir. Meme kanseri erken tanı alındığında sağkalım oranı çok yüksektir.

Duktal karsinoma in situ (DKİS), memenin duktalobüler sistemi ile sınırlı olan lümen hücrelerinin neoplastik çoğalmasdır. İnvaziv meme kanserinin (İMK) öncülü olarak kabul edilir ve İMK'ye ilerlerse, neoplastik hücreler duktal bazal membranı aşp çevredeki parankimi istila eder. DKİS, meme kanseri için önemli bir adımdır çünkü bu durumda kanserli hücreler henüz metastaz yapmamıştır. Bu nedenle, DKİS tedavisi daha kolaydır ve sonrasında gelişebilecek İMK önlenabilir [5].

Genel olarak, DKİS teşhisi konan hastaların meme kanserine özgü sağkalımı yaklaşık %98'dir ve normal bir yaşam beklentisi vardır [6]. Günümüzde, DKİS için meme koruyucu cerrahi önerilmektedir. Ancak hastalık meme korumasına izin vermeyecek kadar kapsamlıysa mastektomi önerilir. Otopsi serileri meme kanseriyle ilgisi olmayan nedenlerden ölen kadınların memelerinin %6-18'inde DKİS olduğunu göstermiştir [7]. Bu durum tüm DKİS hastalarında İMK gelişmeyeceği anlamına gelmektedir. DKİS tanısı alan hastaların bir bölümü gereğinden fazla tedavi edilmekte, ilaç yan etkisi ve ameliyat morbiditelerine maruz kalmaktadır.

Bu alanda pek çok çalışma invaziv sürecin moleküler belirteçlerini belirlemeye odaklanmıştır ve son çalışmalar PIK3CA, TP53 ve GATA3 genlerindeki mutasyonları agresif DKİS ile ilişkilendirirken, TP53 mutasyonlarının yalnızca yüksek dereceli DKİS ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [8, 9]. Bu noktada bu genlerle ilişkili mRNA (Messenger RNA) ve miRNA (mikro RNA)'lar gündeme gelmektedir.

MikroRNA (miRNA) kısa, protein kodlamayan RNA'dır ve mRNA hedefleri üzerinde transkripsiyon sonrası kontrol uygular. MiRNA'ların metabolizma, kök hücre bölünmesi, hücre

büyümesi ve farklılaşması, programlı hücre ölümü dahil ana hücresel süreçleri kontrol ettiği gösterilmiştir [10]. Bugüne kadar, insanlarda toplam kodlama genomunun %1'inden fazlasını oluşturan 900'den fazla miRNA tanımlanmıştır [11].

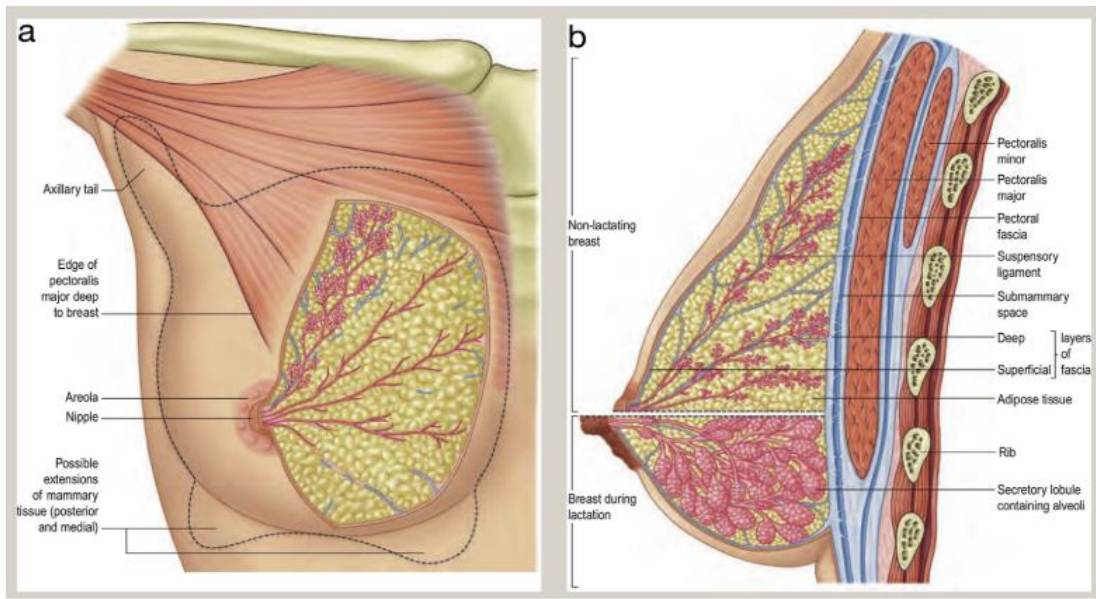
İMK patogeneğinde miRNA'nın rolü pek çok çalışmaya konu olmuştur. Örneğin, anormal miRNA ekspresyonu, meme kanseri dokusu ve hücre hatlarında tarif edilmiştir [12-14]. MiRNA ekspresyonu, östrojen reseptörü (ER) ve progesteron reseptörü (PR) ekspresyonu, tümör evresi, vasküler invazyon veya proliferasyon indeksi gibi spesifik meme kanseri biyopatolojik özellikleri ile ilişkilidir. Ek olarak, sürekli downregüle edilen birçok miRNA, örneğin miR-206, miR-17-5p, miR-125a, miR-125b ve let-7 ailesi gibi miRNA'lar tümör baskılayıcılar gibi davranabilir ve sürekli olarak upregüle edilen birçok miRNA, örneğin miR-21, miR-10b ve miR-27a onkogenler gibi davranabilir [15].

Günümüzde DKİS'ten İMK'ye dönüşümü etkileyen genetik yollar ve miRNA'lar araştırılmaktadır ve miRNA'ların ilk tanımlandığı 2000'li yıllardan bu yana oldukça yol katedilmiştir. Çalışmamızın amacı; tarama ve biyopsi ile DKİS saptanan kadın hastalarda İMK'ye ilerlemeyi ön görece miRNA molekülünü saptamak ve bunu biyobelirteç veya terapötik hedef olarak kullanabilmektir. Bu şekilde DKİS tanısı alan hastaların invaziv kansere ilerlemeyecek olan kısmına gereğinden fazla tedavi verilmesini önlemek hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Meme Anatomisi

Yetişkin kadın memesi 2. ve 6. kaburgaların üzerine oturur. Medialde sternum gövdesinin lateral kenarı, lateralde midaksiller çizgi arasındadır. Üst dış kadrandan çıkıntı yaparak koltuk altına uzanan, Spence'in kuyruğu olarak da bilinen, dil benzeri bir çıkıntı mevcuttur (Şekil-1a). Memenin üst dış kadranı, iyi veya kötü huylu meme neoplazmalarının en sık görüldüğü yerdir. Meme ucu erkeklerde ve ergenlik öncesi kadınlarda 4. interkostal aralıkta bulunur.



Şekil-1. Memenin yapısı (a) ve emzirme döneminde meme yapısındaki meydana gelen değişiklikler (b).

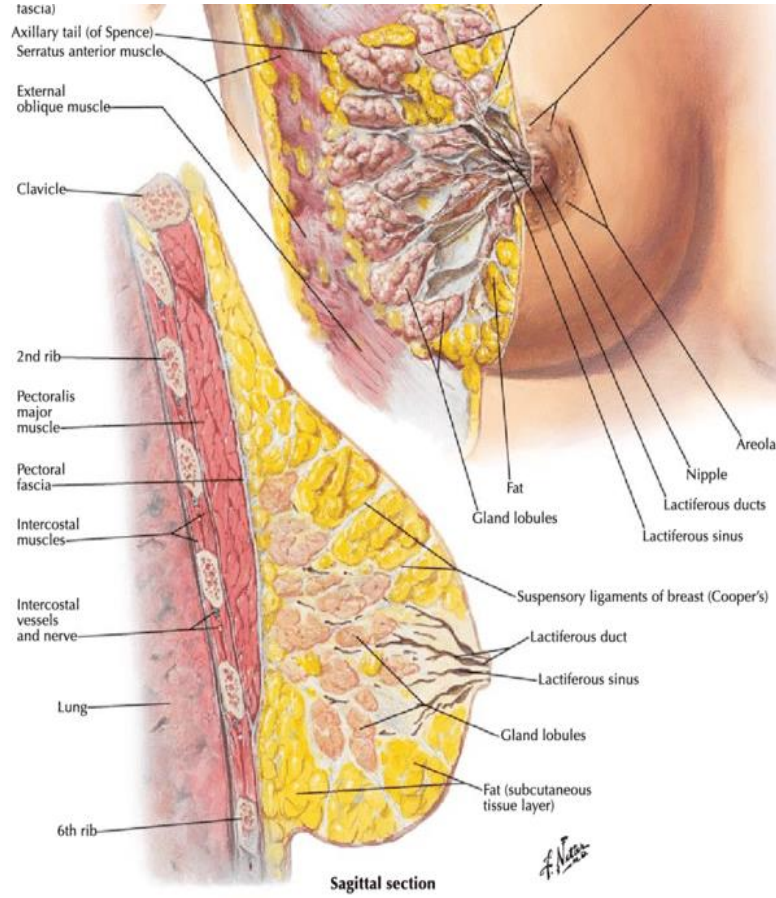
From Standring, S. Gray's anatomy, 41st edn, 2016. Edinburgh: Elsevier [16].

Memenin ucunda, 15-20 laktiferöz kanalın (her meme lobülünden bir tane) açıldığı bir meme başı vardır. Meme başı, areolar bezler (Montgomery bezleri) olarak bilinen büyük yağ bezlerine sahip, pigmentli bir cilt alanı olan areola ile çevrilidir [16].

Meme dokusu yüzeysel fasya ile çevrilidir. Bu fasya ön duvarda cilt altı yağ dokunun hemen altındadır ve yüzeysel fleplerin memenin glandüler kitlesinden hızlı, düzgün ve meme dokusu kalmayacak şekilde nispeten avasküler bir düzlemde diseke edilmesini sağlar [16].

Yüzeysel fasya memenin derininde giderek kalınlaşır ve göğüs duvarı fasyası ile devam eder ve fibröz uzantıları bezden geçerek deriye ve meme ucuna kadar uzanarak meme bezi dokusunu 15-20 lobüle bölen septaları oluşturur. Fibröz septalar, memenin üst kısmında daha

gelişmiştir ve burada (Cooper'ın) askı bağlarını oluştururlar (Şekil-2) [16, 17]. Bu asıcı bağların malign infiltrasyonla kısılması, meme karsinomu üzerindeki karakteristik deri çukurluğuna (Peau d'orange) neden olur.



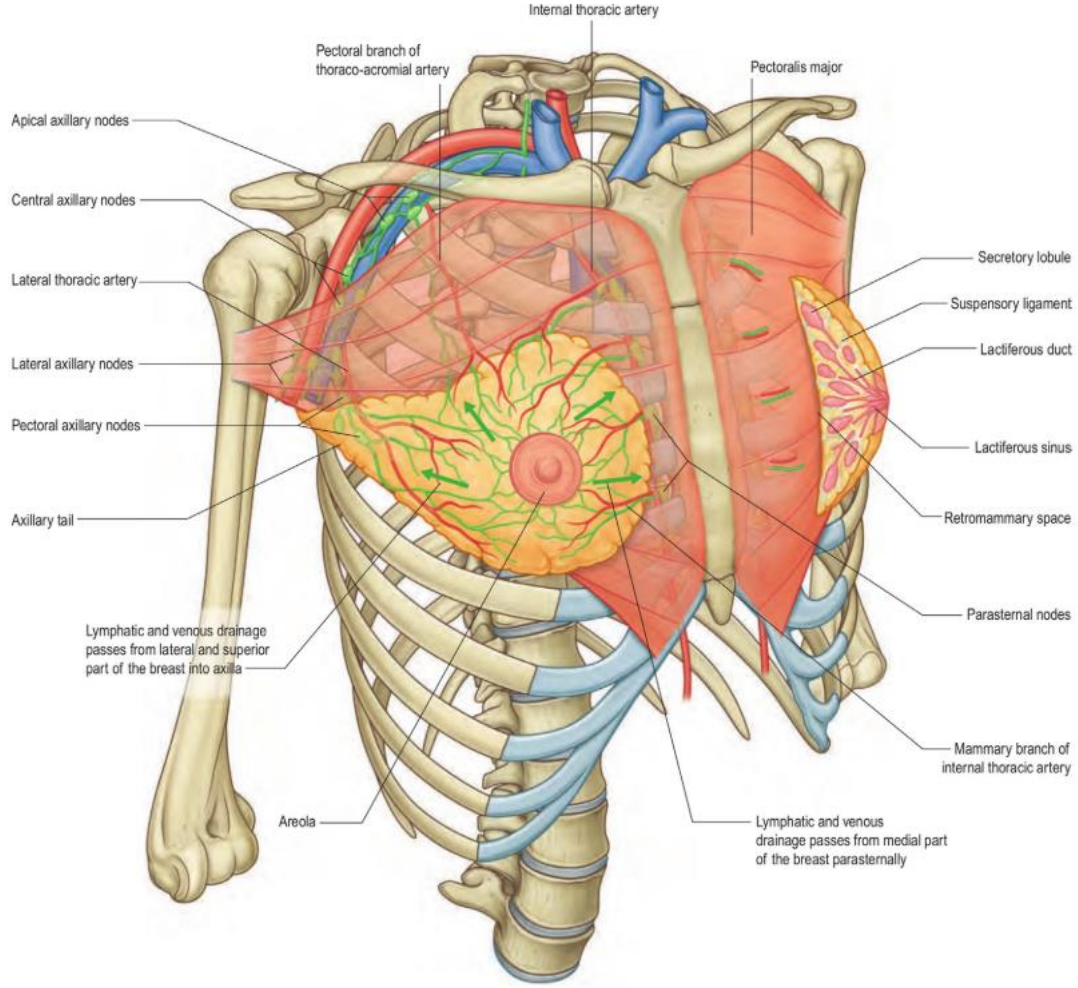
Şekil-2. Memenin fasyaları ve Cooper ligamanı. (Netter Anatomy kitabından alınmıştır)[18]

Memeyi saran yüzeysel fasya kılıfının altında, memenin pektoralis majör ve serratus anteriorun önünde serbestçe hareket etmesine izin veren ince bir areolar bağ dokusu tabakası vardır (Şekil-1b). Bu areolar tabaka, retromamarian veya submamarian boşluğu oluşturur [16]. Lenfatik damarlar ve küçük kan damarlarını içerir. Bir kanserin bu boşluktan alttaki pektoralis fasyasına derin infiltrasyonu, göğüs duvarı invazyonunun işaretidir. Pektoralis majör kasının derininde bulunan pektoralis minör kası klavipektoral fasya ile çevrilidir. Klavipektoral fasya koltuk altı fasyası ile birleşmek için dış yana uzanır [17].

a. Meme Damarlanması

Meme; aksiller, internal torasik (a. mammaria interna) ve interkostal arterlerden türetilen bir arteryal anastomoz ağı tarafından beslenir (Şekil-3). A. mammaria interna'nın perforan dalları ana besleyicilerdir ve birinci ve dördüncü interkostal aralıklarda sternal kenara bitişik

ön göğüs duvarını delerler. İkinci boşluktaki dal genellikle bunların en büyüğüdür. Arteryel beslenmenin geri kalanı aksiller arterin dört dalından gelir. Bunlar; akromiyotorasik arter pektoral dalı, lateral torasik, subskapular, superior torasik arterdir. İnterkostal arterlerden memeye ulaşan beslenme lateral delici dalları aracılığıyla olur ve minimaldir. Memeyi besleyen bu arterlere, venöz kanın drene olduğu ilgili damarlar eşlik eder.



Şekil-3. Meme damarlanması. (Relations of the breast. From Standring, S. Gray's anatomy, 41st edn, 2016. Edinburgh: Elsevier.) [16]

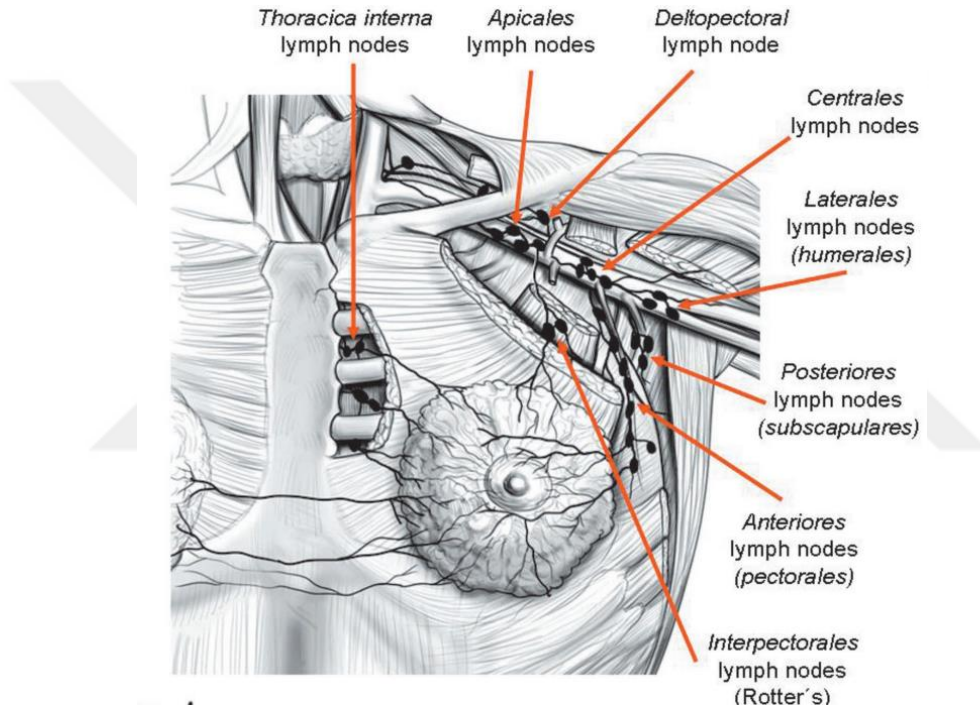
b. Memenin Lenfatik Drenajı

Meme tümörlerinin lenfatik yayılımı nedeniyle memenin lenfatik drenajı cerrah için özellikle önemlidir. Aksillanın gevşek areolar yağı içinde gruplandırılmış lenf düğümleri bulunur. Lenf düğümü sayısı hastadan hastaya değişkenlik gösterir.

Meme deri ve parankiminde bol miktarda lenfatik kanal bulunur. Özelleşmiş lenfatik kanallar meme başı ve areola altında toplanır. Bu kanallara, 1885'te tanımlayan anatomiste

ithafen Sappey pleksusu adı verilir. Lenf akışı ciltten subareolar pleksusa, sonrasında meme parankimindeki interlobüler kanallara doğru olur [16]. Lenfatik akışı değerlendirmek başarılı bir sentinel lenf nodu cerrahisi yapabilmek için önemlidir.

Memeden lenf akışının %75'i aksiller lenf nodlarına yönlendirilir. Küçük bir miktar pektoralis kası yoluyla daha medial lenf nodlarına olur. Hastaların %5'inde lenfatik drenaj baskın olarak mamaria interna lenf nodlarına olurken, %20'sinde ise internal mammarian lenf nodları aksiller lenf nodlarıyla beraber ikincil rotadır [16, 17]. Kanserin bölgesel yayılımını ve baskın lenfatik drenaj rotasını anlamak, hastalığın optimal bölgesel kontrolünü sağlamak için önemlidir.



Şekil-4 Aksiller ve interpektoral lenf nodu grupları (sol aksilla önden görünümü) [19].

Klinik açıdan koltuk altı lenf nodları pektoralis minör kasına göre aşağıdaki gibi üç seviyede tanımlanır [16, 17];

Seviye I: Pektoralis minör alt veya lateralindeki,

Seviye II: Pektoralis minör arkasındaki,

Seviye III: Pektoralis minör üst veya medialindeki lenf nodlarıdır.

Pektoralis minör kası bölündüğünde III. seviye lenf nodlarının görüntülenmesi ve çıkarılması daha kolaydır. Koltuk altının tepe noktası, aksiller venin toraksa geçip subklavyen

ven olarak devam ettiği kostoklaviküler bağ (Halsted bağı) tarafından tanımlanır. Pektoralis majör ve minör kasları arasındaki boşlukta bulunan lenf nodlarına interpektoral veya Grossman ve Rotter tarafından tanımlandığı için Rotter'ın nodları denir [16].

Apikal nod grubundan gelen efferent lenfatik damarlar, subklavyen gövdeyi oluşturmak için birleşir. Solda, bu gövde genellikle doğrudan ductus thoracicus boşalır. Sağ tarafta ise subklavyen gövde doğrudan jugulosubklavyen bileşkeye veya ortak lenfatik kanala açılabilir [17].

İç torasik lenf nodları, iç torasik damarlar boyunca sternum kenarında, 2-3 cm lateralinde uzanır. Sternum her iki yanında yaklaşık 3 ila 5 lenf nodu bulunur. İnterkostal lenf nodları toraks arka tarafında kaburga başlarının yanında bulunurlar. Toraksın posteromedial yüzünden derin lenf damarları ve meme bezinin bir miktar drenajını alırlar [17].

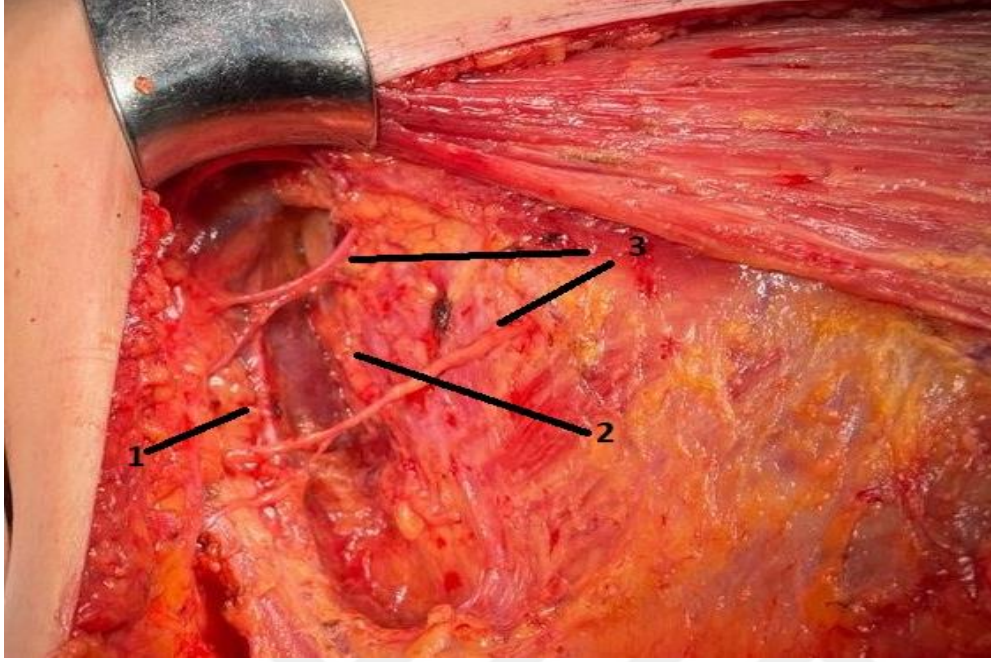
Meme kanserinde supraklaviküler lenf nodlarının tutulumu, genellikle apikal aksiller nodlar yoğun bir şekilde tutulduğu ve böylece tıkanıldığı zaman bloke olmuş lenfatik kanallar boyunca retrograd yayılımı temsil eder. Efferent lenfatik kanallar bu nodlardan direkt olarak aşağı derin servikal zincire geçer ve bu yolla servikal nodların tutulumu olabilir.

Lenfatikler normalde vücudun karşı tarafındaki lenf nodlarına drene olmaz. Bu, bir tümörün bir memeden diğerine erken lenfatik yayılmasının meydana gelmediği anlamına gelir. Bilateral meme neoplazmı vakaları bu nedenle genellikle çift primer tümörlerdir. Bununla birlikte, çok ilerlemiş meme karsinomu vakalarında, lenfatik kanalların aşırı tıkanması, karşı taraftaki memeye deri altı lenfatik geçişin oluşmasına izin verir [17].

c. Aksilla Sinir Anatomisi

Medial tarafta göğüs duvarına yakın seyir gösteren, serratus anterior kasını uyaran uzun torasik sinir (nervus thoracicus longus) veya Bell'in siniri yer alır. Serratus anterior kası scapulayı göğüs duvarına sabitlemek için önemlidir. Omzun adduksiyonu ve kolun ekstansiyonunu sağlar. Sinirin kesilmesi kanat skapula deformitesine neden olabilir. Bu sebeple koltuk altı cerrahisinde uzun torasik sinir korunur. Koltuk altı diseksiyonu sırasında karşılaşılan ikinci ana sinir, latissimus dorsi kasını uyaran torakodorsal sinir (nervus thoracodorsalis)'dir. Bu sinir brakial pleksusun arka kordundan çıkar ve uzun torasik sinirin girişine yakın, aksiller venin altından aksiller boşluğa girer. Aksillayı latissimus dorsi'nin medial kenarına doğru çaprazlar. Aksiller lenf nodlarının diseksiyonu sırasında torakodorsal sinir ve damarlar korunur. Medial pektoral sinir (nervus pectoralis medialis) pektoralis majör kasını innerve eder ve kasın

lateral kenarını saran nörovasküler bir demet içinde yer alır. Aksiller venin yerini belirlemek için iyi bir çıkış noktasıdır. Diseksiyon esnasında korunması gerekir [16]



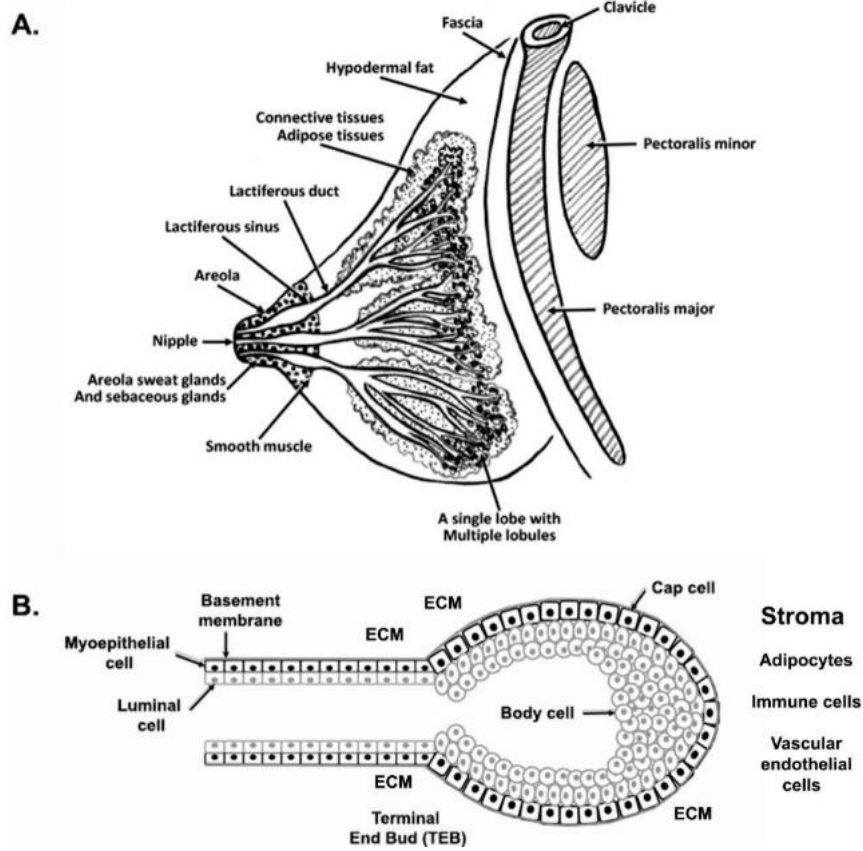
Şekil-5. 1.Nervus Thoracodorsalis, 2. Nervus Thoracicus Longus, 3. Nervus Intercostabrachialis

Büyük duyuşal interkostal brakiyal (nervus intercostabrachialis) veya brakiyal kutanöz sinirler kolun üst kısmının alt yüzeyine ve aksillanın arka kenarı boyunca göğüs duvarının derisine duyu sağlar. Bu sinirlerin hasarı bu alanlarda duyu kaybı ile sonuçlanır [16].

2.2. Meme Histolojisi

Meme bezi memelilere özgü bileşik, dallanmış tubuloalveolar bir yapıdır. Epidermal apokrin bezden gelişmektedir [20]. Embriyoda kalınlaşan ektodermden iki vertikal bant (mammaryan ridges, süt çizgileri) belirginleşir. Belirlenen bu noktalarda meme bezi gelişmeye başlar. Meme bezleri, memeli yavrularının doğum sonrası hayatta kalmasını desteklemek için bir besin kaynağı olarak süt salgılaması açısından yeni neslin devamı için önemlidir. Meme bezinde luminal ve bazal epitel olmak üzere iki ana epitel tipi vardır. Luminal epitel; duktal veya alveolar lümeni kaplayan hücrelerdir. Bazal epitel ise lümen tabakasını çevreleyen ve hücre dışı matris, adipositler ve çeşitli bağışıklık hücrelerinden oluşan stroma ile temas eden miyoepitelyal hücrelerden oluşur [21]. Aynı zamanda hem luminal hem de miyoepitelyal hücreleri/tabakaları oluşturan kök ve progenitor hücreleri barındırır [22]. Multipotent meme kök hücreleri (MaSC'ler), neonatal, pubertal ve gebelik aşamalarında luminal ve miyoepitelyal hücrelere geniş yenilenme kapasitesi olan unipotent kök hücreler sağlar [20]. Epitel, epiteli

stromadan ayıran ve meme bezinin gelişimini etkileyen ana ekstrasellüler matrix (ESM) tiplerinden biri olan bazal membran (BM) tarafından kılıflanmıştır [23].

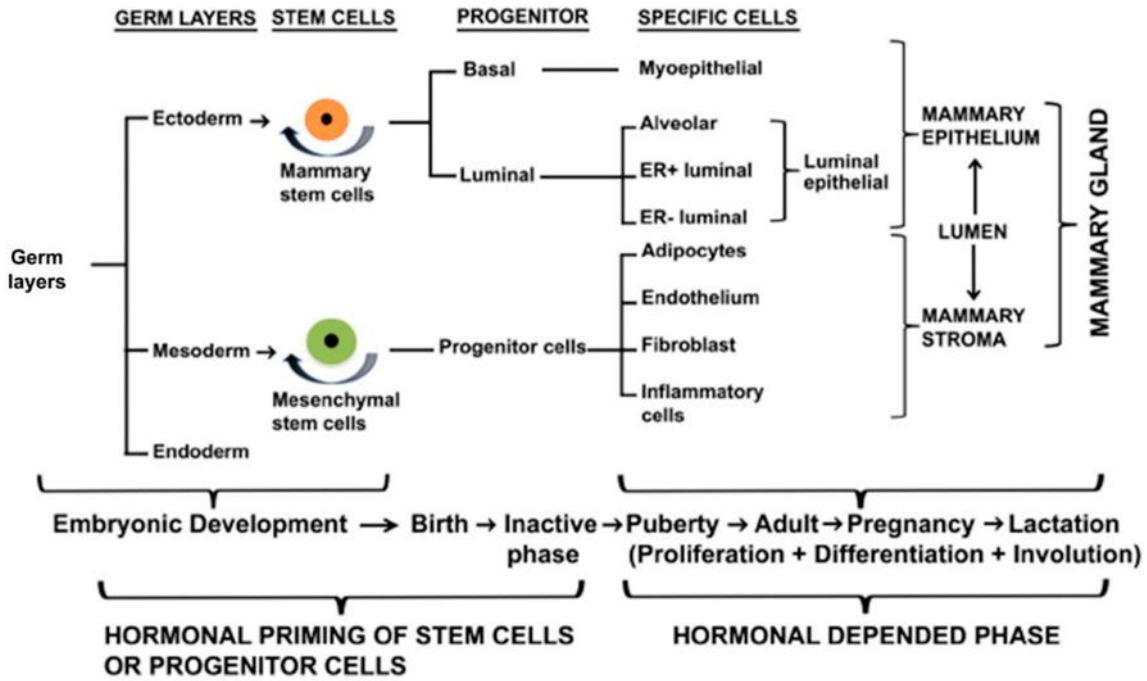


Şekil-6. (A) Yetişkin insan meme bezinin şematik gösterimi (B) Terminal uç tomurcuğunun (TUT/TEB-Terminal End Bud) şematik gösterimi [73].

Stromal bağ dokularının ana bileşenleri, meme yağ yastığını oluşturan ve gömülü duktal ağı koruyan adipositler, hematopoietik sistemi destekleyen fibroblastlar, kan damarlarını destekleyen vasküler endotel hücreleri, çeşitli doğal bağışıklık hücreleri (makrofaj ve mast hücreleri) ve sinirlerdir [21, 24]. Yağlı stroma, epitelin iki katmanlı yapısı için destekleyici ağıdır ve bezin fiziksel yapısının yanı sıra besinler, kan temini ve bağışıklık savunması sağlar. Kollajen açısından zengin ESM stromal tabaka tarafından üretilir [25]. Stromal ve epitelyal hücreler, üreme hormonları ve metabolik hormonlara yanıt verir [26, 27].

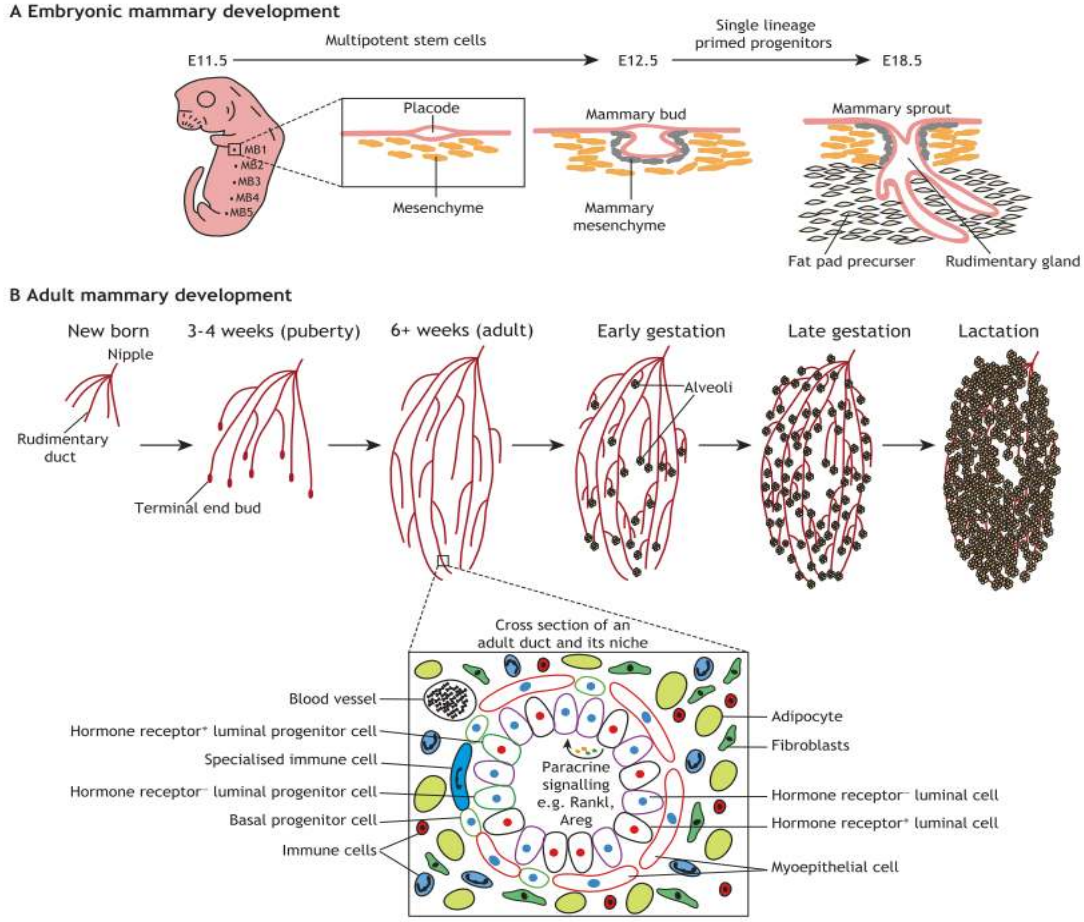
2.3. Meme Embriyolojisi

Meme gelişimini çeşitli aşamalarda inceleyebiliriz (Şekil-7). İlk aşama ana rahminde, insan fetüsünde 7 hafta civarında başlar [28]. Bir çift plakod halinde gelişen çoklu katmanlar oluşur [29]. Epitel hücreleri, mezenkimden gelen sinyaller tarafından yönlendirilmeye başlar.



Şekil-7. Epitelyal-mezenkimal hücrelerin kökeninin ve embriyonik dönemden erişkin aşamaya kadar gelişiminin şematik bir temsili [20].

Bu sinyalleme, plakodların şekillenmesini ve ESM bileşenlerinin konumlandırılmasını sağlar. Epitel hücreleri adipositlere ulaşır ve dallanmaya başlayarak erken bir duktal sisteme yol açar ve duktal lümen oluşur. Embriyogenez sırasında, epitelyal-mezenkimal etkileşim ve transformasyon, polarizasyon, doku onarımı ve meme bezinin oluşumunda kritik bir rol oynar [30]. Meme bezi büyümesi ergenliğe kadar izometrik devam eder [29]. Ergenlikte meme büyümesi allometrik hale gelir [29, 31]. Embriyonik aşamadaki meme gelişimi hormonlardan bağımsız gerçekleşirken, ergenlikle beraber başlayan proliferasyon, gebelikte diferansiyasyon ve laktasyon sonrası involüsyon fazları hormon bağımlıdır. Hipofiz bezi, hipotalamus ve gonadlardan gelen parakrin ve endokrin sinyaller tarafından tetiklenir. Bu sinyaller, gelişmemiş duktal sistemi gebelik için hazırlayan büyüme faktörlerini ve hormonları içerir. Bu dönemde kanalların uçlarında dişi memenin temelini oluşturan terminal uç tomurcukları (TUT/TEB-*Terminal End Bud*) olarak bilinen kök hücreleri barındıran büyüme yapıları oluşur [32].



Şekil-8. (A) Meme plakodları meme tomurcuklarını oluşturur. (B) Hamileliğin neden olduğu değişiklikler ve yetişkin meme bezi gelişiminin çeşitli aşamalarının özeti [21].

TUT'lar gövde (body) ve multipotent yeteneklere sahip kap (cap) hücrelerinden oluşur [33] ve yoğun çoğalma ve çatallanma bölgeleri haline gelir (Şekil-6). Duktal uzama ve dallanmaya TUT proliferasyonu ve çatallanma aracılık eder, bu da yanıl ikincil ve üçüncül dalları filizlendiren birincil kanalların oluşumuna yol açar [34]. Duktal dallanma, muhtemelen meme epitel hücreleri ile dalların uzaması için rehberlik ipuçları sağlayan ESM arasındaki etkileşimler tarafından yönlendirilir [35]. Ayrıca bu etkileşim lümen epitel hücrelerini ve apikal yüzeyleri duktal yapıya katkı sağlayacak şekilde polarize eder [36]. Sonuç olarak yağ yastığını dolduran oldukça dallanmış bir kanallar ve yan dallar ağı oluşur. Daha sonra, her östrus döngüsünde tersiyer dalların döngüsel genişlemesi ve gerilemesi meydana gelir [21].

Üçüncü ve en dramatik olay hamilelik ile meydana gelir. Alveoler tomurcuklar, üçüncül dalların uçlarında bulunur; süt salgılayan alveolleri oluşturacak olan terminal kanal lobüler birimlerinde (terminal duktal lobüler unit) kümelenir [28]. Dallanma, yumurtalıklardan progesteron, hipofiz bezinden prolaktin salgılanmasına yanıt olarak artar [29]. Duktal dallanmanın genişlemesini, alveolleri oluşturmak için alveolar tomurcukların proliferasyonu,

bölünmesi ve farklılaşması ile karakterize edilen alveologenesi takip eder [37]. Alveoller, merkezi bir lümen etrafında tek bir tabaka halinde küresel olarak düzenlenir ve süreksiz bir miyoepitelyal hücre tabakası ile çevrelenir [38]. Alveollerin etrafında kan ve salgı damarları ile çevrili kümeler oluşur [30]. Gebeliğin ortalarında, alveolar lümen hücrelerinde salgı farklılaşması başlar. Meme bezi stroması vaskülarize olur ve yağ dokusu içeriği azalır [38, 39]. Gebelik sonrası, serum progesteron seviyeleri önemli ölçüde düşer ve alveoler hücreler üzerindeki prolaktin reseptörlerinin sayısı artar [29]. Bu alveoler hücreler, laktasyon sırasında polarizedir ve proteinleri, yağları ve besin maddelerini kanala atarlar.

Laktasyon sona erdiğinde, involüsyon dönemi başlar. Lobuloalveolar yapılar, programlanmış hücre ölümü ve doku yeniden modellemesinin bir kombinasyonu ile geriler ve bez, gebelik öncesi duruma benzer şekilde dallanmış bir duktal ağa geri döner [30]. İnvolüsyon süttten kesimden sonraki 24 saat içinde başlar ve iki aşamadan oluşur. İlk aşamada, meme bezi alveolleri, yapılarında ciddi bir değişiklik olmadan apoptoz geçirir [77]. Bu involüsyon fazı, emzirmenin yeniden başlamasıyla 48 saat içinde tersine çevrilebilir [40]. Süttten kesmeden 48 saat sonra, alveoler yapıların ve laktasyona uygun hücrelerin yıkımını içeren ikinci aşama başlar ve geri döndürülemez. Alveolar yapıların parçalanması ile yağ hücreleri meme bezini yeniden doldurur ve meme bezi yapısı gebelik öncesi durumuna döner.[30]

2.4. Meme Fizyolojisi

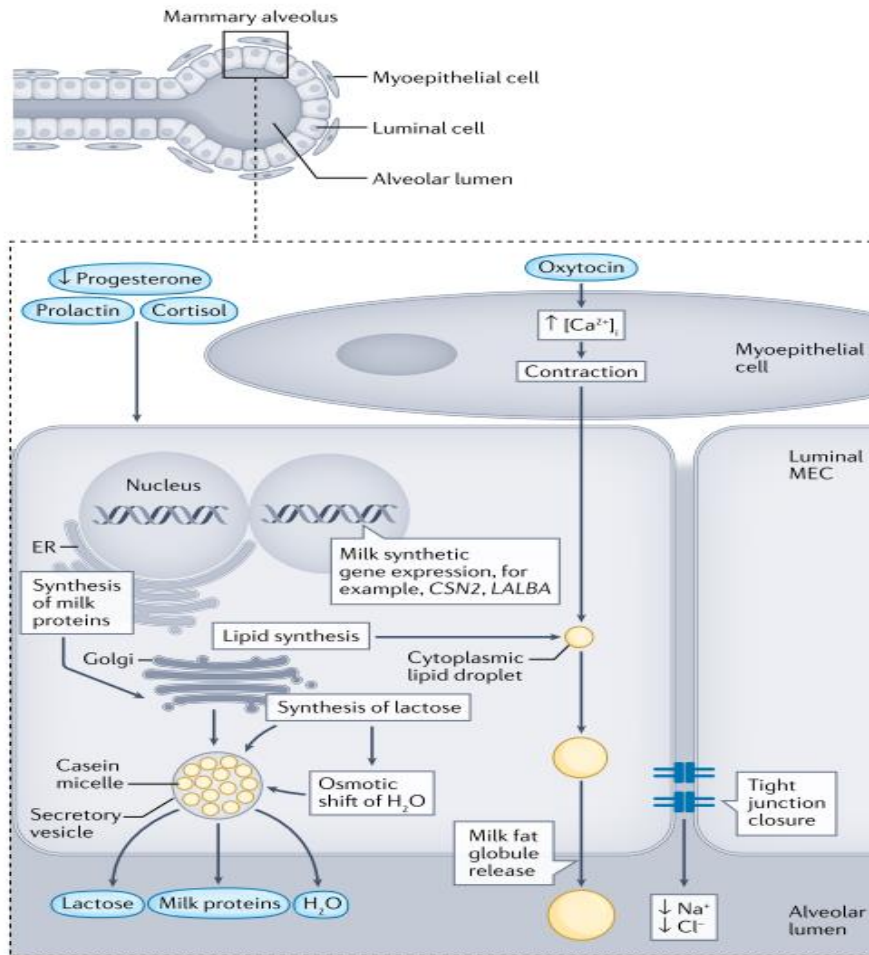
2.4.1. Emzirmenin Başlatılması

Süt salgısı aktivasyonu, süt sentezinde belirgin bir artış ve ribozomal proteinler ve translasyon uzatma faktörleri gibi protein sentezinde yer alan genlerin upregülasyonu ile ilişkilidir [41]. Alveolar hücreler arasındaki sıkı bağlantı kompleksleri salgı sırasında kapatılır. Bu değişikliğe postpartum 1-2. günlerde insan süttündeki laktozda artış ve sodyum ve klorürde azalma eşlik eder [42].

Meme epitel hücreleri (MEH) golgisi içinde artan laktoz sentezi, suyu MEH'lere çeken bir ozmotik gradyan oluşturur, bu da alveoler lümene bol miktarda süt salgılanmasıyla sonuçlanır (Şekil 9) [43]. Süt daha sonra miyoepitelyal hücrelerin kontraktil etkisiyle dışarı atılır ve laktiföz kanallardan meme ucuna taşınır. İnsan laktasyonu sırasında, lümen MEH'leri çeşitlenir ve özel roller geliştirir; bazı alt popülasyonlar süt sentezine aracılık ederken diğerleri

sütün taşınmasını kolaylaştırır ve/veya meme alveollerine yapısal destek sağlar [44].

Prolactin: the principal lactation hormone. Circulating concentrations of prolactin increase throughout pregnancy. During the third trimester in humans, blood concentrations of prolactin reach values ~10-fold higher



Şekil-9: Süt sentezi ve hormonal kontrol mekanizması [43].

2.4.2. Hormonal Düzenleme

Kadın pubertesi, hem TUT (terminal uç tomurcuğu) oluşumu hem de duktal uzama ve dallanma ile karakterize edilen meme bezi gelişimini sinerjistik olarak indükleyen dolaşımdaki östrojenler ve büyüme hormonundaki (Growth hormone-GH) artışla ilişkilidir [45, 46]. Hamilelik sırasında meme bezi gelişimi, alveoler progenitör hücreleri (APC) oluşturmak için ilk MEH proliferasyonu ile karakterize edilen ve sonrasında sütü sentezlemek ve salgılamak için orta ila geç gebelik sırasında farklılaşan iki fazlı bir süreci temsil eder [47].

a. Prolaktin:

Dolaşımdaki prolaktin konsantrasyonları hamilelik boyunca artar. İnsanlarda üçüncü üç aylık dönemde, kandaki prolaktin konsantrasyonları ~10 kat daha yüksek değerlere ulaşır. Prolaktin, meme alveollerinin gelişimini teşvik eder, alveolar ve luminal MEH'lerde süt bileşenlerinin gen transkripsiyonunu artırır ve bebeğin emmesine yanıt olarak doğum sonrası süt sentezine aracılık eder [48-50].

b. Progesteron:

Salgı aktivasyonu, prolaktin ve kortizol varlığında progesteron çekilmesi ile tetiklenir [50]. Progesteron, yetişkin meme kök hücrelerinin gelişmesinde ve MEH proliferasyonunda anahtar mitojendir [51-53]. Hücre döngüsünün ilerlemesini düzenleyen siklin D1 proteinini içeren bir mekanizmayla progesteron reseptörü pozitif MEH'lerin bir alt kümesinin çoğalmasını artırır. Bu ilk proliferasyonu, NF-κB ligandının (RANKL) progesteron reseptörü negatif MEH'leri parakrin yolla etkileyerek daha büyük ölçekli proliferasyon izler ve alveolar oluşum desteklenir [54].

c. Metabolik hormonlar:

Metabolik hormonlar da alveogenez ve salgı farklılaşmasında rol oynar. IGF1 (insülin benzeri büyüme hormonu-1), ilk alveolar gelişimi destekler. Bu nedenle, meme IGF1 ekspresyonu azalmış fareler, erken gebelikte bozulmuş alveolar tomurcuklanma göstermiştir [55]. Ayrıca, insülin alveol oluşumuna aracılık eder. MEH-spesifik insülin reseptörü delesyonu olan farelerde toplam alveol sayısında ~%65 azalma ve bozulmuş süt sekresyonu görülmüştür [56]. Glukokortikoidler ayrıca alveolar gelişimi uyarıyor gibi görünmektedir. Bu nedenle, hamilelik sırasında glukokortikoid reseptöründe MEH'e özgü bir delesyon bulunan fareler, MEH proliferasyonunu azaltmış ve bu da bozulmuş alveolar formasyona yol açmıştır [57].

2.4.3. Süt Salgılanması

Süt lipidleri, trigliseritler gibi ER (endoplazmik retikulum)'de sentezlenir ve sitoplazmik lipid damlacıkları olarak birikir ve bunlar daha sonra bozulmamış süt yağı kürecikleri olarak salgılanır [58]. Süt proteinleri (kazeinler gibi) kaba ER'de sentezlenir ve çeviri sonrası işlem için golgiye gönderilir. Golgi aynı zamanda laktoz sentezinin yapıldığı yerdir [59]. Laktoz sentezinin artmasıyla su ozmotik olarak MEH'lere girer. Süt proteinleri, laktoz ve su, golgiden salınan salgı veziküllerinde bölümlere ayrılır. Salgı vezikülleri, lüminal MEH'lerin apikal plazma zarı ile birleşir ve içeriklerini alveolar lümene bırakır. Oksitosin hücre içi Ca^{++}

konsantrasyonunu artırarak miyoepitelyal kontraksiyonu uyarır, bu da sütün dışarı atılmasını sağlar [60] (Şekil 9). Oksitosin ayrıca lümen MEH'lerinden süt yağı küreciklerinin salınmasını da teşvik eder [61] (Şekil-9).

2.4.4. Emzirmenin Sürdürülmesi

Kadınlarda sırasıyla ön ve arka hipofizden prolaktin ve oksitosin salgılanması indüklenir [62]. Emzirenlerde, oksitosin salgılanması emme başlamadan hemen önce pulsatil bir şekilde başlar ve muhtemelen bir bebeğin ağlaması gibi dış uyaranlara yanıt olarak ortaya çıkar [63]. Oksitosin, sütün dışarı atılmasını şu şekilde uyarır: Miyoepitelyal hücrelerde kalsiyum konsantrasyonunu artırır, bu da alveolar ve duktal kasılmaları ortaya çıkarır, böylece alveollerden meme ucuna süt taşınmasına yol açar [63, 64]. Prolaktin salgısı emzirmenin ilk birkaç ayında en yüksek düzeyindedir ve giderek azalır [65]. Prolaktin emzirme için ana endokrin uyarıcı olmasına rağmen, süt sentez hızı dolaşımdaki prolaktin seviyesi ile korele değildir [66].

2.4.5. Emzirme Sonrası Meme İnvolüsyonu

İnvolasyonun ilk ve geri dönüşümlü fazına, süt stazının MEH'lerde TGF- β 3 izoformu ve LIF (lösemi inhibitör faktör) gibi yerel sitokinlerin ekspresyonunu artırması neden olur [67, 68]. Bu sitokinler, MEH'leri salgı yapan bir fenotipten fagositik bir fenotipe çeviren STAT3'ü aktive eder [69]. Farelerde yapılan çalışmalar fagositik MEH'lerin alveolar lümenden süt yağı küreciklerini yuttuğunu ve bunları hidroliz için lizozomlara taşıyarak hücre ölümüne yol açan toksik serbest yağ asitlerinin salınmasına neden olduğunu göstermiştir [69].

2.5. Meme Kanseri Epidemiyolojisi

Kadınlarda görülen kanser vakalarının çeyreğini temsil eden meme kanseri, 2020'de kadınlarda açık ara en yaygın tanı alan kanserdir ve yükü dünya çapında, özellikle gelişmekte olan ülkelerde artmaktadır [70]. 2020'de dünya çapında tahminen 2,3 milyon kadına meme kanseri teşhisi konmuş ve yaklaşık 685.000 kadın hastalıktan ölmüştür. Bu oran kadınlardaki her 6 kanser ölümünün 1'ine veya %16'sına tekabül etmektedir [71].

Tablo.1- Meme kanseri 2020 yılı yeni vaka ile meme kanserinden ölüm sayısı ve yüzdeleri [71]

Table 1

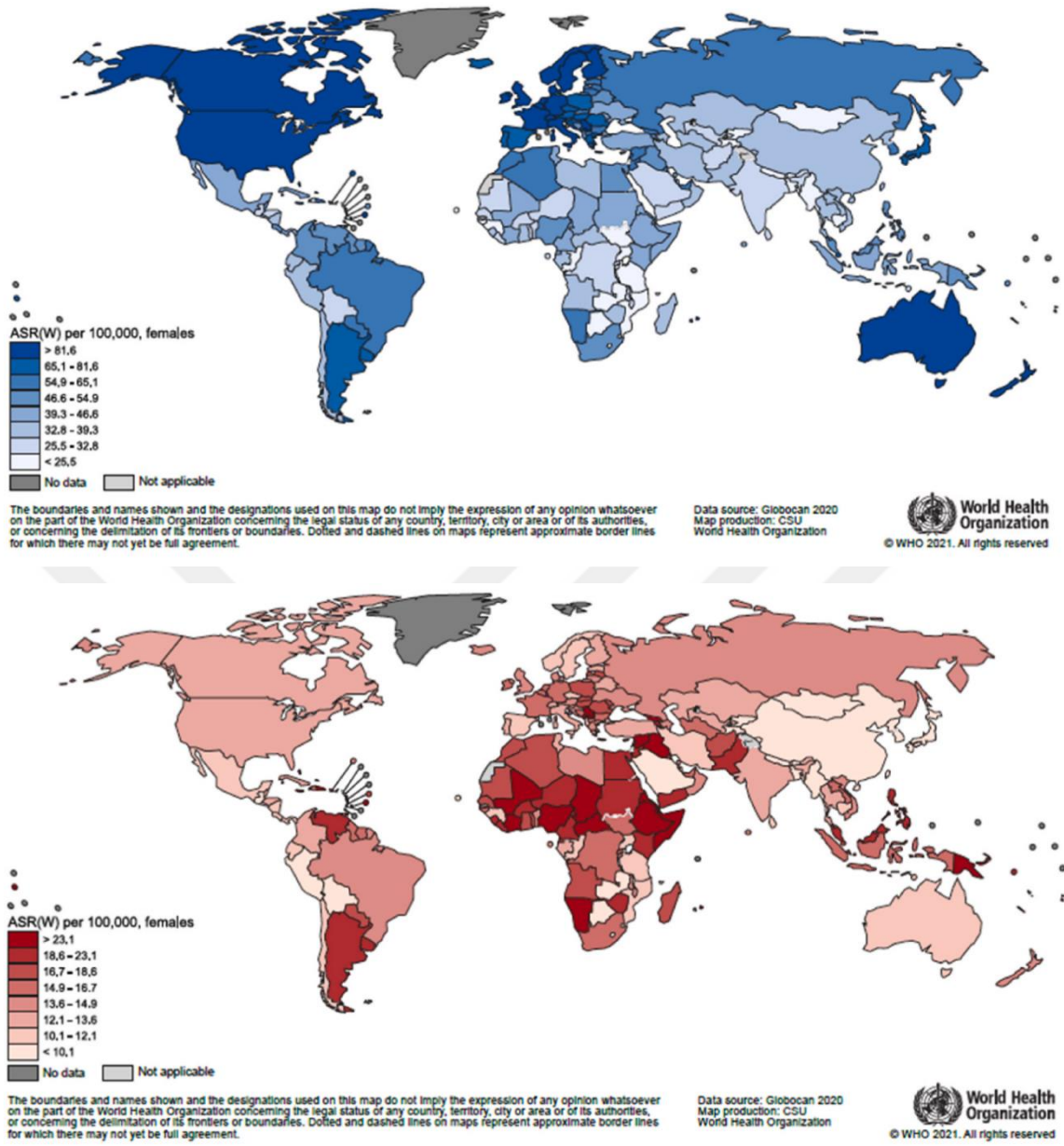
Breast cancer incidence (new cases) and mortality (deaths) in 2020 by world region and Human Development Index level.

POPULATION ^a (in millions)			NEW CASES				DEATHS			
	N	(%)	N	(%)	ASR	Cum. Risk (0-74yrs, %)	N	(%)	ASR	Cum. Risk (0-74yrs, %)
Eastern Africa	224.4	5.8	45,709	2.0	33.0	3.6	24,047	3.5	17.9	2.0
Middle Africa	90.0	2.3	17,896	0.8	32.7	3.4	9500	1.4	18.0	1.9
Northern Africa	122.5	3.2	57,128	2.5	49.6	5.1	21,524	3.1	18.8	1.9
Southern Africa	34.3	0.9	16,526	0.7	50.4	5.4	5090	0.7	15.7	1.7
Western Africa	199.6	5.2	49,339	2.2	41.5	4.5	25,626	3.7	22.3	2.5
Caribbean	22.0	0.6	14,712	0.7	51.0	5.5	5874	0.9	18.9	2.0
Central America	91.6	2.4	38,916	1.7	39.5	4.2	10,429	1.5	10.4	1.2
South America	218.7	5.7	156,472	6.9	56.4	6.1	41,681	6.1	14.0	1.5
Northern America	186.3	4.8	281,591	12.5	89.4	9.7	48,407	7.1	12.5	1.4
Eastern Asia	822.6	21.3	551,636	24.4	43.3	4.6	141,421	20.6	9.8	1.1
All but China	117.1	3.0	135,265	6.0	66.9	7.0	24,247	3.5	9.4	1.0
China	705.5	18.3	416,371	18.4	39.1	4.2	117,174	17.1	10.0	1.2
South-Eastern Asia	334.7	8.7	158,939	7.0	41.2	4.5	58,670	8.6	15.0	1.7
South Central Asia	977.1	25.3	254,881	11.3	26.2	2.9	124,975	18.2	13.1	1.5
All but India	314.2	8.1	76,520	3.4	27.5	3.1	34,567	5.0	12.9	1.5
India	662.9	17.2	178,361	7.9	25.8	2.8	90,408	13.2	13.2	1.5
Western Asia	132.6	3.4	60,715	2.7	46.6	5.0	20,943	3.1	16.0	1.7
Central-Eastern Europe	155.2	4.0	158,708	7.0	57.1	6.3	51,488	7.5	15.3	1.8
Northern Europe	53.8	1.4	83,177	3.7	86.4	9.4	17,964	2.6	13.7	1.5
Southern Europe	78.5	2.0	120,185	5.3	79.6	8.5	28,607	4.2	13.3	1.4
Western Europe	99.8	2.6	169,016	7.5	90.7	9.7	43,706	6.4	15.6	1.7
Australia/New Zealand	15.3	0.4	23,277	1.0	95.5	10.4	3792	0.6	12.1	1.3
Melanesia	5.5	0.1	2215	0.1	50.5	5.4	1121	0.2	27.5	2.9
Micronesia/Polynesia	0.6	0.0	381	0.0	58.2	6.0	131	0.0	19.6	2.1
Low HDI	494.5	12.8	109,572	4.8	36.1	3.9	58,586	8.6	20.1	2.2
Medium HDI	1136.0	29.4	307,658	13.6	27.8	3.0	147,427	21.5	13.6	1.5
High HDI	1442.0	37.3	825,438	36.5	42.7	4.6	247,486	36.1	12.1	1.4
Very high HDI	790.7	20.5	1,017,459	45.0	75.7	8.2	231,093	33.7	13.4	1.5
World	3864.8	100	2,261,419	100	47.8	5.2	684,996	100	13.6	1.5

^a Female population; ASR = age-standardized rate per 100,000; Cum. Risk = cumulative risk, ages 0-74 years; HDI= Human Development Index.

En yüksek insidans oranları (100.000 kadında 80'in üzerinde) Avustralya/Yeni Zelanda, Batı Avrupa, Kuzey Amerika ve Kuzey Avrupa'da ve en düşük oranlar (100.000'de 40'ın altında) Orta Amerika, Doğu ve Orta Afrika, Güney-Orta Asya'da gözlenmiştir. En yüksek ölüm oranları (100.000'de 20'nin üzerinde) Melanezya, Batı Afrika ve Mikronezya/Polinezya'da bulunurken, dünyanın diğer birçok bölgesindeki oranlar 100.000'de 10 ile 15 arasında değişmektedir.

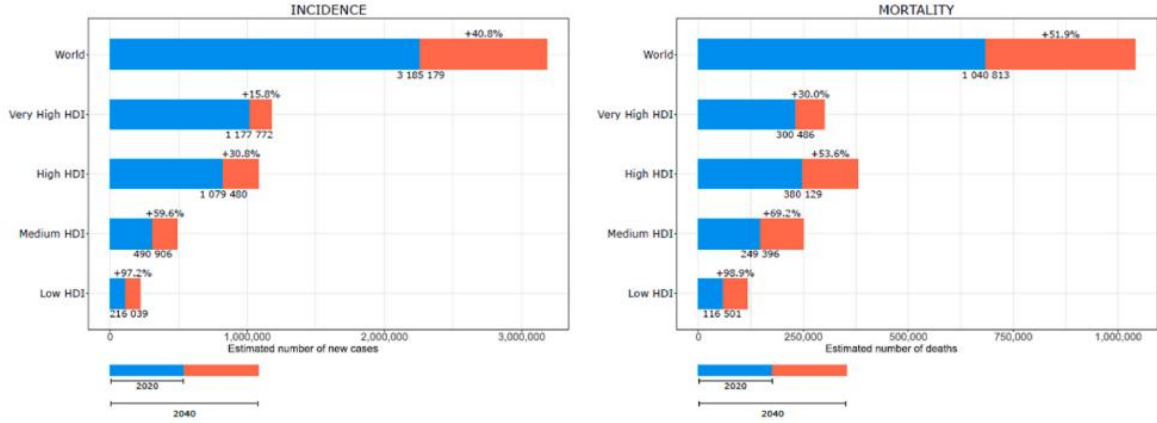
Tüm yeni vakaların %70'inden fazlası ve tüm ölümlerin %81'i 50 yaş ve üzerindeki kadınlarda gözleendiğinden, küresel meme kanseri yükü bu yaş grubunda yoğunlaşmaya devam etmektedir[71].



Şekil.10- Meme kanseri vakalarının ve ölümlerinin dünya bölgelerine göre dağılımı [71].

2020'de meme kanseri insidans oranları, gelişmekte olan ülkelere gelişmiş ülkelere göre neredeyse iki katına çıkmıştır (100.000'de 55,9'a karşı 29,7). Ancak, gelişmekte olan ülkelere yaşayan kadınların ölüm oranları, gelişmiş ülkelerdeki kadınlara kıyasla %17 daha yüksektir (sırasıyla 100.000'de 15,0 ve 12,8). Mutlak vakalar ve ölümler açısından, 2020'de dünya çapında meme kanserinden kaynaklanan tüm vakaların yaklaşık %20'si ve tüm ölümlerin %30'u gelişmekte olan ülkelere meydana gelmiştir [71].

Tablo.2- İnsani Gelişme Endeksi (İGE) düzeyine göre 2020'den 2040'a kadar tahmini meme kanseri vakası ve ölüm sayısı [71].



2040 yılına kadar, yeni teşhis edilen meme kanseri sayısının %40'ın üzerinde artarak her yıl yaklaşık 3 milyon vakaya ulaşacağı tahmin edilmektedir. Benzer şekilde, meme kanserinden ölümlerin %50'den fazla artarak 2020'de 685.000'den, 2040'ta 1 milyona çıkacağı tahmin edilmektedir (Tablo-2). Yeni vaka ve ölüm sayısının 2040 yılına kadar iki katına çıkmasının beklendiği gelişmekte olan ülkelerde, özellikle düşük gelişmişlik endeksi olan ülkelerde büyük bir nispi artış görülecektir (sırasıyla 110.000'den 216.000'e ve 59.000'den 116.000'e). 2020'de meme kanseri vakalarının %18,4'ü ve ölümlerin %30,1'i gelişmekte olan ülkelerde meydana gelirken, 2040'ta bu payın sırasıyla %22,2 ve %35,2'ye yükseleceği tahmin edilmektedir. Bu tahmin, yalnızca nüfusun büyümesi ve yaşlanmasından kaynaklanmaktadır ve insidans oranlarındaki değişikliklerle daha da değiştirilebilir [71].

2.6. Meme Kanseri Histopatolojisi

2.6.1 Noninvaziv Meme Kanseri

Meme kanseri hücrelerinin bazal membranı tutup tutmamalarına göre in situ veya invaziv kanser olarak ayrılırlar [72]. İnvazyon çok küçük bir alanda olabileceği için, doğru tanı multiple mikroskopik kesitlerin incelenmesiyle koyulabilir. Noninvaziv meme neoplazmları bazal membranı aşmamış, LKİS (lobüler karsinoma in situ) ve DKİS (duktal karsinoma in situ) olmak üzere iki gruba ayrılır.

a. LKİS (Lobüler Karsinoma İn Sıtu)

LKİS terminal duktal lobüler ünitelerden gelişir ve sadece kadın memesinde görülür. LKİS mikrokalsifikasyon içeren meme dokusunda bulunabilir ancak genellikle mikrokalsifikasyonlar LKİS komşuluğundaki dokuda görülür. Bu durum tanıya yardımcı olur.

LKİS tanısı genellikle rastlantısal olarak konulur ve tanı alma yaş ortalaması 45'tir [73]. LKİS tanısı alan kadınların %25-35'inde invaziv kanser gelişir. Bu kanser LKİS alanında değil her iki memeden birinde gelişebilir ve %5 vakada LKİS ile birlikte senkron invaziv tümör tespit edilmiştir. LKİS öyküsü olan kadınlarda %65 invaziv duktal karsinom gelişmiştir [73]. Bu durum LKİS'in bir öncül lezyondan çok meme kanseri risk faktörü olarak değerlendirilmesini gerektirir [17, 73].

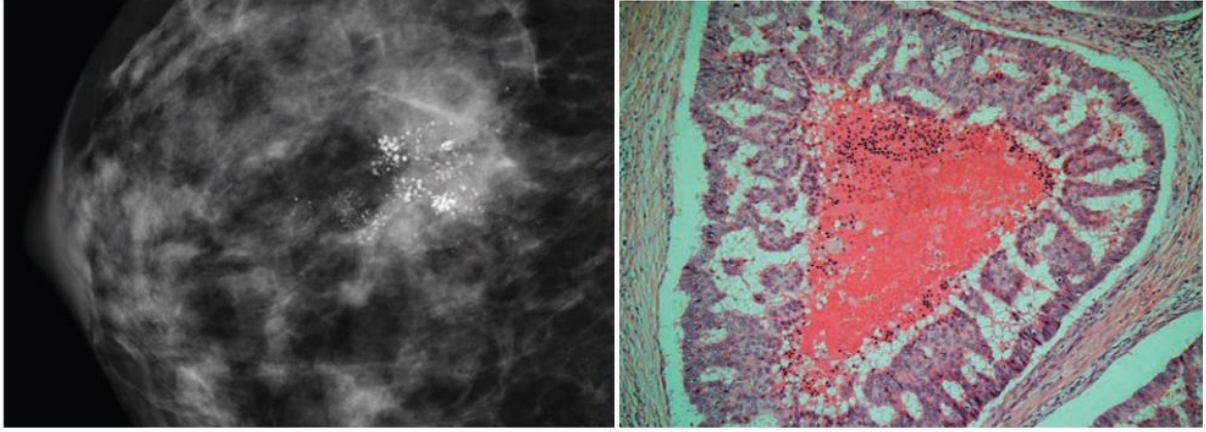
b. DKİS (Duktal Karsinoma İn Situ)

DKİS morfolojik olarak daha heterojen bir lezyondur, patologlar bu lezyonu dört kategoride inceler: papiller, kribriform, solid ve komedo tipleri [73]. DKİS, genelde normal mioepitelyal hücreler içeren bazal hücre tabakası ile birlikte malign hücrelerle dolu ayrı boşluklar olarak görülür. DKİS'in dört morfolojik kategorisi nadiren saf lezyonlar olarak izlenir, çoğunlukla karışıktır. Papiller ve kribriform tipleri genellikle daha düşük derecelidir ve invaziv kansere dönüşmesi daha uzun zaman alabilir. DKİS'in solid ve komedo tipleri genellikle daha yüksek dereceli lezyonlardır [17].

Histolojik olarak DKİS minör duktusları örten epitelin proliferasyonu ve duktus laminasında papiller oluşumlar ile karakterizedir [73]. Papiller oluşumlar birleşir ve duktus laminasını doldurur (papiller büyüme paterni). Polarite kaybı gösteren atipik kanser hücre yığınları ve aralarında boşluklar görülür (kribriform büyüme paterni). Daha sonra pleomorfik kanser hücreleri lümeni doldurur ve duktusları genişletir (solid büyüme paterni). Duktal membran içindeki hücreler büyüdükçe bu hücrelere giden kanın bazal membranın dışında yer alması nedeniyle santral nekroz gelişme eğilimi olur (komedo büyüme paterni) [17, 73]. Kanalın merkezindeki nekrotik birikinti koagülasyona uğrar ve sonunda kalsifiye olur, böylece mamogramlarda görülen küçük, pleomorfik ve sıklıkla lineer mikrokalsifikasyon formlarına yol açar. Bazı hastalarda, tüm bir duktal ağaç maligniteye dahil olabilir ve mamogram, meme ucundan memenin içine doğru uzanan tipik kalsifikasyonları (segmental kalsifikasyonlar olarak adlandırılır) gösterir.

Tam olarak anlaşılamayan nedenlerle DKİS, genellikle kanal içindeki hücrelerin morfolojisini kapsayan invaziv bir kansere dönüşür. Başka bir deyişle, düşük dereceli kribriform DKİS, bazı kribriform özelliklerini koruyan düşük dereceli invaziv bir lezyonla ilişkili olma eğilimindedir. Derecenin invazyona ilerleme eğilimiyle bir ilişkisi yoktur. DKİS sıklıkla başka türlü invaziv kanserlerle bir arada bulunur ve yine, malignitenin iki fazı morfolojik olarak birbiriyle uyumludur [17].

DKİS daha çok kadın memesinde görülse de erkek meme kanserlerinin %5ini oluşturur. Meme kanseri riski DKİS tanısı almış hastalarda 5 kat kadar artmıştır [74]. İnvaziv kanser DKİS gelişen aynı taraf meme ve aynı kadranda gelişir, bu da DKİS'in bir risk faktörü değil invaziv duktal karsinomun anatomik bir öncülü olduğunu gösterir [73].



Şekil-11. Duktal karsinoma in situ (DKİS). A. Kraniokaudal mamografik görüntü, mikrokalsifikasyonlar içeren, zayıf tanımlanmış bir kitle B. Histopatolojik olarak nekrozlu DKİS [73].

2.6.2 İnvaziv Meme Kanseri

Meme kanseri eskiden LKİS ilişkili olan lobuler karsinom, diğerleri duktal karsinom olacak şekilde sınıflandırılmıştır [75, 76]. Sonrasında geliştirilen histolojik sınıflandırmada ise meme kanserinin özel tipleri tanımlanmıştır. Bu grup toplam vakanın %10'unu kapsar ve özel tip kanser tanısı koyulabilmesi için tümörün en azından %90'ı tanımlanan histolojik özellikte olmalıdır. Meme kanserlerinin %80'i özel tip içermeyen invaziv duktal karsinomlardır ve bu grup özel tip içeren meme kanserinden daha kötü prognozludur [75].

1968'den bu yana meme kanseri sınıflaması güncellenmiş, en son DSÖ (dünya sağlık örgütü) sınıflaması 2019'da yayınlanmıştır. Son DSÖ sınıflaması sadece invaziv tümörleri değil, prekürsör lezyonları, düşük malignite potansiyalli lezyonları ve benign epitelyal, miyoepitelyal, fibroepitelyal lezyonları ayrıca mezenkimal lezyonları da kapsamaktadır [77]. Son yıllarda meme tümörlerinin patoloji ve moleküler biyolojisini daha iyi kavramamıza rağmen, hala bu tümörleri moleküler olarak tanımlayan bir sınıflandırmaya sahip değiliz.

a. İnvaziv Meme Karsinomu- Özel Tip İçermeyen

2003 sınıflamasında invaziv duktal karsinom olarak sınıflandırılan tümör terminolojisi son sınıflamada invaziv karsinom, özel tip içermeyen olarak güncellenmiştir. Bunun gerekçesi, 'duktal' teriminin kanıtlanmamış histogenetik varsayımları (tümörlerin duktal sistemden türetilmesi) taşıması ve invaziv duktal karsinomun tek tip bir karsinom grubu içermemesidir. Ek olarak, diğer spesifik meme kanseri türleri de sıklıkla duktal karsinoma in situ (DKİS) ile ilişkilidir ve bu nedenle, özel tip olsalar da invaziv duktal karsinomlar olarak kabul edilebilirler [78].

b. İnvaziv Meme Karsinomunun Özel Alt Tipleri

En yaygın özel alt tipler; invaziv lobüler, tübüler, kribriform, metaplastik, apokrin, müsinöz, papiller ve mikropapiller karsinomun yanı sıra medüller, nöroendokrin ve tükürük bezi/deri adneksial tip özellikleri olan karsinomu içerir.

İnvaziv lobüler karsinom (İLC) klasik tip ile solid, alveoler, pleomorfik, tübülolobüler ve karışık varyantları karşılaştırıldığında ayrım prognozadaki farklılıklar ile ilişkilidir. E-kadherin ile immün boyama, İLC'yi NST(non spesifik tip) karsinomlardan ayırmada yardımcı olabilir, ancak İLC'lerin yaklaşık %15'i aynı zamanda E-kadherin eksprese eder (örn. Tubuloalveolar varyant). Bu nedenle E-kadherin ile pozitif boyanma sınıflama için yeterli değildir.

Tübüler ve invaziv kribriform karsinom özellikle olumlu bir prognoza ve benzer düşük dereceli tümör nükleer özelliklerine sahip karsinomlardır.

Medüller özelliklere sahip karsinomlar az ya da çok 'medüller' görünümüne sahip bir tümör grubudur ve yeni DSÖ sınıflandırmasının ayrı bir bölümünde açıklanmıştır. Medüller özelliklere sahip karsinomların nispeten iyi sonucu, belirgin bir lenfo-plazmositik infiltrat [79] ve bu tümörlerde bir B hücresi/plazma hücresi metajeninin varlığına bağlanır [80]. Medüller özelliklere sahip karsinomlar, BRCA1 germ hattı mutasyonları olan hastalarda daha sık görülür.

Metaplastik karsinom, malign hücrelerin skuamöz veya mezenkimal görünümlü elemanlara farklılaştığı diğer bir invaziv meme kanseri grubunu temsil eder. Bu tümör grubunun heterojenliği nedeniyle, tanımlayıcı bir sınıflandırma savunulmaktadır. Bir grup olarak, metaplastik karsinomlar tipik olarak üçlü negatif tümörlerdir, ancak diğer üçlü negatif meme kanseri formlarından daha kötü prognoza sahiptirler [81].

Apokrin farklılaşması olan karsinomlar çoğunlukla özel tip içermezler; ancak apokrin farklılaşma lobüler, mikropapiller, papiller ve medüller tümörler gibi özel tip karsinomlarda da

görülmektedir [82]. Bu nedenle, apokrin karsinom teriminin kullanılması önerilmez ve apokrin farklılaşma gösteren tümörler, birincil invaziv tiplerine göre sınıflandırılmalıdır. Bu tümörlerin sıklıkla ER ve PR negatiftir ve çoğunlukla androjen reseptör ekspresyonu ve/veya HER2 pozitifliği gösterirler [83].

Adenoid kistik karsinom, memenin en sık görülen tükürük bezi tipi tümörüdür ve vakaların büyük çoğunluğunda düşük dereceli bir malign tümördür [84].

Müsinöz karsinomlar ve taşlı yüzük hücre farklılaşmasına sahip karsinomlar, yeni DSÖ sınıflandırmasında birlikte açıklanmaktadır. Memenin invaziv müsinöz karsinomu karakteristik olarak lüminal müsinöz A moleküler alt tipine sahiptir [85], ancak hiperselüler veya tip B müsinöz karsinomlar olarak büyük hücre kümeleri ile ortaya çıkan müsinöz karsinomlar [86], nöroendokrin karsinomlarınkine benzer bir gen ekspresyon paterni gösterir [87]. Prognostik olarak, saf müsinöz karsinomlar mükemmel bir prognoza sahiptir, ancak mikst müsinöz karsinomların sonucu NST tümörlerine benzerdir [88].

Nöroendokrin özelliklere sahip karsinomlar, çoğunlukla düşük veya orta dereceli nükleer özelliklere sahip tümörlerdir ve morfolojik özellikleri gastrointestinal sistem ve akciğerin nöroendokrin tümörlerine benzer. NST karsinomlar ve müsinöz, papiller karsinomların bazı özel varyantları, nöroendokrin özellikler sergileyebilir; bunlar nöroendokrin farklılaşma gösteren invaziv meme karsinomu olarak özetlenmektedir [78].

Memenin invaziv papiller karsinomu papiller morfolojiye sahip, ancak bunun dışında ayırt edici klinik, genetik veya prognostik özellikleri olmayan memenin özel olarak farklılaşmış adenokarsinomu olarak kabul edilir. Lenfovasküler invazyon ve bölgesel lenf düğümü metastazı eğilimi olan lüminal tip bir meme kanseridir.

İstisnai olarak nadir görülen tümör türleri ve varyantları, genç hastalarda ortaya çıkan, belirgin bir genetik translokasyona sahip bir tümör olan memenin sekretuar karsinomu içerir. Onkositik karsinom, böbrek ve tiroidin onkositik tümörlerine benzer. Diğer nadir tümör tipleri arasında polimorf karsinom, memenin sebase karsinomu, lipidden zengin karsinom, glikojenden zengin şeffaf hücreli karsinom ve asinik hücreli karsinom bulunur.

c. Özel Durumlar

Mikroinvaziv karsinom, kanser hücrelerinin 1 veya daha fazla odakta bazal membranın ötesine sızdığı, ancak hiçbirinin en büyük boyutunun 0,1 cm'den fazla olmadığı, pT1 meme kanserinin bir alt kümesidir. Yeni DSÖ sınıflandırması, mikroinvazyon için AJCC'nin TNM

tanımını benimsemiştir [89]. Mikroinvaziv karsinom, genellikle yüksek nükleer dereceli, yaygın DKİS'li vakalarda görülür. Mikroinvazyon için değişen tanı kriterleri nedeniyle, mikroinvaziv karsinomun klinik davranışına ilişkin sağlam veriler mevcut değildir, ancak yazarlar hasta prognozunun mükemmel olduğu ve eşdeğer boyut ve derecedeki saf DKİS'li hastalardan net bir şekilde farklı olmadığı görüşünü ifade etmektedir. Mikroinvaziv karsinom tedavisinin, yüksek dereceli DKİS ile aynı ilkeleri izlemesi önerilir.

Enflamatuvar karsinom, kendine özgü klinik ve/veya patolojik kriterleri olan çok agresif bir meme karsinomu formudur [90]. Klinik belirtiler arasında hızlı meme büyümesi ve memenin üçte birinden fazlasını tutan cilt değişiklikleri (kızarıklık, ödem, peau d' orange) yer alır. Genellikle memede ayrı bir ele gelen kitle yoktur, ancak yaygın bir sertlik vardır. Klinik belirti ve semptomların patolojik eşdeğeri, meme derisinde çok sayıda lenfatik tümör hücresi embolisinin varlığıdır. Tipik klinik ve/veya karakteristik histopatolojik özellikler mevcutsa inflamatuvar karsinom tanısı konulabilir. Tümörlerin immünoprofilisi değişkendir, ancak çoğu NST karsinom grade 3'tür.

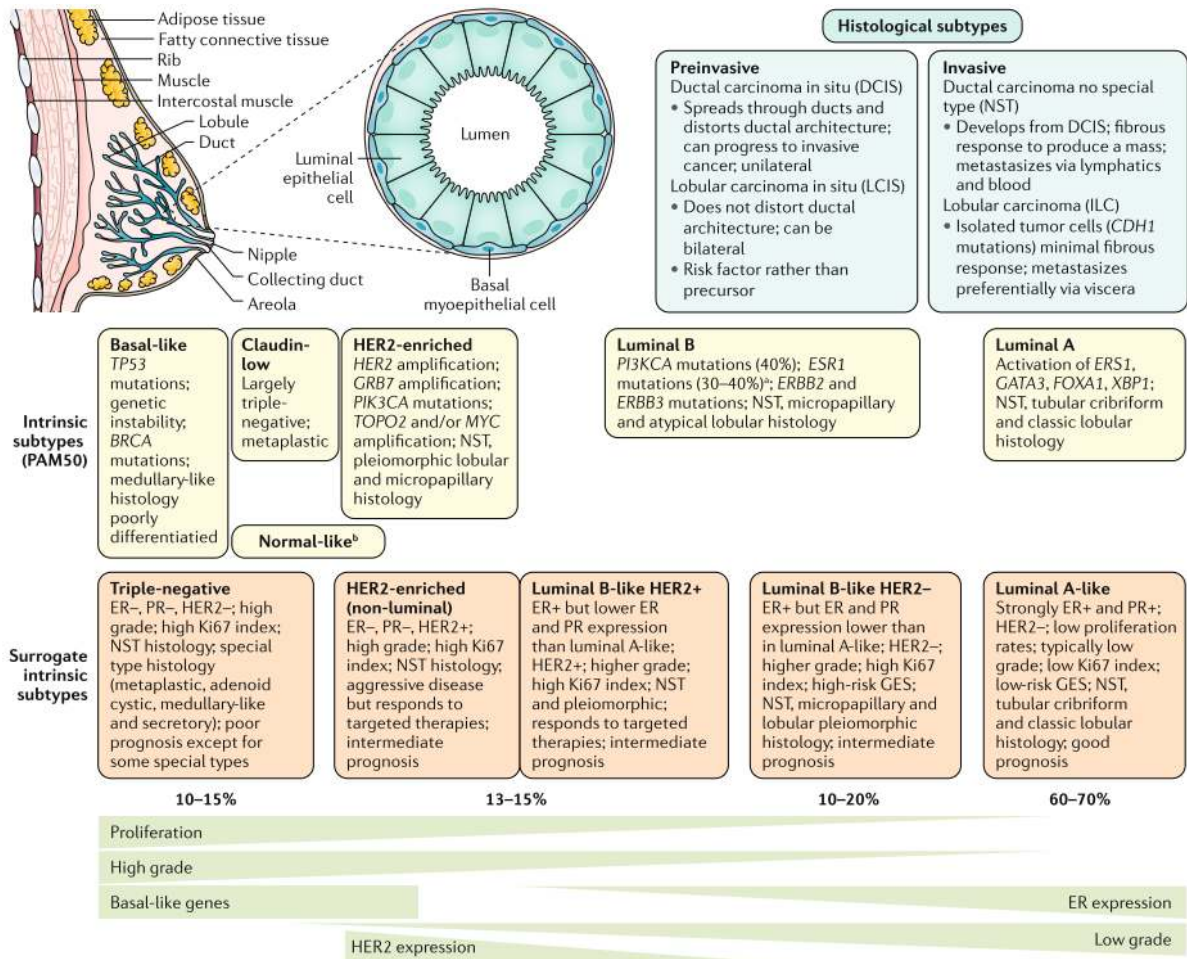
Bilateral meme kanseri ile senkron ve senkron olmayan bilateral meme karsinomunun ayırt edilmesi gerekir. Eş zamanlı (senkron) meme kanseri, kontralateral meme karsinomunun primer kanserin tanılanmasından sonraki 3 ay içinde veya eş zamanlı olarak ortaya çıkması şeklinde tarif edilirken, metakron bilateral meme kanseri tanımı, ilk tümörün teşhisinden 3 ay sonra ortaya çıkan tümörler için kullanılır [91]. Ancak epidemiyolojik açıdan 12 aylık bir aralık daha uygun sayılabilir [92].

d. Biyolojik Sınıflandırma

Son on yılda, meme kanseri hastalarında daha iyi sistemik tedavi seçimi yapabilmek için büyük gayret gösterilmiştir. Risk değerlendirmesinin (örn. tümör boyutu ve lenf düğümü durumu) geleneksel olarak en uygun tedavinin seçiminde ana etken olduğu kabul edilmiştir. Son zamanlarda ise tümörlerin farklı terapötik yaklaşımlara beklenen yanıtına güvenme ve ardından tedaviyi hastaların riskine göre yapma alternatifi bu tutuma meydan okudu. Bu, en iyi şekilde 2009 St. Gallen Konsensüsü'nde örneklenmiştir; panelistler, erken meme kanserinin sistemik tedavisinin esas olarak hormon reseptörlerinin ekspresyonu ve HER2 durumu tarafından yönlendirilmesi konusunda hemfikirdir [93].

e. Moleküler Subtipler

Kanserin biyolojisini anlamak verilen tedaviye yanıtı anlamayı böylece etkin tedavi planlamayı olağan kılacaktır [94]. Perou, Sorlie ve meslektaşları meme kanserini gen ekspresyon profiline istinaden luminal A, luminal B, HER2’den zengin, basal-like, normal-like olmak üzere 5 gruba ayırmışlardır (Şekil-12) [95]. İlerleyen çalışmalarla claudin-fakir grup da bu sınıflamaya eklenmiştir [96]. Bu moleküler sınıflandırmanın prognostik değere sahip olduğu ve kemoterapiye yanıtı öngörmeyi sağladığı gösterilmiştir [97].



Şekil-12. Meme kanseri moleküler alt tipleri [98].

• Luminal A ve Luminal B

Luminal A meme kanserinin en yaygın görülen alt tipidir ve olguların %40-60'mı kapsamaktadır [99]. Bu tümörler genel olarak ER, PR pozitif ve HER2 negatiftir [100]. Proliferatif genlerin az seviyede ekspresyonu görülür, düşük histolojik grade ve Ki67 düzeyine sahiptirler [100]. Bu özelliklerinden dolayı luminal A ve B kanserler diğer alt tiplere göre uzun sağkalım ve düşük hastalık nüksü oranlarına sahiptirler [101]. Luminal B alt tipi

meme kanserlerinin %15 kadarını oluşturmaktadır [99]. Yüksek seviyede lüminal sitokeratinler eksprese etmesi ve östrojen reseptörü pozitif olması luminal A alt tipiyle ortaktır ancak luminal A meme kanserine göre kötü prognozlu ve daha agresif seyirlidir [99]. Ki67, siklin B1 vb. proliferatif gen ekspresyon düzeyleri luminal A'dan daha yüksektir [100]. Progesteron reseptör düzeyleri ve HER2 pozitifliği değişiklik gösterebilir [100]. Sonuç olarak luminal A alt tipinde tedavinin merkezinde antiandrojen ilaçlar yer almaktadır. Kemoterapi yanıtı iyi değildir. Luminal B'de antiandrojen tedavi yanıtı östrojen reseptörü pozitif olmasına rağmen daha azdır, kemoterapiye yanıtı daha iyidir [100].

- **HER2 zengin grup**

Meme kanseri olgularının %10'unu kapsamaktadır [99]. HER2 ve ilişkili genlerin yüksek ifadesi söz konusudur [97]. HER2 hedefli ilaçların kullanımından önce kemoterapiye yanıt veriyor olmalarına rağmen kötü prognozlu idiler [97]. HER2 zengin olguların %70'inde proteinin aşırı ekspresyonu mevcuttur. HER2 histolojik olarak pozitif ancak klinik olarak negatif olan grup %30 oranındadır ve bu grupta anti-HER2 tedavinin etkisi tartışmalıdır [102].

- **Basal-Like grup**

Meme kanseri olgularının %10-25'ini oluşturmakta ve yüksek oranda proliferasyon göstermektedir. Ayrıca p53 mutasyonları yüksek oranda görülür [102]. ER, PR ve HER2 ekspresyonu olmadığı için "triple-negative" olarak tariflenen gruba karşılık gelir [102]. Triple-negatif meme kanserlerinin %85'ini basal-like grubu oluşturur ve BRCA1 pozitif kanserler de bu grup ile ilişkilidir [102]. Bu kanserler kemoterapiye duyarlı olsalar da, kötü prognoz göstermektedirler [94-96, 100].

- **Claudin-fakir grup**

Claudin 3,4,7 ve e-kadherin gibi hücreler arası bağlantı proteinlerini düşük oranda ifade eden %7-14'lük meme kanseri grubudur [94]. Bu kanserler metaplastik ve medüller farklılaşma gösterip büyük çoğunluğu triple-negatif kanser olarak ortaya çıkmaktadırlar [102]. Kötü prognozları olup, kemoterapiye yanıt oranları luminal ve basal meme kanserlerinin arasındadır.

- **Normal-like grup**

Meme kanseri olgularının %3-10'una karşılık gelirler ve yağ dokusu karakterinde gen ifadesine sahiptirler [103]. Sıklıkla proliferatif gen ekspresyonu oranı çok yüksek değildir ve

ER pozitiflerdir. Bu sebeple luminal A grubu dışındaki tüm moleküler alt tip meme kanserlerinden daha iyi sağkalım görülmektedir [100].

Moleküler sınıflandırma için başka bir girişim, immünohistokimyasal yaklaşımı kullanarak moleküler alt tiplerin tanımlanmasına izin verecek belirteçleri belirlemek olmuştur. Buna göre, ER, PR, HER2 ve Ki67 immünoaktivitesinin birleşik değerlendirmesi; luminal A, luminal B, HER2 ile zenginleştirilmiş ve bazal benzeri meme kanserlerinin moleküler sınıflandırmasını sağlayacaktır [104]. Bununla birlikte, immünohistokimyasal ve moleküler olarak tanımlanmış sınıfların tamamen örtüşmediğine dikkat edilmelidir. Örnek olarak, bazı bazal benzeri meme kanserleri (moleküler sınıflandırmaya göre) beklenen TNBC immünofenotipi göstermeyecek ve tam tersi, gen ekspresyon profillemesi ile immünohistokimyasal olarak üçlü negatif meme kanserinin tümü bazal benzeri olarak sınıflandırılmayacaktır [105].

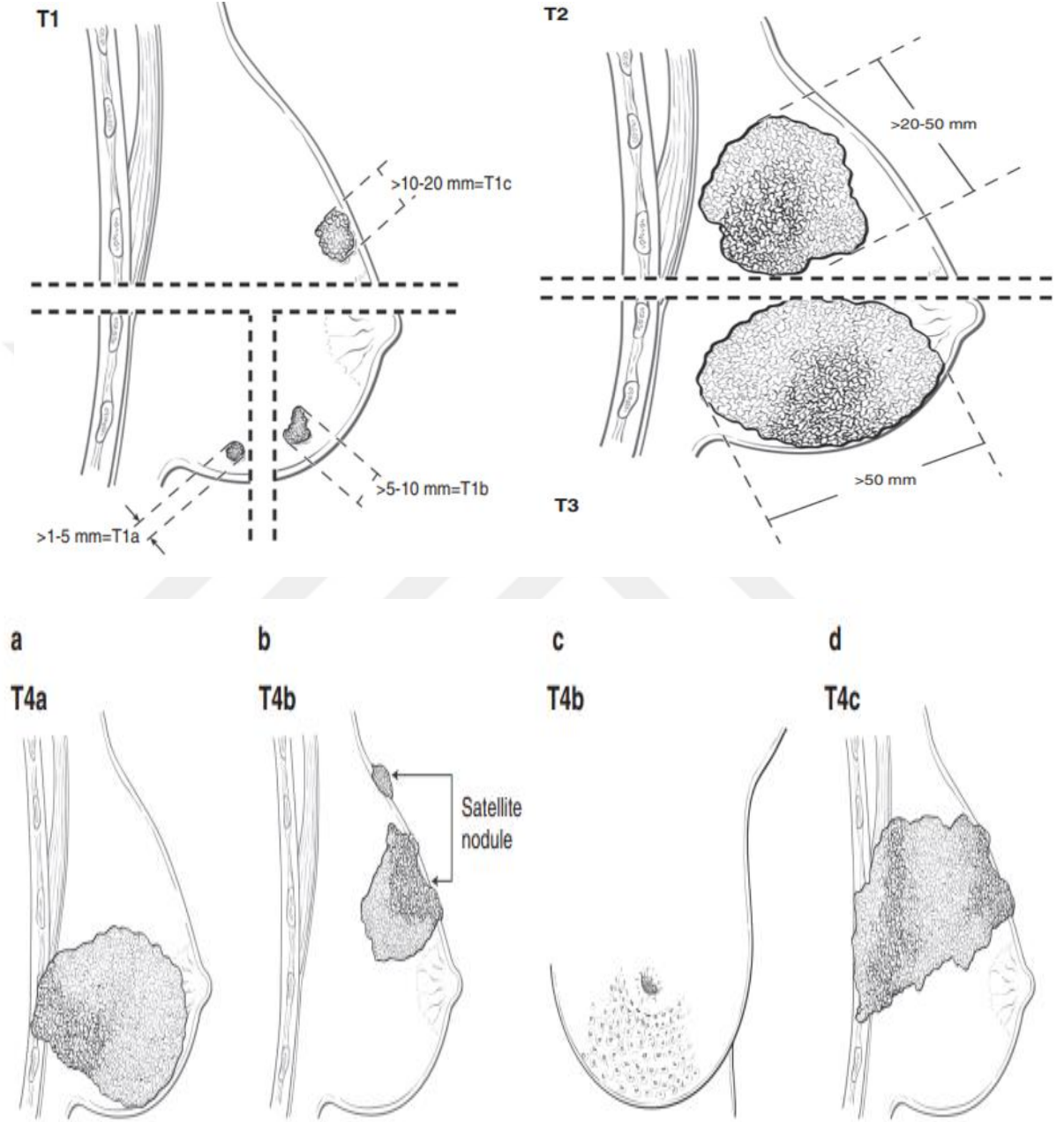
2.7. Meme Kanseri Evrelemesi

1977'deki başlangıcından bu yana, Amerikan Kanser Komitesi (AJCC) tümör boyutu (T), nodal durum (N) ve metastazları (M) içeren anatomik bulgulara dayanan bir kanser evreleme sistemi yayınladı [106]. TNM değerlendirmesi, fiziksel muayene ve boyutun görüntülenmesi, lenf nodu değerlendirmesi ve metastatik hastalık kanıtı gibi geleneksel klinik değerlendirmeyi kullanır. Hastalar primer tümörleri rezeke edildiğinde patolojik evreleme belirlenir. Patolojik evreleme, klinik evrelemeden elde edilen bilgileri ve cerrahi rezeksiyondan T ve N durumunun değerlendirilmesini içerir. Rezeksiyon sonrası anatomik bilgiler, tedavi öncesi biyobelirteç bulgularıyla birleştğinde nihai Patolojik Prognostik Evre ile sonuçlanır [106].

Neoadjuvan tedavi alan hastalara ilişkin, sınırlı tedavi öncesi ve sonrası "ypT" ve "ypN" ile belirtilen T ve N'nin neoadjuvan sonrası kategorizasyonu kullanılmalı ve tümör yanıtının derecesi kaydedilmelidir. Biyobelirteçler, neoadjuvan sonrası "y" aşamasını değiştirmek için kullanılamaz [106].

Meme kanseri için AJCC evrelemesinin sekizinci baskısı, geleneksel anatomik evreleme sistemine çağdaş biyolojik faktörleri (biyobelirteçler) dahil ettiği için kavramsal olarak önceki baskılardan ayrılır. Bu biyobelirteçler, TNM aşamasının modifikasyonuna neden olur. Bu faktörler- östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR), insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2), gen analizleri- prognozu tanımlamak ve tedaviyi belirlemek için pratikte yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu biyobelirteçler, özellikle hormon reseptörü ve HER2, tedavi ve sonuçlar üzerinde büyük bir etkiye sahiptir [106]. Histolojik derece, prospektif kontrollü çalışmalarda değerlendirilmiş ve AJCC evreleme sistemine dahil etmeyi gerektirecek yeterli

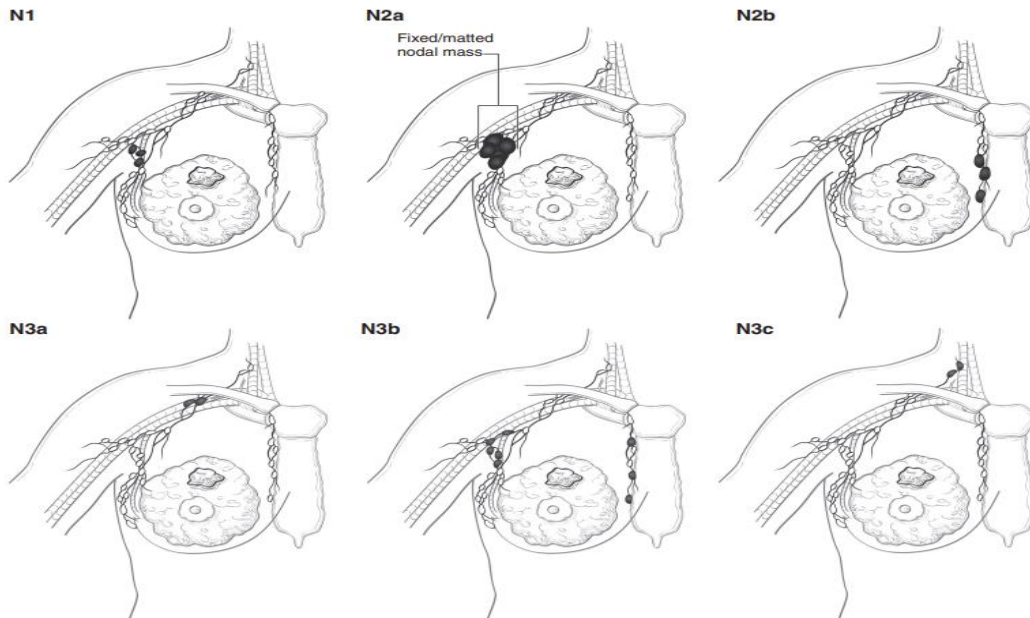
prognostik öngörü sağlamıştır [107]. AJCC 8. Baskısında (2018) hastalar, bu dört biyobelirteçlerin ifadesiyle modifiye edilen geleneksel TNM anatomik bilgileri kullanılarak klinik olarak evrelendirilir.



Şekil-13. T1-Tümör boyutu ≤ 20 mm, T2- Tümör boyutu > 20 mm fakat ≤ 50 mm, T3- Tümör en büyük boyutu > 50 mm [107] T4-Boyuttan bağımsız tümörün göğüs duvarı ve /veya cilt tutulumu (ülserasyon veya makroskopik nodüller), T4a- Göğüs duvarı tutulumu, T4b- İnflamatuvar karsinom olmayan, cilt ülserasyonu ve /veya ipsilateral makroskopik satellit nodülleri ve/veya ödemi, T4c- T4a ve T4b birlikteliği, T4d- İnflamatuvar karsinom[107].

Tablo-3. T evresi için tümör çapının değerlendirilmesi [108].

Tx	Değerlendirilemeyen tümör
T0	Tümör varlığına dair kanıt yok
Tis	Karsinoma in situ
T1	2cm den küçük
T1mi	1mm 'den küçük
T1a	1mm ve 5mm arası
T1b	5mm ve 10 mm arası
T1c	10mm ve 20 mm arası
T2	2 cm ve 5 cm arası
T3	5 cm 'den büyük
T4	Tümör çapından bağımsız toraks duvar ve/veya cilt invazyonu
T4a	Toraks duvar invazyonu
T4b	Ülserasyon ve/veya aynı tarafta satellit nodül ve/veya ciltte ödem (peaud'orange)
T4c	T4a ve T4b birlikte bulunması
T4d	İnflamatuvar karsinom



Şekil-14. N1- Aynı tarafta mobil level I, II aksiller lenf nodu metastazı, N2a- Aynı tarafta birbirine veya diğer yapılara fikse level I, II aksiller lenf nodlarına metastaz, N2b- Sadece aynı taraf internal mammarian lenf nodlarına metastaz, N3a-Aynı taraf infraklaviküler lenf nodu metastazı, N3b- Aynı taraf internal mammarian lenf nod(lar)a ve aksiller lenf nod(lar)a metastaz, N3c- Aynı taraf supraklaviküler lenf nod(lar)a metastaz [107].

Tablo-4. Klinik lenf nodu evrelemesi. [108].

Nx	Bölgesel lenf nodları değerlendirilememiştir.
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1	Aynı taraf level 1-2 lenf nodu metastazı
N2	Aynı taraf level 1-2 lenf nodu metastazı (fikse) veya internal mammarian lenf nodu metastazı
N2a	Aynı taraf level 1-2 metastazik fikse lenf nodları
N2b	Aynı taraf internal mammarian lenf nodu metastazı
N3a	Aynı taraf infraklavikular lenf nodu metastazı
N3b	Aynı taraf level 1-2 ve internal mamarian lenf nodu metastazı
N3c	Aynı taraf supraklavikular lenf nodu metastazı

Tablo-5. Patolojik lenf nodu evrelemesi [108].

pNx	Bölgesel lenf nodlarının değerlendirilememesi
pN0	Histolojik lenf nodu metastazı bulunamaması
pN0 (i-)	Histolojik olarak lenf nodu metastazı yok (immünohistokimya negatif)
pN0 (i+)	Histolojik tanı almış 0.2 mm'den küçük malign hücreler
pN0 (mol-)	Histolojik lenf nodu metastazı yok (RT-PCR ile negatif moleküler bulgular)
pN0 (mol+)	Klinik ve histolojik olarak lenf nodu metastazı saptanamaması- RT-PCR ile pozitif moleküler bulgular
pN1mi	0.2-2 mm veya 200 hücreden fazla mikrometastaz varlığı
pN1a	1-3 lenf nodunun en az birinde 2 mm'den büyük metastaz
pN1b	Klinik olarak saptanamamış, SLNB'de internal mammarian lenf nodu metastazı
pN1c	Klinik olarak saptanamamış ancak SLNB'de 1-3 lenf nodunda ve internal mammarian lenf nodlarında mikro/makrometastaz
pN2a	4-9 lenf nodunda metastaz varlığı
pN2b	Klinik olarak da saptanmış internal mammarian lenf nodlarında metastaz
pN3a	10 veya daha fazla lenf nodu metastazı veya level 3 lenf nodlarında metastaz
pN3b	Klinik olarak saptanmış aksilla lenf noduna metastaz ile aynı taraf mamaria interna lenf nodu metastazı veya
	SNB'de saptanan 3'ten fazla aksilla lenf nodu metastazı ile mammaia interna lenf nodu metastazı
pN3c	Aynı taraf supraklavikuler lenf nodlarında metastaz

Tablo-6. Uzak metastaz varlığına göre klinik M evrelemesi [108].

M0	<i>Klinik/radyolojik olarak uzak metastaz yok</i>
cM0(i+)	<i>Klinik/ radyolojik olarak uzak metastaz yok ancak kan, kemik iliğinde mikroskopik tümör hücresi olması</i>
	<i>veya bölgesel olmayan lenf nodlarında 0.2 mm'den küçük metastaz</i>
M1	<i>Klinik veya radyolojik olarak uzak metastaz varlığı veya uzak dokuda 0.2 mm'den büyük metastaz</i>

Tablo-7. TNM evre gruplaması [108].

T	N	M	EVRE
TIS	N0	M0	Evre 0
T1	N0	M0	Evre 1A
T0	N1mi	M0	Evre 1B
T1	N1mi	M0	
T0	N1b	M0	Evre 2A
T1	N1b	M0	
T2	N0	M0	
T2	N1	M0	Evre 2B
T3	N0	M0	
T0	N2	M0	Evre 3A
T1	N2	M0	
T2	N2	M0	
T3	N1	M0	
T3	N2	M0	
T4	N0	M0	Evre 3B
T4	N1	M0	
T4	N2	M0	
Herhangi bir T	N3	M0	Evre 3C
Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1	Evre 4

2.8. Meme Kanseri Tanısı

Meme kanseri, görüntüleme yöntemleri veya memede ağrı, ele gelen kitle gibi semptomlarla başvuran hastaların izlenmesiyle teşhis edilebilir. Sağlıklı deneklerin izlenmesinin, meme kanserinin ilerlemesine yol açabilecek küçük tümörlerin saptanmasına katkıda bulunabileceği gösterilmiştir [109].

2.8.1. Görüntüleme Yöntemleri

Mamografi (MMG), yüksek duyarlılık ve özgüllük, ucuzluk ve iyi tolere edilebilirlik gibi çeşitli yararları olan, meme kanseri hastalarının saptanmasında altın standart teknik olarak bilinir [110]. MMG kullanımının meme kanseri ölümlerini %19 oranında azaltabileceği gösterilmiştir. Mamografinin çeşitli faydalarının yanı sıra, bu tekniğin ağrı ve endişe, yanlış alarmlar ve radyasyon riskleri gibi kullanımıyla ilişkili bazı sınırlamaları vardır [110].

Ultrasonografi (USG), meme kanserinde teşhis ve tedaviye yanıtın izlenmesinde diğer bir sık kullanılan yöntemdir [111]. USG kullanımı, genç kadınlarda, hamile ve emziren kadınlarda meme tümörlerinin saptanmasında güçlü tanı aracı olmasını sağlayan çeşitli avantajlara (örneğin iyonlaştırıcı radyasyon kullanmaması ve yüksek hassasiyet) sahiptir [112]. Meme müdahalesi ve işaretlerin (tel, kanca) yerleştirilmesi ve elastografi gibi USG teknikleri de uygulanmaktadır [112].

Manyetik rezonans görüntüleme (MRG), meme kanseri teşhisinde diğer önemli bir araçtır. Bu teknik, tedaviye yanıtın izlenmesi, yüksek riskli hastaların değerlendirilmesi, metastazların ve tümör nüksünün incelenmesi dahil olmak üzere meme kanseri tanı tedavisinin çeşitli yönlerinde kullanılabilir [113]. MRG ile sağlanan veriler (örneğin meme başı akıntısı, meme kanseri evrelemesi, mikrokalsifikasyonların değerlendirilmesi, premalign lezyonlar ve ameliyat edilen hastalarda rezidüel tümör) klinisyenleri hastalıkla ilgili yönlendirebilir [114].

PET ve SPECT meme kanseri hastalarında tanıda ve metastaz araştırmasında kullanılabilecek diğer görüntüleme teknikleridir. PET tekniği pozitron yayan radyoaktif izotopları (örn. ^{18}F , ^{15}O , ^{13}N ve ^{11}C) kullanırken, SPECT tekniği $^{99\text{mTc}}$, ^{123}I veya ^{125}I dahil gama fotonları yayan izotopları kullanır [115].

2.8.2 Biyobelirteçler

Çeşitli biyobelirteçlerin kullanılması, meme kanserli hastaların teşhis ve takibinin önemli yönlerinden biri olarak bilinmektedir [116]. Uygun biyobelirteçler, meme kanseri patogeneğinde rol oynayan moleküler ve hücresel yolların daha iyi anlaşılmasına katkıda bulunabilir [116].

Meme kanserli hastalarda etkili terapötik yaklaşımı tasarlamaya ve tedaviye yanıtı izlemeye yardımcı olabilirler. Çeşitli çalışmalar; proteinler (ör. HER2, ER ve Ki67), mRNA'lar (ör. ER α , ER β ve ER γ), enzimler (ör. CEA ve TSGF) ve miRNA'ların (ör. miR- 21, miR-10b, miR-155 ve miR-145) meme kanseri hastalarının saptanması ve izlenmesi için tanısal biyobelirteçler olarak kullanılabileceğini göstermiştir [116, 117].

HER2'nin up-regülasyonu ve amplifikasyonu meme kanseri olgularının %15-30'unda ve mide/gastroözofageal kanser vakalarının %10-30'unda gözlemlenmiştir [118]. Bu nedenle HER2, meme kanseri olan hastalar için öngörücü biyobelirteç olarak kullanılabilir. Ki-67, meme kanseri patogeneğinde kritik rol oynayan diğer önemli bir proteindir. Bu protein, hücresel çoğalma ile ilişkili bir nükleer protein olarak bilinir [119]. Soliman & Yussif çalışmalarında, Ki-67 düzeylerinin meme kanserli hastaları izlemek için öngörücü biyobelirteçler olarak uygulanabileceğini göstermişlerdir [120]. Nüks oranları ile Ki-67 ekspresyonu doğru orantılı bulunmuştur.

Çeşitli meme kanserlerinin östrojen bağımlı olarak başlayabileceği ve ER eksprese edebileceği gösterilmiştir [121]. ER'nin çeşitli alt tipleri arasında ER α , meme bezi biyolojisinde ve meme kanserinin ilerlemesinde önemli görevleri olan meme epitelinde ana ER alt tipi olarak bilinmektedir [122].

Östrojen sinyali, epitelyal-mezenkimal geçişi (EMT) etkileyebilir ve ER α sinyali, Snail ve Slug gibi çeşitli EMT düzenleyicileri ile etkileşime sahiptir [123]. Snail EMT geçişine etki edebilen bir gen olarak bilinmektedir. ER α , Snail'i inhibe edebilen metastaz tümör antijeni (MTA) 3 promotörüne bağlanabilir [124]. Gelişen kanıtlar, ER β 'nin up-regülasyonunun hücre proliferasyonunu azaltabileceğini ve anti-proliferatif (tümör baskılayıcı) fonksiyonlara sahip olabileceğini göstermiştir [125, 126]. Metastatik meme kanserinde ER β 'nin down-regülasyonu gözlenmiştir. ER β ekspresyonunun up-regülasyonu, daha az metastatik durum ve çoğalan tümörler ile ilişkili olabilir [127].

Gelişen kanıtlar, miRNA'ların çeşitli hücrel ve moleküler yolları hedefleyerek meme kanseri patogeneğinde rol oynayabileceğini göstermiştir [117]. Birkaç çalışma, meme kanserinin her bir alt tipinin farklı miRNA ekspresyon profillerine sahip olduğunu ortaya koydu [117]. Bu nedenle, miRNA'ların ekspresyon profillerinin değerlendirilmesi, meme kanserli hastaların teşhisi ve izlenmesi için etkili adaylar olarak kullanılabilir gibi görünmektedir.

Bir çalışmada Park ve arkadaşları 2014'te, mikroarray ve qRT-PCR kullanarak ER pozitif meme kanserli (ER+/HER2-) 11 hastayı izlemek için tanısal biyobelirteçler olarak dolaşımdaki miRNA'ların bir panelini araştırdı. Sonuçları, kanser hastalarının kan örneklerinde miR-1280, miR-1260 ve miR-720 dahil olmak üzere çeşitli miRNA'ların ekspresyon seviyelerinin up-regüle edildiğini gösterdi [128].

Let-7, miR-34c, miR-200c, miR-183, miR-16 ve miR-203 dahil olmak üzere çeşitli miRNA'ların, meme tümörü başlatıcı hücreler gibi çeşitli hücrel ve moleküler hedefleri (yani Sp1, Wip1, EMT ve BMI1) etkileyerek meme kanserinin çeşitli aşamalarında yer alabileceği gösterildi [129-131].

Shimono ve arkadaşları tarafından yapılmış bir çalışma, meme kanseri kök hücre popülasyonlarında ve normal kök hücrelerde çeşitli miRNA'ların ekspresyon seviyelerini değerlendirmiştir. Sonuçlar, 37 miRNA'nın meme kanseri kök hücrelerinde normal kök hücrelerden farklı ekspresyon profillerine sahip olduğunu gösterdi. MiR-183-96-182, miR-200c-141 ve miR-200b-200a-429 dahil olmak üzere üç kümenin ekspresyon seviyelerinin, insan meme kanseri kök hücrelerinde normal kök hücrelere göre önemli ölçüde azaldığını gösterdiler [129].

MiR-200c'nin insan meme kanseri kök hücrelerinin neden olduğu tümör oluşumunu in vivo olarak önleyebileceği gösterilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalar, miR-200c'nin p53 ve ZEB1-BMI1 dahil olmak üzere iki yolu hedefleyerek meme kanseri hücrelerinin metastazını öngörebileceğini ortaya koydu [119, 132].

MiR-200 ailesinin yanı sıra, miR-34c, miR-106b-25 kümesi, miR-30a ve miR-30c gibi diğer miRNA'ların deregülasyonunun EMT'de yolağını alarak meme kanseri hücrelerinde metastaza neden olduğu gösterilmiştir [130, 133-135].

Eksozomlar, meme kanserli hastaların saptanması ve izlenmesi için tanısal ve terapötik biyobelirteçler olarak kullanılabilecek diğer adaylardır [136]. Eksozomlar, çeşitli hücrel ve moleküler sinyalleri alıcı hücrelere aktarabilen biyolojik nano-araçlar olarak bilinir [137, 138].

Eksozomlar, yüklerini (yani proteinler, mRNA'lar ve miRNA'lar) alıcı hücrelere hedefleyerek sinyallerini aktarırlar [139]. Eksozomlar tarafından taşınabilen moleküller arasında miRNA'lar, meme kanserli hastalarda büyük rol oynayan başlıca moleküllerdir [140]. Eksozomal miRNA'ların meme kanseri gibi çeşitli hastalıklarda kritik işleve sahip olduğu gösterilmiştir [140].

Bir çalışmada Hannafon ve ark. meme kanserli hastalarda çeşitli eksozomal miRNA'ların plazma seviyelerini değerlendirdi. Sonuçları, meme kanseri hücrelerinden salınan eksozomların, miR-21 ve miR-1246 dahil olmak üzere çeşitli miRNA'larla zenginleştirildiğini göstermiştir [141]. Başka bir çalışmada eksozomal miR-10b'nin meme kanseri hücrelerinde metastazı indükleyebileceği belirtilmiştir [142].

2.9. Meme Kanseri Tedavisi ve Tarihçesi

2.9.1. Cerrahi Tedavi

Smith Cerrahi Papirüsü (MÖ 3000–2500) meme kanserinden bahseden bilinen en eski belgedir ve hastalık için ‘Tedavisi Yoktur’ yazılmıştır. Celsus 1. yüzyılda “De Medicina” da erken evre meme kanseri dışında hiçbir meme tümörünün çıkarılamayacağını savunmuştur [143].

İkinci yüzyılda ise Galen meme kanserini yengeç şekline benzetmiş ve tümörü etrafındaki sağlıklı doku ile birlikte dairesel olarak çıkarmıştır [144]. Sonrasında meme kanseri bulaşıcı bir hastalıkmiş gibi kabul edilerek uzun süre cerrahi tedaviden uzaklaşmıştır. Morgagni ile başlayarak cerrahi rezeksiyonlar tekrar uygulanmaya başlanmış, ilk mastektomi ve aksiller diseksiyon denemeleri yapılmıştır. 17-19 yüzyıllar arası aydınlanma dönemi yaşanmıştır. Virchow tarafından ortaya konan hücrel patoloji popülerleşmeye başlamış ve Le Dran meme kanserinin lenf nodları yoluyla koltuk altına yayılan lokalize bir hastalık olduğunu savunmuştur. Bu nedenle ameliyat ettiği hastalarda büyümüş olan koltukaltı lenf nodlarını da çıkarmıştır [145].

1894'te Halsted ve Meyer kendi ameliyat tekniklerini bildirmişlerdir. Halsted'in radikal mastektomisi, meme bezi, her iki pektoral kas ve tüm aksiller lenfatik dokunun çıkarılmasını içermektedir [146]. Böylece daha iyi bir bölgesel kontrol sağladıklarını savunmuşlar ayrıca aksillaya uzanan sinirlerin (nervus thoracicus longus ve thoracodorsalis) rezeksiyonunu ameliyata dahil etmişlerdir. Radikal mastektomide güncel standart 1972'de John Madden

tarafından oluşturulmuştur [19]. Tekniğe katkısı, her iki pektoral kasın korunmasıdır. Böylece 1970'lerde Amerika'da radikal mastektomiden pektoral kasların korunduğu modifiye radikal mastektomiye hızlı bir geçiş yaşanmıştır.

Ulusal Cerrahi Adjuvan Meme ve Bağırsak Projesi (The National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project-NSABP) cerrahiye uygun meme kanserli vakalarda bölgesel tedavi etkinliklerini belirlemek için çalışmalar başlatmıştır. NSABP B-04 çalışmasında, aksillası metastatik olmayan kadınlar 3 tedavi grubuna ayrılmış; radikal mastektomi, total mastektomi +RT ve sadece total mastektomi yapılmıştır. Aksilla lenf nodu pozitif olanlar ise radikal mastektomi ve total mastektomi+RT gruplarına ayrılmışlardır. Nod negatif kadınlarda tedavi teknikleri arasında fark görülmemiş, nod pozitif kadınlarda da iki grup arasında sağkalım farkı saptanmamıştır [147]. Radikal mastektominin yol açtığı istenmeyen etkiler de hesaba katılınca teknik giderek terk edilmiştir.

1937'de Geoffrey Keynes meme koruyucu cerrahi ve radyoterapi (RT) tekniği yayınlamıştır [148]. 1970'lerde Veronesi tarafından tanımlanan kadrantektomi, meme anatomisinin korunmasına izin veren bir cerrahi teknik idi. Bu teknik 2 ila 3 cm arasında değişen sağlıklı parankimin tümör üzerinde bırakarak neoplastik dokunun çıkarılmasından oluşmaktadır [149]. Hastaların mastektomi veya kuadrantektomi olacak şekilde randomize edildiği "Milan I" çalışması, 2002'de, ortalama 20 yıllık takipten sonra yayınlandığında genel ve meme kanserine özgü sağkalım oranları iki grupta benzerdi [150].

Konservatif cerrahi ve mastektomi ile tedavi edilen hastaların genel sağkalımı, Ulusal Cerrahi Adjuvan Meme ve Bağırsak Projesi- NSABP tarafından yürütülen başka bir büyük çalışmada farklılık göstermedi [151]. NSABP B-06 adı verilen bu çalışma ile Fisher ve arkadaşları hastaları total mastektomi, lumpektomi, lumpektomi sonrası RT gruplarına ayırmışlar ve RT uygulanmayan lumpektomi grubunda aynı tarafta nüks oranını yüksek bulmuşlardır. Radyasyon tedavisi, meme kanserine bağlı ölümlerde önemli bir azalma ile ilişkilendirilmiştir. Yazarlar, rezeke edilen örneklerin cerrahi sınırında tümör olmaması ve kabul edilebilir bir kozmetik sonuç elde edilebilmesi koşuluyla, meme kanserli kadınlar için lumpektomi ve radyoterapinin uygun olduğu sonucuna varmışlardır.

Veronesi ayrıca Armando E. Giuliano ile birlikte, meme kanseri cerrahisinde bir sonraki devrim niteliğindeki adıma, sentinel lenf nodu biyosisine (SLNB) öncülük etmiştir. Bu prosedürde meme bezlerinin lenfatik drenajının ilk ulaştığı lenf nodlarında metastaz olup

olmadığına bakılarak hastalar aksiller lenf nodu diseksiyonu (ALND) yani tüm koltuk altı lenfatik dokusunun çıkarılmasından korunmuşlardır [152].

ACOSOG Z0011 çalışması, SNB'si pozitif olan hastaların, bazı klinik durumlarda, nüks oranını artırmadan ALND'den korunabileceğini gösterdi. Tek başına SLNB ile tedavi edilen ve bir iki metastatik sentinel lenf noduna sahip erken meme kanserli hastaların, ALND ile tedavi edilenlerle karşılaştırıldığında benzer genel sağkalıma sahip olduğunu göstererek yaygın ALND gerçekleştirme uygulamasını değiştirdi [153].

Günümüzde uygun vakalarda, mümkün olduğunca meme koruyucu cerrahi tercih edilmektedir. Primer meme tümörünün rezeksiyonu, tümörün boyutuna, tümör-meme boyutu ilişkisine, tümör biyolojisine, komorbiditelere ve hasta seçimine bağlı olarak ya tedavinin ilk adımı ya da ilk sistemik tedaviden sonra ikinci adımdır [154]. Neoadjuvan sistemik tedavi sonrası cerrahi, yeni tümör boyutuna göre planlanmalıdır [98].

Koltuk altı diseksiyonu lokorejyonel kontrolü etkili bir şekilde sağlamasına rağmen, önemli ölçüde morbidite ile sonuçlandığından nodal değerlendirmeyi azaltma çabaları birkaç önemli klinik çalışmada başarıyla uygulanmıştır [155, 156]. En az bir sentinel lenf düğümünün tanımlandığı ve çıkarıldığı sentinel lenf nodu biyopsisinde kol lenfödem, omuz hareket kısıtlamaları, uyuşma veya aksiller ağ sendromu riski yok denecek kadar azdır [157]. SLNB uzun vadede mükemmel bölgesel nüks oranları ile ilişkilidir [158].

2.9.2 Radyoterapi

Meme radyasyonunun net etkinliği ilk olarak, lumpektomiye RT eklenmesinin, kadınları mastektomiden korumak için bir yol sağlanabileceğini gösteren, daha önce açıklanan NSABP B-06 çalışması tarafından ortaya kondu [24]. Mastektomi sonrası RT'nin kesin endikasyonları hala tartışma konusu olsa da, Erken Meme Kanseri Araştırmacıları İşbirliği Grubu (Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group-EBCTCG) tarafından yapılan önemli bir meta-analiz, mastektomi sonrası radyoterapi yapılan hastalarda lokal nükste %17'lik bir azalma ve meme kanseri mortalitesinde %5'lik bir azalma göstermiştir [159]. Ancak, 1970 yılında, NSABP'nin ilk randomize denemelerinden biri, mastektomi sonrası radyasyon için sağkalımdaki iyileşmeyi doğrulamada başarısız oldu [160]. Bununla birlikte, 2014'te yapılan büyük bir meta-analiz çalışması, mastektomi ve ALND sonrası herhangi bir sayıda tutulmuş aksiller nodu olan hastalarda lokal nüks ve mortalitede azalma olduğunu göstermiştir [161]. Radyoterapinin rekonstrüksiyonun kozmetik sonuçlarına zarar verebileceğini bilmek

önemlidir, bu nedenle radyasyonun zamanlaması ve rekonstrüksiyonun tipi, cerrahi ve radyasyon onkolojisi açısından net değildir.

2.9.3 Hormonoterapi

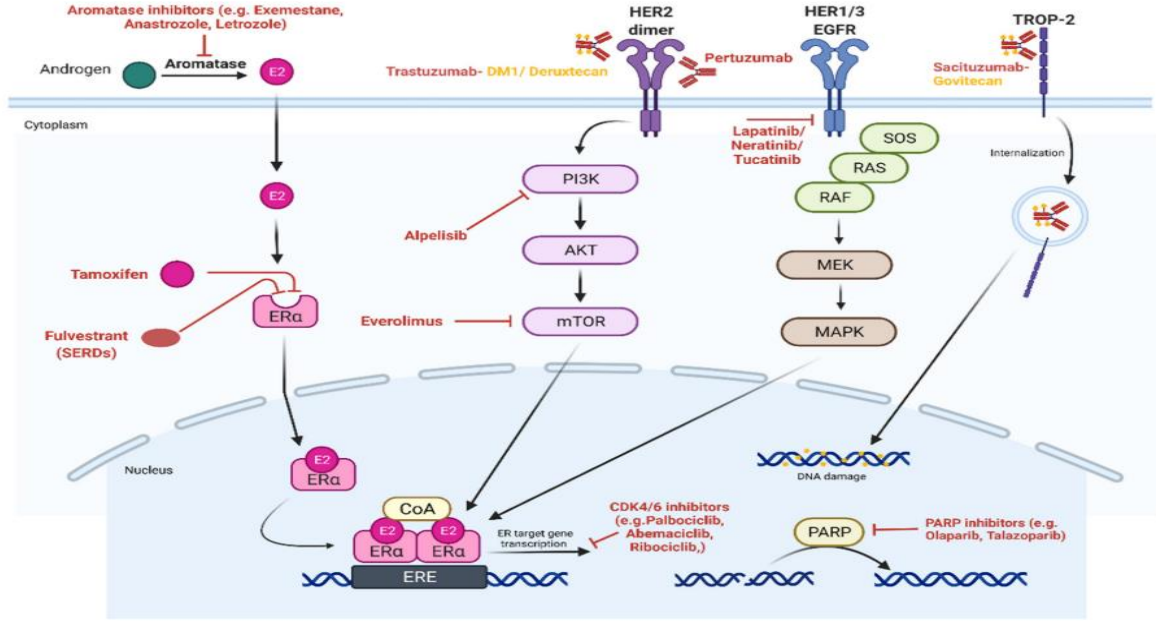
1895'te İskoç cerrah George Beatson, yumurtalıkların alınmasının meme kanserli kadınlarda tümör küçülmesini sağladığını iddia etti. Bu, günümüz hormonoterapisinin temellerini oluşturmaktadır. Meme kanserinde hormonal tedavideki bir sonraki gelişme, 1960'larda Elwood V Jensen tarafından ER'nin tanımlanmasının ardından, nonsteroidal antiöstrojen ilacın keşfiydi [162]. Seçici bir ER modülatörü olan tamoksifen, metastatik meme kanseri hastalarında dramatik yanıtlar ve nispeten iyi bir güvenlik profili gösterdi [163]. Dolayısıyla bu gözlemler, NSABP'yi 1981'de ER-pozitif meme kanserli hastalarda adjuvan tamoksifen tedavisini değerlendiren prospektif randomize bir çalışma yürütmeye teşvik etti. Bu dönüm noktası niteliğindeki çalışma, 5 yıl boyunca tamoksifen kullanan hastalarda genel mortalitede %20'lik bir azalma gösterdi [164]. EBTCCG tarafından gerçekleştirilen ve tamoksifen ile tedavi edilen hastalarda ER pozitif olanlarda mortalitede %31'lik bir azalmayı kesin olarak gösteren meta-analizle günümüz tedavisinde yerini almıştır [165].

Menopoz sonrası hastalarda aromataz inhibitörleri (AI'ler) ve menopoz öncesi hastalarda luteinize edici hormon salgılayan hormonların (LHRH) agonistleri gibi farklı mekanizmalarla östrojen seviyelerini sistemik olarak azaltan ajanların, ER pozitif meme kanserli hastalarda yüksek etkinlikleri olduğu gösterilmiştir [166, 167]. Angela Brodie, 1970'lerin başında östrojen sentezini durdurmak için aromataz enzimini hedef alan yeni yaklaşımı geliştirmeye başladı ve böylece meme kanseri tedavisinde kullanılacak ilk yapay AI(aromataz inhibitörü) olan formestan ilacını geliştirdi [168].

Endokrin tedavinin optimal süresi tartışmalıdır ve büyük ölçüde nodal tutulum da dahil olmak üzere primer tümörün özelliklerine bağlıdır. Son çalışmalar, 5 yıllık tedaviden sonra nüks oranlarının azaldığını, ancak anlamlı kaldığını göstermektedir [169]. Aynı çalışmalar, tamoksifen tedavisinin süresinin 10 yıla kadar uzatılmasının sonuçları daha da iyileştirdiğini göstermektedir [170]. AI tedavisinin 5 yılın ötesine uzatılmasının yararı hala belirsizdir.

Premenopozal kadınlarda endokrin tedaviye ek olarak over baskılanmasının önemi son yıllarda TEXT [171] ve SOFT [172] çalışmalarında vurgulanmıştır. Endokrin tedavi ve yumurtalık supresyonu ile tedavi edilen yüksek riskli meme kanserli kadınlarda daha yüksek

hastaliksız sağkalım (DFS-disease free survival) ve genel sağkalımı (OS-overall survival) gösterilmiştir. Aromataz inhibitörleri ile yumurtalık supresyonunun kombinasyonunun, tamoksifen ile kombinasyonundan daha iyi sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir [173].



Şekil-15. Meme kanserinde terapötik moleküler hedefler. ER (östrojen reseptörü), SERD (seçici östrojen reseptörü indirgeyici), HER1/2 (insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 1/2), EGFR (epidermal büyüme faktörü reseptörü) ve TROP-2 (trofoblast hücre yüzey antijeni 2) [174].

2022'nin başlarında, AI ile tamoksifeni karşılaştıran dört randomize çalışmadan 7030 kadın hasta düzeyinde bir meta-analiz yayınlandı. Meta-analize dahil edilen çalışmalar, 3 veya 5 yıl boyunca AI'ler veya tamoksifen ile tedavi edilen, yumurtalık supresyonu alan ER pozitif meme kanserli premenopozal kadınları takip etti. Sonuçlar, bu hastalarda tamoksifen ile karşılaştırıldığında, 5 yıl boyunca AI kullanımında nüks riskinin azaldığını gösterdi. Meme kanseri mortalitesi ve genel mortalite için tedaviler arasında anlamlı bir fark yoktu [175].

Tedavi sırasında ilerleme veya nüksetme durumunda, AI'lerin etkinliğini artırmak için ikinci bir terapötik ajanın eklenmesi gerekir. En yaygın eklemelerden biri CDK4/6 inhibitörleridir. 1980'lerin başında Paul Nurse, hücre bölünme döngüsünün düzenleyicileri olan sikline bağımlı kinaz (CDK) genlerini keşfetti [176]. Daha sonraki araştırmalar, bazı meme tümör hücrelerinin siklin D1'i aşırı eksprese ettiğini ve siklin D1:CDK4/6 aksının düzensizliğinin meme kanserinde bir rolü olduğunu gösterdi [177]. Bu nedenle, CDK4/6'nın inhibisyonu, kanser hücrelerinin progresyonunu inhibe edebilir.

Palbociclib, Ribosiklib ve Abemaciclib randomize kontrollü çalışmalarda hormonoterapiye eklendiklerinde hastaliksız sağkalım veya genel sağkalımda iyileşmeler

gösterilmiştir [178-180]. Bu sonuçların ardından, erken meme kanserli kadınların hormon tedavisine CDK4/6'nın eklenmesi de incelenmiştir. 2020'de Abemaciclib (CDK4/6 inhibitörü) artı adjuvan hormonoterapinin erken meme kanserli HR ve HER2 pozitif olan yüksek riskli hastalarda DFS'yi tek başına hormonoterapiden daha fazla iyileştirdiği gösterilmiştir [181].

Meme kanseri tedavisinde ek bir saldırı hedefi, fosfatidilinositol 3-kinazdır. (PI3K)/protein kinaz B (AKT)/rapamisin (mTOR) sinyal yolunun memeli hedefidir. Bu yolla anormal sinyalleşme, ER pozitif kanserde anti-östrojen tedavisine direnç neden olur [182]. Sonuç olarak, Everolimus (mTOR inhibitörü), daha önce AI ile tedavi edilmiş ilerlemiş meme kanserli, HR pozitif hastalarda, çok sayıda anti-östrojen tedavisi ile kombinasyon halinde son on yılda birkaç çalışmada incelenmiş, sağkalıma katkısı olduğu görülmüştür [183, 184].

PIK3CA mutasyonları, HR pozitif meme kanserinin yüzde 40'ından fazlasında tespit edilir. SOLAR-1 denemesinde Alpelisib (PI3CA'ya özgü inhibitör) progresyonsuz sağkalımı iki katına çıkarmış [185], ancak NEO-ORB çalışmasında hormonoterapiye alpelisib ilavesi plasebo ile karşılaştırıldığında patolojik tam yanıtta iyileşme gösterilememiştir [186].

2.9.4 Kemoterapi

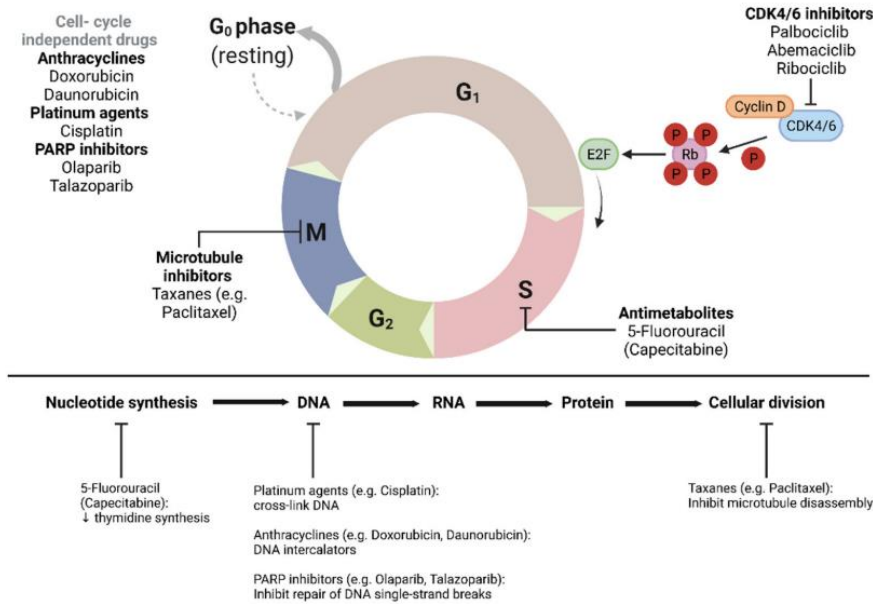
Adjuvan kemoterapi, ameliyatlardan sonra verilen sistemik ajanların, mikro-metastazları yok ederek sonuçları iyileştirdiği fikrine dayanmaktadır. Gianni Bonadonna, adjuvan tedavi olarak polikemoterapinin (siklofosamid, metotreksat ve fluorourasil) sonuçları iyileştireceğini doğrulamada etkili oldu [186]. EBTCCG, 1985 ile 2000 yılları arasında yürütülen 194 çalışmanın meta-analizini yapmış, hastanın yaşına bağlı olarak meme kanseri mortalitesinde %20-38'lik bir azalma olduğunu göstermiştir [165]. Antrasiklin rejimlerinin bu azalmaya katkısı olduğunu savunmuştur. Sabit bir antrasiklin rejimine taksanların eklenmesinin, tedaviden 8 yıl sonra meme kanseri mortalitesini mutlak %3 oranında azalttığı gösterilmiştir [187].

Adjuvan kemoterapi çok etkili olduğundan, tanı anında kemoterapiye başlamanın sonucu iyileştirip iyileştirmeyeceğini değerlendirmek giderek ilgi çekmeye başlamıştır. 1970'lerde ve 1980'lerin başlarında, Gabriel Hortobagyi ve Claude Jacquillat, neoadjuvan kemoterapi içeren çalışmaları başlatmış ve tümör boyutunda yaklaşık %50'lik bir azalma göstermişti [188]. NSABP B18 çalışması, neoadjuvan tedavinin tümör boyutunu küçülttüğünü ve lumpektomi uygulanabilen hasta sayısını artırdığını göstermiş; ancak, genel sağkalım üzerinde hiçbir etkisi gösterilememiştir [189]. Avrupa Kanser Araştırma ve Tedavi Örgütü (EORTC) tarafından gerçekleştirilen başka bir randomize çalışma da bir sağkalım avantajı

gösterememiştir [190]. Adjuvan kemoterapi ile karşılaştırıldığında neoadjuvan kemoterapinin sağkalımı iyileştirmediği bulgularına rağmen, meme koruyucu tedavi sunma potansiyelinde artış avantajı gösterildi.

Şu anda, meme kanseri için olağan adjuvan ve neoadjuvan kemoterapi rejimi, antrasiklinler ve taksanlardır. On yıl önce, üçlü negatif meme kanserinin platin bazlı kemoterapiye duyarlı olduğu keşfedilmiştir [191]. Son yıllarda yayınlanan birkaç faz-2 ve -3 denemesi bu kanıtı doğrulayarak, polikemoterapi neoadjuvan tedavisine karboplatin eklenmesinin üçlü negatif hastalarında patolojik tam yanıt oranını artırdığını göstermiştir [192]. Bununla birlikte, daha fazla araştırmaya hala ihtiyaç vardır.

Kemoterapi tedavilerindeki ilerleme, bir fluorourasil ön ilacı olan kapesitabinin etkinliğinin araştırılmaya başlanmasıyla devam etti. Etkinliğine dair ilk kanıt, 1999'da, bir faz-2 çalışmasının, taksan dirençli metastatik meme kanserli hastalarda kapesitabin tedavisinin etkinliğininin gösterilmesiyle [193]. Daha ileri çalışmalar ileri evre meme kanseri hastalarında bu sonuçları destekledi ve daha sonra tedavi erken evre hastalarda test edildi. Günümüzde bu tedavi seçilmiş hastalarda onaylanmış bir seçenek olmasına rağmen, farklı çalışmalarda tutarsız sonuçlar devam etmektedir. Yakın zamanda yayınlanan CBCSG010 çalışması, üçlü negatif meme kanserinde standart adjuvan kemoterapiye kapesitabin eklenmesini test etti ve DFS'de önemli bir iyileşme gösterdi [194].



Şekil-16. Kemoterapi ve yeni ilaçların hücre döngüsü hedefleri.[174]

2.9.5 Anti- HER2 Tedavi

1987'de Dennis Slamon, HER2/neu onkogeninin epidermal büyüme faktörü ailesinin bir üyesini kodladığını bildirdi. Bu onkogen, meme kanseri hastalarının %20'sinde amplifiye olup daha kısa nüks süresi ve daha düşük OS ile ilişkilendirildi [165]. Genentech'teki bilim adamları, HER2/neu gen ürününe reaktif olan ve bu nedenle onu eksprese eden kanser hücrelerinin büyümesini engelleyebilen monoklonal antikorları tanımladılar. Trastuzumab (Herceptin®), insan deneklerde test edilecek ilk monoklonal antikor olarak seçildi. 1998'de, HER2-pozitif metastatik meme kanserinin tedavisinde paklitaksel ile kombine edildiği önemli bir denemeye dayalı olarak FDA onayı aldı. 21. yüzyılın başında, adjuvan kemoterapiye ek olarak verildiğinde trastuzumabın rolünü değerlendirmek için birkaç randomize prospektif klinik çalışma başlatıldı [37-39]. Bunlar, kemoterapiye trastuzumab eklenmesinin rekürrensi %50 ve mortaliteyi %30 azalttığını gösteren oldukça tutarlı sonuçlar üretti.

Son on yılda, HER2'yi hedef alan diğer ilaçları değerlendirmek için çalışmalar yapılmıştır. Bir yıllık trastuzumabın yanı sıra standart adjuvan kemoterapiye pertuzumab eklenmesini test eden bir çalışma DFS'de küçük bir iyileşme göstermiştir [195].

Trastuzumab ile tedavi edilen hastalarda sağkalımdaki etkileyici artışa rağmen, bir grup hasta başlangıçta yanıt vermemiş veya tedavinin bitiminden hemen sonra nüks etmiştir. Bu nedenle, yanıt ve etkinliği iyileştiren tedavilerin araştırılması gerekmiştir. Kanser hücrelerine toksik maddeler vermek için antikor kullanma fikri gelişmiş, 2007'de trastuzumab-DM1 (T-DM1-mikrotübül depolimerize edici ajan) konjugatlarının ilk in vitro ve in vivo deneyi yayınlanmış ve HER2'yi aşırı eksprese eden tümör hücrelerinde konjuge olmayan trastuzumab ile karşılaştırıldığında T-DM1'in daha yüksek aktivitesini göstermiştir [196].

Meme kanserinin erken döneminde T-DM1 tedavisine ilişkin bilgiler, adjuvan T-DM1'in HER2-pozitif meme kanserinin erken dönemde etkinliğini test eden KATHERINE çalışmasının sonuçlanmasıyla gelmiştir. Standart neoadjuvan tedavinin tamamlanmasından sonra cerrahide rezidüel invaziv kanserli hastalarda trastuzumab ile karşılaştırıldığında adjuvan T-DM1 ile %50 daha düşük nüks riski gösterilmiştir [197]. Benzer bir antikor-ilaç konjugatı trastuzumab-deruxtecan, ilerlemiş HER2-pozitif vakalarda kullanılmıştır. Bu ilaç parçalanabilir bir tetrapeptit bazlı bağlayıcıya konjuge edilmiş bir anti-HER2 antikorunun yanı sıra bir topoizomera I inhibitöründen oluşur [198].

Son yıllarda TNBC için hedefe yönelik bir tedavi olarak antikor-ilaç konjugatı sacituzumab govitecan araştırılmıştır. İlaç, küçük molekül topoizomera I inhibitörüne (SN-38)

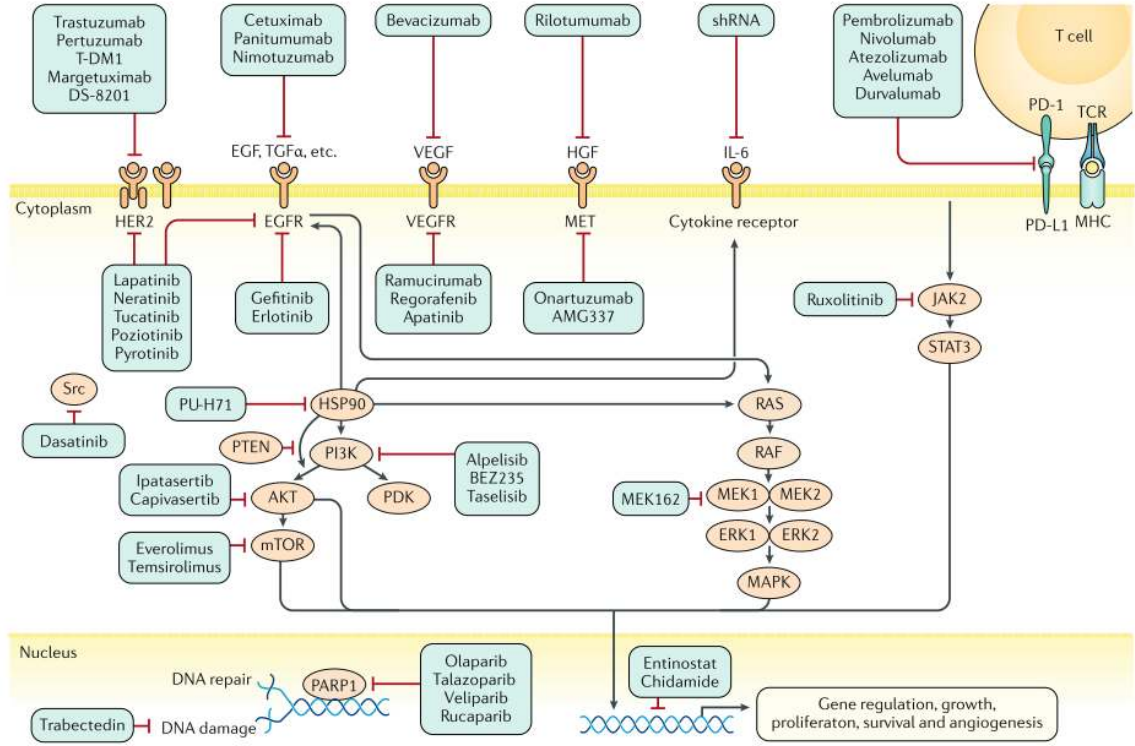
birleştirilmiş bir antitroblast hücre yüzeyi antijeni 2 (Trop-2) hümanize IgG1k antikoru içerir. Birçok epitelyal tümör (üçlü negatif meme kanseri dahil) Trop-2'yi aşırı eksprese eder; böylece sacituzumab govitecan, SN-38'in tümöre hedeflenmiş olarak verilmesini sağlar.

Üçlü negatif meme kanseri (TNBC) hastalarında etkinliğin ilk kanıtı, 2017'de, IMMU-132 çalışmasında yayınlandı. Katılımcıların toplam 69'u, sacituzumab govitecan ile 21 gün tedavi görmüş, standart tedaviden sonra refrakter veya nükseden metastatik üçlü negatif meme kanseri hastalarıydı. Sonuçlar %30 objektif yanıt oranı gösterdi [199]. 2021'de, büyük bir faz-3 randomize çalışma olan ASCENT çalışması, sacituzumab govitecan alan ilerlemiş üçlü negatif meme kanseri hastalarında tek ajanlı kemoterapiye kıyasla önemli ölçüde uzamış PFS ve OS gösterdi [200]. Bu tür bir tedavi erken meme kanseri hastalarında henüz araştırılmamıştır.

Bazı kadınları hastalığa yatkın hale getiren BRCA1/2 mutasyonu, TNBC'nin tedavisinde ek bir güncel zorluktur. Bu kanser türleri, DNA kırıklarının onarımındaki eksiklikler ile karakterize edilir [201], bu da araştırmacıları BRCA1/2 mutasyonları olan hastaların tedavisinde PARP (poli adenozin difosfat-riboz polimeraz) inhibitörlerinin etkinliğini araştırmaya yöneltmiştir.

PARP inhibitörleri, DNA tek sarmal kırılmalarının onarımını engeller, böylece bu tür transkripsiyon hatalarının birikmesine ve tümör hücresi ölümüne yol açmasına izin verir. Dolayısıyla bu tedavinin prensibi, bu hastalarda homolog rekombinasyon onarım eksikliği olan hücreleri, yani bir BRCA1/2 mutasyonuna sahip hücreleri seçici olarak öldürmek için kullanılabilir.

Tedavinin yararına ilişkin etkinlik ve güvenliliğe ilişkin ilk kanıtlar, BRCA mutasyonu olan hastalarda Olaparib ile tedaviyi standart tedavi ile karşılaştıran OlympiAD çalışmasında gösterilmiştir [202]. Sonuçlar, Olaparib grubunda önemli ölçüde daha uzun hastalısız sağkalım gösterdi [203]. Talazoparib kullanımının ilerlemiş meme kanseri ve germ hattı BRCA1/2 mutasyon hastalarında standart tedavi ile karşılaştırıldığı EMBRACA çalışmasında da benzer sonuçlar gösterilmiştir [204]. OlympiA çalışması, erken meme kanseri, BRCA1/2 mutasyonları olan ve yüksek nüks riski olan hastalarda birinci basamak adjuvan tedavi olarak olaparib kullanımını test etti ve plasebo ile karşılaştırıldığında daha uzun DFS gösterdi [205].



Şekil-17. Hücre reseptörlerinin hedefleyen ilaçlar özetlenmiştir.[98]

2.10. Mikro Ribonükleik Asit (miRNA)

2.10.1. Mikro Ribonükleik Asit (miRNA) Nedir

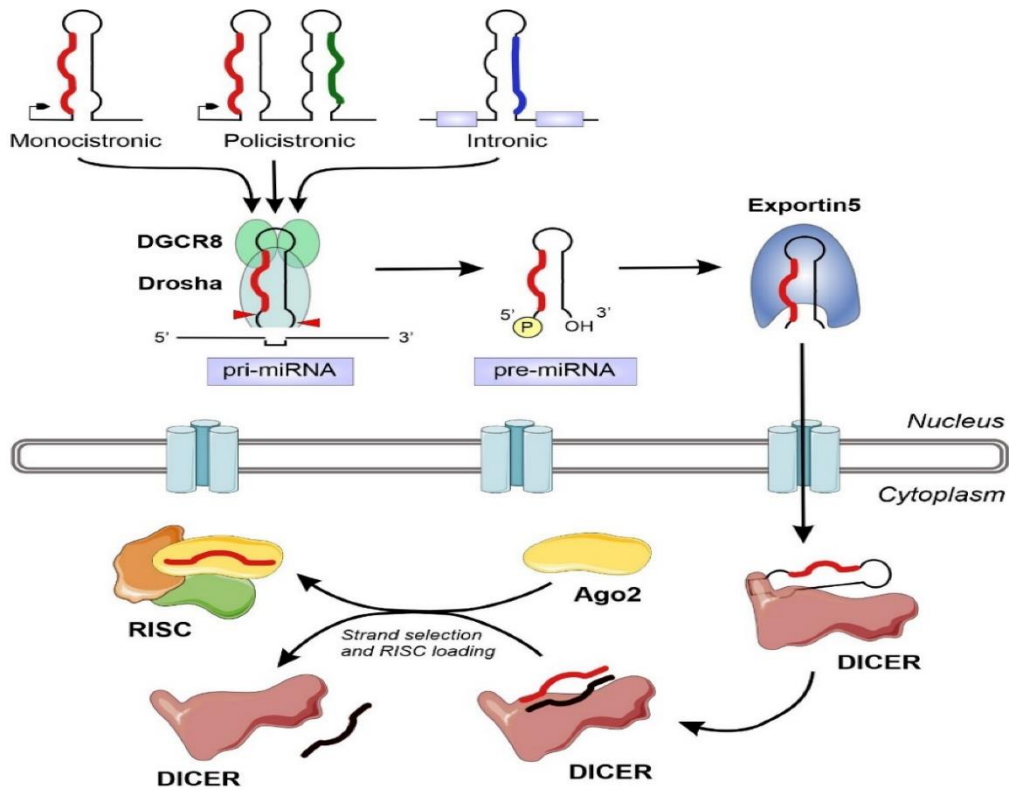
Mikro-RNA'lar (miRNA'lar), 19-22 nükleotid uzunluğunda tek zincirli, gen ekspresyonunun transkripsiyon sonrası düzenleyicileri olarak görev yapan protein kodlamayan RNA (ncRNA'lar) sınıfıdır [206]. 1993 yılında, Victor Ambros ve Gary Ruvkun liderliğindeki araştırma grupları, Cell dergisinde Caenorhabditis Elegans'ta keşfedilen küçük bir RNA'nın düzenleyici etkilerini açıklayan iki makale yayınladılar [207, 208]. Bu iki çalışmada elde edilen kanıtlara göre, lin-4 adlı ve heterokronik bir paternle ifade edilen küçük bir RNA, lin-14 geninin transkripsiyon sonrası düzenleyicisi olarak karakterize edildi [207, 208].

"MikroRNA" (miRNA) terimi ise yıllar sonra Tom Tuschl [209], Victor Ambros [210] ve David Bartel [211] tarafından bu küçük transkripsiyon sonrası düzenleyiciler ailesini belirtmek için kullanıldı. Keşfedilmelerinden yaklaşık 10 yıl sonra miRNA'lar, karmaşık organizmalarda tanımlanmıştır. Ayrıca kanser, kardiyovasküler ve metabolik hastalıklar gibi bazı insan hastalıklarıyla da ilişkili olduğu bulunmuştur [212-214].

MiRNA biyogenezinde yer alan iki farklı enzim grubunu ayırt edebiliriz. Bunlar; çekirdekteki (Drosha) ve sitoplazmadaki (Dicer) miRNA öncülerini parçalayan RNA

endonükleazları tarafından entegre edilen işlemciler ve Argonaute ailesi ve sorumlu tüm proteinler dahil, mRNA hedefleri üzerindeki transkripsiyon sonrası düzenleyici etki yapan efektörlerdir [215].

MiRNA'lar pri-miRNA adı verilen uzun nükleotid dizileri şeklinde yazılırlar. Hücre çekirdeğinde Drosha ve çift iplikli RNA bağlayıcı protein DGCR8 tarafından yaklaşık 70 nükleotid uzunluğunda, toka şeklinde pre-miRNA'lar oluşturulur (Şekil-18). Drosha ve Pasha enzimleri tarafından pre-miRNA haline dönüşüp eksportin-5 enzimi [216] aracılığıyla sitoplazmaya taşınırlar. Dicer'lar yardımıyla RISC'e (RNA Inducing Silencing Complex) dâhil olarak mRNA'nın translasyonunu durdururlar (Şekil-18) [217].



Şekil-18. miRNA biyogenezi[206]

MiRNA'lar genelde hedef mRNA'nın 3'UTR bölgesine bağlanırlar. Hedef mRNA'yı degrade ederek veya translasyonunu engelleyerek, ya da her ikisini birden yaparak transkripsiyon sonrası gen düzenlemesini sağlarlar [218].

MiRNA'ların metabolizma, kök hücre bölünmesi, hücre büyümesi-farklılaşması ve programlı hücre ölümü dahil olmak üzere ana hücresel süreçleri kontrol ettiği gösterilmiştir [10]. MiRNA'lar insan genomunun %1-5 'ini oluşturur ve protein kodlayan genlerin en az %30'unu düzenler [219]. 2010 yılına kadar insan genomunda 940 farklı miRNA molekülü

tanımlanmıştır [219]. Bu sayı günümüzde miRBase (www.mirbase.org) veritabanında tanımlanan yaklaşık 2000 insan miRNA molekülüne ulaşmıştır [220].

2.10.2. Duktal Karsinoma İn Situ (DKİS) ile Mikro Ribonükleik Asit (miRNA) İlişkisi

MiRNA'lardaki değişiklikler, meme kanseri de dahil birçok kanser türünde tanımlanmıştır [221, 222]. Meme kanserinde miRNA profili çıkarma çalışmaları, invaziv meme kanserinde bulunan farklı miRNA ifade modellerinin DKİS'de de mevcut olduğunu sürekli olarak göstermiştir, bu da miRNA ekspresyonunun meme kanseri gelişiminin erken safhalarında gerçekleştiğini gösterir [222-224]. Bununla birlikte, miRNA'ların ekspresyon profilleri ve işlevleri, İMK'nin çeşitli alt tipleri arasında ve ayrıca DKİS aşamasındaki alt tipler arasında farklılık gösterir [225, 226].

DKİS'de miRNA'ların anormal ifadesi araştırılmış olmasına rağmen, nispeten az sayıda çalışma, miRNA'ların DKİS'den İMK'ye ilerlemesindeki fonksiyonel rolünü incelemiştir. DKİS ve İMK'deki gen ekspresyon çalışmaları, yaygın olarak, hücre-hücre yapışması (cell-cell adezyon), epitelyal mezenkimal transfer (EMT), anjiyogenez ve hücre dışı matris ile ilgili yollarla ilişkili genleri tanımlamıştır.

Tablo-8. DKİS ile ilişkili miRNA'lar ve hedef genleri [227].

miRNA	Direction of change	Tumor suppressor/oncogene	Targets
miR-125b ³²	Down	Tumor suppressor	<i>MEMO1</i>
miR-182 ³²	Up	Oncogene	<i>NRIP1</i> (alias <i>RIP140</i>) <i>CBX7</i> , <i>DOK4</i> , <i>NMT2</i>
miR-183 ³²	Up	Oncogene	<i>EGR1</i>
let-7 family ⁴⁵	Down	Tumor suppressor	
miR-21 ⁴⁸	Up	Oncogene	<i>MSH2</i> , <i>SMAD7</i>
miR-10b ⁵⁰	Up	Oncogene	<i>RB1CC1</i>
miR-200 family (miR-200a-c, miR-141, miR-429) ^{32,53}	Up (normal-DCIS); Down (DCIS to IBC)	Oncogene and tumor suppressor	
miR-140 ⁵⁶	Down	Tumor suppressor	<i>SOX9</i> , <i>ALDH1</i>
miR-132 ⁵⁷	Down	Tumor suppressor	
miR-150, miR-155 ⁵⁹	Up	Oncogene	<i>RHOA</i> , <i>PEG10</i> , <i>MYB</i>
miR-140 ⁷³ (exosome)	Up (preadipocytes)	Oncogene	<i>SOX9</i>

Yapılan çalışmalarda özetlendiği üzere çeşitli miRNA'ların hedef genleri ve DKİS gelişimindeki davranışları Tablo-8'de gösterilmiştir.

Hannafon ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada normal meme dokusu ile DKİS dokuları karşılaştırılmış, 35 miRNA'nın farklı ifade olduğu görülmüştür. Bu miRNA'lar; let-

7c, miR-7, miR-10b, miR-17-3p, miR-18a, miR-21, miR-93, miR-99a, miR-99b, miR-125b, miR-127, miR-130a, miR-145, miR-181b, miR-182, miR-183, miR-191, miR-193b, miR-195, miR-200b, miR-200c, miR-204, miR-324-5p, miR-365, miR-376a, miR-382, miR-383, miR-410, miR-425-5p, miR-449a, miR-449b, miR-486, miR-489, miR-511, miR-517c'dir [224]. Bu miRNA'ların normal dokudan DKİS'a ilerleyen basamaklarda değışikliğe uğradığı tahmin edilmektedir.

Fu ve arkadaşlarının çalışmasında ise serum, plazma, doku ortamlarında invaziv meme kanseri ile hastalıksız memedeki miRNA ekspresyonları ve DKİS ile hastalıksız memedeki miRNA ekspresyonları karşılaştırılmış olup miR-99a, miR-210, miR-382-3p, miR-183, miR-376c'nın farklı eksprese olduğu görölmüştür [228].

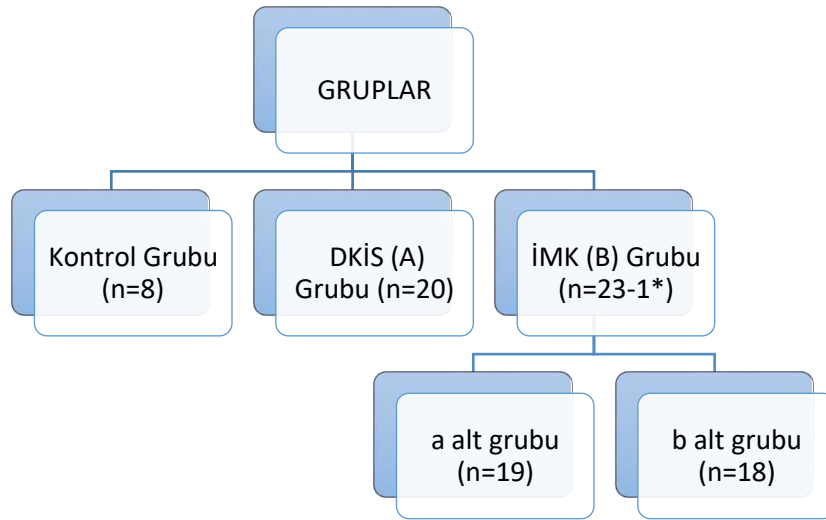


3. GEREÇ VE YÖNTEM

Tez çalışmamızda hipotezimiz; meme kanseri karsinogenez basamaklarında disregüle olan miRNA'ların olduğu, genetik yolları düzenledikleri ve kanser öncülü lezyonlarda saptandığında invazyona gidişi öngörebilecekleridir. Bu miRNA'lar erken tanı, takip ve tedavide kullanılabilirler. Ayrıca invaziv karakter kazanması beklenmeyen öncül lezyonların gereğinden fazla tedavi edilmesini önleyebilirler. Bu fikre dayanan çalışmamızda 3 grup oluşturulması planlandı. Bu gruplar; kontrol grubu, DKİS (A) grubu ve İMK (B) grubudur (Tablo-9).

Çalışma retrospektif olarak planlanmış olup BVU Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Meme Hastalıkları Polikliniğine başvuran 18 yaş üzeri kadın hastalardan; memede ağrı, kitle, meme başı akıntısı gibi şikayetlerle tetkik edilip şüpheli lezyon saptanmış ve tru-cut biyopsi histopatolojik sonuçları DKİS olarak raporlananlar hastane bilgi sisteminden geriye dönük olarak tarandı. Bu hastalardan Ocak 2010- Haziran 2022 tarihleri arasında cerrahi tedavi uygulananlar A ve B grubu şeklinde seçildi. A grubu meme cerrahisi patolojisi DKİS, B grubu ise meme cerrahi patolojisi İMK olarak raporlanan hastalardan oluşmaktadır.

Tablo-9- Çalışmada kullanılan gruplar ve örneklem büyüklükleri. B grubunda bir hastanın doku çalışmasından miRNA eldesi sağlanamamıştır*



Amacımız DKİS'dan İMK'ya geçişte disregüle olan miRNA'ları tespit etmek olduğu için gruplama bu şekilde yapılmıştır. Yine aynı amaçla B grubu; dokuların yalnızca DKİS içeren kesitleri "a", invaziv kanser içeren kesitleri "b" alt grubu olacak şekilde iki alt gruba ayrılmış, aynı hastanın invaziv olan ve olmayan doku bölümlerindeki miRNA ekspresyon

değerleri çalışılması, böylelikle aynı hasta dokusunda invazyona gidişte değişebilecek miRNA'ların saptanması amaçlanmıştır.

Yine aynı tarihler arasında meme hastalıkları polikliniğimize başvuran 18 yaş üzeri kadın hastalardan, memesinde kitle saptanıp fibroadenom tanısı alanlar ve eksizyonel biyopsi histopatoloji sonucu fibroadenom olarak raporlananlar kontrol grubu olarak seçilmiştir. Kontrol grubu örneklem büyüklüğü 8 hasta olarak belirlenmiştir. Retrospektif bir çalışma olduğu için, karşılaştırmalar sağlam doku ile yapılamamış, benign lezyon olan fibroadenomlar kontrol grubu olarak alınmıştır.

Yaklaşık olarak 12 yıllık periyotta meme hastalıkları polikliniğinde değişik sürelerde onkolojik olarak takip edilen bu hastaların dokuları Patoloji Anabilim Dalı'ndaki parafin doku arşivinde taranmış, dokularına ulaşılabilen hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Power analiz sonucunda yeterli örneklem büyüklüğü her miRNA için $n=3$ olmasına rağmen, anlamlılığı artırmak adına çalışılabilecek parafin bloklarına ulaşılan tüm hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Örneklem büyüklükleri kontrol grubu 8, A grubu 20, B grubu 23 örnek olarak planlanmış olup, B grubunda bir hastanın FFPE dokusundan miRNA elde edilemediğinden değerlendirme dışında kalmıştır.

DKİS'dan invaziv kansere ilerleme basamaklarında, daha önce yapılan çalışmalar ve meta-analizler ışığında karsinogenezin erken basamaklarından itibaren değişikliğe uğrayacağı düşünülen 11 miRNA seçilmiştir. Çalışmaya alınan hastaların FFPE dokularında çalışılan bu mikroRNA'lar; miR-21-5p, miR-210, miR-182, miR-183, miR-99a, miR-99b, miR-130a-3p, miR-324-5p, miR-376a, miR-382 ve miR-410-3p'dir. Bu üç grup ve B grubunun alt grupları arasında miRNA ekspresyon değerleri, hastaların laboratuvar ve klinik bulgularıyla (yaş, menapoz durumu, çocuk doğurma ve emzirme, ek hastalıklar, memedeki lezyonun biyopsi ve cerrahi tedavi sonrası patoloji sonuçları, hormon reseptörleri, CerbB2 ve Ki-67 yüzdeleri, adjuvan tedavi alıp almama vb.) beraber değerlendirilerek tanı ve terapötik hedef olarak kullanılabilecek miRNA veya miRNA'ların tespit edilmesi amaçlandı.

3.1. Vakaların Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

1. 18 yaş üstü olmak
2. Kadın cinsiyete sahip olmak
3. Daha önceden meme kanseri veya meme cerrahisi öyküsü olmaması
4. Başka bir kanser öyküsüne sahip olmamak
5. Cerrahi yapıldığı sırada aktif emzirme öyküsü olmaması

6. Histopatolojik olarak doğrulanmış DKİS tanısı almış olmak
7. DKİS tanısı sonrası cerrahi tedavi uygulanmış olması
8. Cerrahi tedavinin Bezmialem Vakıf Üniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda yapılmış olması
9. Bezmialem Vakıf Üniversitesi Patoloji arşivinde meme cerrahisi sonrası hazırlanan FFPE bloklarının bulunuyor olması ve kullanılabilir kalitede olması

3.2. Vakaların Çalışmaya Alınmama/Çalışmadan Çıkarılma Kriterleri

1. 18 yaşını doldurmamış olmak
2. Erkek cinsiyete sahip olmak
3. Daha önceden meme kanseri veya meme cerrahisi öyküsü olması
4. Başka bir kanser öyküsüne sahip olmak
5. Histopatolojik olarak meme DKİS tanısı olmaması
6. DKİS tanısı almış ancak cerrahi tedavi uygulanmamış hastalar
7. Cerrahi tedavinin Bezmialem Vakıf Üniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı dışında bir merkezde yapılmış olması
8. Bezmialem Vakıf Üniversitesi Patoloji arşivinde meme cerrahisi sonrası hazırlanan FFPE blokların bulunmaması veya kullanılabilir kalitede olmaması

3.3. Kullanılan Cihazlar

- Buzdolabı (+ 4 °C Bosch)
- Derin Dondurucu (-20 °C Bosch)
- Çeker Ocak (TEZSAN)
- Derin dondurucu -80 derece (Thermo)
- Etüv (Nüve)
- Isı bloğu (Fisher scientific)
- Soğutmalı santrifüj (Becman Coulter)
- Masaüstü mini santrifüj (Nüve)
- Spektrofotometre (NanoDrop2000)
- Thermal Cyclers (T100, Biorad)
- RT-PCR cihazı (CFX Connect Real Time PCR) (BioRad)
- Otomatik pipetler (Eppendorf)
- Vorteks (Thermo, Scientific)

3.4. Hasta ve Parafin Bloklarının Seçilmesi

Power analizi yapılmış olup daha önceki çalışmalar referans alınarak ortalamalar arasındaki fark 0,418 birim ve standart sapma 0,163 alındığında %95 güven düzeyi ve $\alpha=0,05$ anlamlılık seviyesinde %80 güç için örneklem büyüklüğü minimum üç ($n=3$) olarak belirlenmiştir [229].

Hasta grupları; bölümün başında bahsedildiği gibi kontrol grubu, DKİS grubu (A grubu) ve invaziv karsinom grubu (B grubu) olarak oluşturuldu ve B grubu DCİS alanı ve İMK alanı olacak şekilde sırasıyla a ve b alt gruplarına ayrıldı. Örneklem büyüklükleri power analizde hesaplanandan daha yüksek tutularak anlamlılığı artırmak amaçlandı. Çalışmaya dahil edilen hastaların parafin blokları Patoloji Anabilim Dalı doku arşivinden temin edildi. Dokularda miR-21-5p, miR-210, miR-182, miR-183, miR-99a, miR-99b, miR-130a-3p, miR-324-5p, miR-376a, miR-382 ve miR-410-3p ekspresyonları çalışıldı.

Çalışmamızın etik ilkelere uygunluğu BVU Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından değerlendirilmiş, etik kurul onamı ve Bezmialem BAP desteği alınmıştır (Tarih: 13.10.2020 / Sayı: 54022451-050.05.04-).

3.5. Doku Homojenizasyonu ve RNA İzolasyonu

Doku temini Patoloji Ana Bilim Dalı doku arşivinden yapılmış olup parafine gömülü dokulardan total RNA izolasyonu FFPE RNA Purification Kit (Qiagen) ile yapılmıştır. Bu kit içeriğinde bulunan filtreli tüplerin miRNA geçirme özelliği bulunmaktadır. Total RNA eldesiyle birlikte miRNA'lar da elde edilmiştir. İzolasyon protokolü aşağıdaki gibi uygulanmıştır;

1. Parafin bloklardan 5-7 μm 'lik 3-5 kesit örneği alınarak, eppendorf tüplere aktarıldı.
2. De-parafinizasyon solüsyonunda inkübe edildikten sonra 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek pellet kısmı steril tüplere alındı.
3. Alınan örnekler üzerine 500 μl deparafinizasyon solüsyonu eklendi ve parafinden arındırma işlemi yapıldı.
4. Elde edilen lizast üzerine lizis buffer eklendi.
5. Her örneğe 30 saniye vorteks yapıldı ve filtreli tüplere aktarıldı.

6. 3000 rpm’de 5 dakika santrifüj edilerek, filtrelili tüpler üzerine 100 µl Dnase buffer eklendi.

7. 37°C’deki ısıtıcı blok üzerinde 20 dk inkübe edildi.

8. Her tüp 600 µl olacak şekilde iki kez olmak koşuluyla yıkama bufferı ile yıkandı. Her aşamada 3000 rpm’de 3 dk santrifüj işlemi yapıldı.

9. Her tüpe 50-70 µl nuclease-free su eklenerek total RNA elüsyonu tamamlandı.

10. Elde edilen total RNA örneği -80 °C’lik dondurucuya kaldırıldı.

3.6. RNA’ların Konsantrasyon ve Kalitesinin Tayini

İzole edilen tüm RNA örneklerinden 2 µl alınarak konsantrasyon ve kalite tayinleri spektrofotometre cihazı ile değerlendirildi. Thermo Multscan Go cihazı ile belirlenen ve A230/A260 oranı 1,8-2,1 aralığında olan RNA örnekleri temiz kabul edildi.

3.7. Komplementer (Tamamlayıcı) DNA (cDNA) Sentez Aşaması

Kontrollerden geçen RNA örneklerinden komplementer DNA (miscript cDNA Synthesis Kit) sentez kiti ile cDNA örnekleri hazırlandı. cDNA örnekleri gen ekspresyonlarını belirleme aşaması için yapılacak qRT-PCR işlemine geçilene kadar -20°C’de muhafaza edildi. cDNA sentezi kiti ile her bir örnek için Tablo 10’da verildiği gibi karışım hazırlandı. Tüm örneklerin hazırlanma süreçleri buz üzerinde yapıldı. 20 µl’lik karışım hazırlandıktan sonra örnekler PCR cihazında 37°C’de 60 dakika ardından 95°C’de 5 dakika boyunca bekletildi. Sonrasında, qRT-PCR işlemi için -20 °C’lik dondurucuda muhafaza edildi.

Tablo-10. cDNA sentezi karışım miktarları.

Karışım Miktar
1. 5x miScriptHiFlexBuffer 4 µl
2. 10x NucleicsMix 2 µl
3. RNase-freewater Değişken
4. miScriptReverseTranscriptaseMix 2 µl
5. Template RNA (<1µg) Değişken
Toplam Hacim 20 µl

3.8. qRT-PCR (Stem-Loop PCR) Süreci

Uygun ticari kit kullanılarak üreticinin talimatlarına uygun olarak qRT-PCR işlemi uygulandı. PCR için hazırlanan karışım miktarları Tablo 11’de gösterilmiştir. Referans gen miR-let-7a ile her miRNA’ya özgül miScript Primer Assay kullanıldı. qRT-PCR reaksiyon aşamaları Tablo12’de gösterilmiştir.

Tablo-11. qRT-PCR Karışım miktarları

Karışım	Miktar
2x QuantiTect SYBR Green PCR Master Mix	12,5 µl
10x miScript Universal Primer	2,5 µl
10x miScript Primer Assay	2,5 µl
RNase-free water	5,5 µl
Template cDNA	2 µl
Toplam Hacim	25 µl

Tablo-12. Real Time PCR reaksiyon aşamaları.

Reaksiyon Aşamaları	Sıcaklık °C	Süre
Ön Denatürasyon	950°C	15 dk
Denatürasyon	940°C	15 sn
Bağlanma	Değişken	30 sn
Uzama	700°C	30 sn

Tüm çalışma süresince referans gen olarak miR-let-7a kullanıldı. Elde edilecek Ct değerleri ile genlerin artış ve azalış oranları $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemi kullanılarak hesaplandı [230]. İstatistiksel anlamlılık sınırı $p<0,05$ olarak belirlenmiştir.

3.9. İstatistiksel Analiz

Bulgularımız istatistiksel olarak değerlendirilirken değişkenlerin gruplara göre dağılımları Shapiro-Wilk testi ile incelenmiştir. Normal dağılımda olan değişkenler t-testi ile parametrik olmayan değişkenler ise Mann-Whitney U testi ile incelenmiştir.

Gruplar arasındaki miRNA ekspresyon farklarını değerlendirmek için Independent-Samples Kruskal-Wallis Testi kullanılmıştır. MiRNA ifade seviyeleriyle DKİS grade'i ve patolojik tipleri ayrıca invaziv grupta biyolojik alt tipler (luminal A, luminal B, HER2 pozitif), hormon reseptör pozitifliği, Ki-67 ve tümör evresi korelasyonu Pearson korelasyon testi ile analiz edilmiştir. Kategorik değişkenler arası ilişki Ki-Kare veya Fisher Exact testi ile araştırılmış, $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. İstatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences for Windows) 21.0 programı kullanılmıştır.

Gruplar arası istatistiksel olarak farklı bulunan miR-210 ve miR-21-5p'nin ayırt ediciliğinin belirlenmesinde ROC (receiver operating characteristic) curve analizi uygulanmıştır. ROC analizi sonucunda belirlenen cut off değeri Youden J indeksine göre hesaplanmıştır. Analiz yapılırken medcalc version 12.3 programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Çalışmamıza dahil edilen hastaların A, B ve kontrol gruplarında yaş ortalaması sırasıyla 52.4, 51.9 ve 24.3 olarak saptanmıştır. Meme kanseri risk faktörleri açısından bakıldığında; cerrahi tedavileri esnasında kontrol grubunun tamamı premenapozal, A grubunun %55 (n=11) ve B grubunun %45'i (n=10) postmenapozal dönemdeydi. Kontrol grubundaki kadınlar hiç çocuk doğurmamış, A grubundaki doğum ve emzirme oranları %80 (n=16) ve B grubundaki doğum ve emzirme oranları sırasıyla %54 (n=12) ve %50 (n=11) şeklindedir. Kontrol grubundaki hastaların ek hastalığı olmamakla birlikte grup A ve B'de sırasıyla %55 (n=11) ve %59,1(n=13) oranında ek hastalıklar (DM, HT, aterosklerozis, hiperlipidemi, vb) görülmektedir.

Tablo-13. Gruplar arası demografik veriler ve meme kanseri risk faktörlerinin karşılaştırılması

Demografik Veriler ve İMK Risk Faktörleri	Kontrol grubu	A grubu	B grubu	p değeri
Yaş (ortalama)	24,3	52,4	51,9	0,000
Çocuk sayısı (ortalama)	0	2,88	1,64	0,047
Menopoz (%)	0	55	45	0,005
Doğum (%)	0	80	54	0,000
Emzirme (%)	0	80	50	0,000
Ek hastalık (%)	0	55	59	0,007

Kontrol grubu genç, sağlıklı ve doğum yapmamış hastalardan oluştuğu için tüm demografik veri ve meme kanseri risk faktörleri açısından A ve B grubundan istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($p<0,05$). A ve B grubu karşılaştırıldığında yaş, menopozal durum, çocuk sahibi olma ve emzirme, ek hastalıklara sahip olma açısından istatistiksel farklılık yoktur ($p>0,05$), gruplar homojendir.

A grubundaki 20 hastanın 13'üne (%65) MKC (meme koruyucu cerrahi) uygulanmış ve bu hastalara DKİS tedavisinde önerildiği üzere adjuvan radyoterapi verilmiştir. Hormon reseptör pozitifliği olanlara hormonoterapi de eklenmiştir. Hastaların kalan 7'sine (%35) ise mastektomi uygulanmıştır. 2010 yılından bu yana meme polikliniğinde takip edilmiş olan hastaların ortalama takip süresi 31 aydır. Takip süresinde nüks veya karşı memede lezyon izlenmemiştir.

B grubunda ise 22 hastanın 15'ine(%68) MKC, 7'sine(%32) mastektomi yapılmıştır. Tüm hastalar İMK tanısı almış olup patolojik evreleri açısından değerlendirildiklerinde; 4 hasta (%18) evre 3, 4 hasta (%18) evre 2, 14 hasta (%63) ise evre 1'dir. Evre 1 olan hastaların 4 tanesi

yalnızca mikroinvaziv odak içermektedir, invazyon alanı 1mm'den küçüktür. Mikroinvaziv meme kanserine sahip olan 4 hastanın histolojik alt grubu değerlendirilememekle birlikte hastaların 8'i luminal A (%36), 5'i luminal B (%22), 4'ü HER2 pozitif (%18) ve bir tanesi (%4) üçlü negatif meme kanserine sahiptir. Hiçbir hasta neoadjuvan tedavi almamıştır. Cerrahi sonrası adjuvan tedavisi ise MKC olup olmamasına, hastalığın evresine, hormon reseptörü ve HER2 ve Ki-67 pozitifliğine göre değerlendirilmiş, gerekli tedavi verilmiştir. 2010 yılından bu yana meme polikliniğinde takip edilmiş olan hastaların ortalama takip süresi 44,5 aydır. Takip süresi boyunca hastalarda nüks veya karşı memede lezyon saptanmamıştır.

Gruplar arasında miRNA ekspresyonları karşılaştırıldığında; miR-21-5p ve miR-210 istatistiksel olarak anlamlı farklı bulundu ($p=0,04$ ve $p=0,002$). MiR-21-5p kontrol grubu ve B grubu arasında farklı bulunmuş olup ($p=0,043$) kontrol grubuna göre invaziv grupta daha fazla eksprese edilmiştir. Kontrol grubundan başlayıp invazyon derecesi arttıkça rölatif ekspresyon değerlerinin; kontrol grubunda 1.10, A grubunda 1.34, B grubunda 1.95 şeklinde arttığı görülmüştür (Tablo-14).

Tablo-14. Gruplar arası miRNA rölatif ekspresyon değerleri ortalamasının karşılaştırılması ve p değerleri. miR-21-5p ve miR-210 gruplar arasında farklı eksprese edilmektedir.

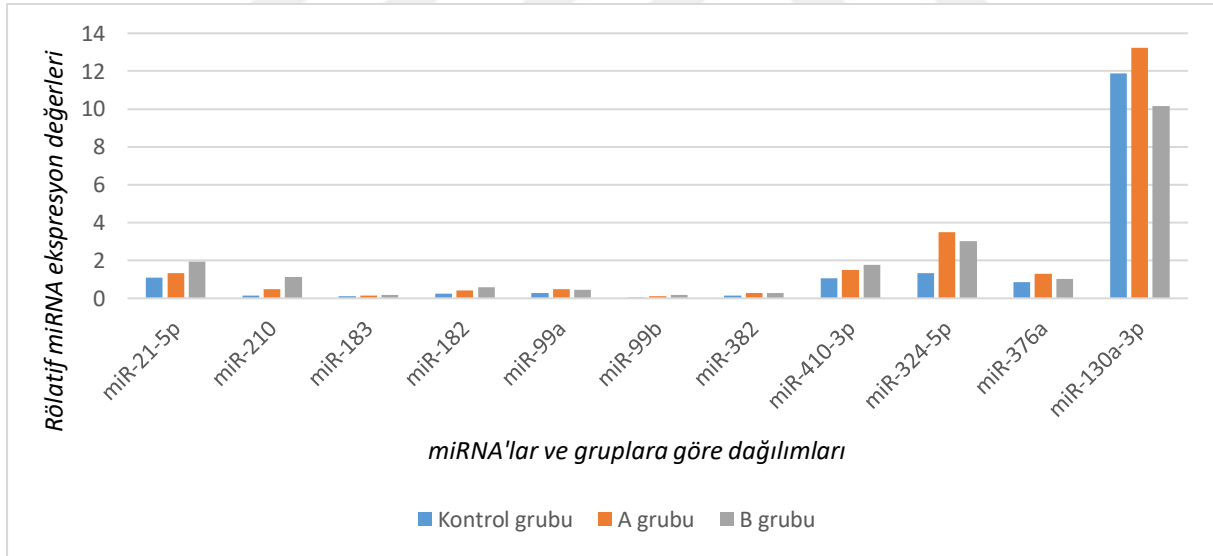
miRNA	Kontrol grubu	A grubu	B grubu	p değeri
miR-21-5p	1,1	1,34	1,95	0,049
miR-210	0,14	0,49	1,14	0,002
miR-183	0,1	0,16	0,17	0,298
miR-182	0,24	0,41	0,57	0,313
miR-99a	0,27	0,47	0,45	0,487
miR-99b	0,05	0,1	0,17	0,154
miR-382	0,13	0,28	0,27	0,164
miR-410-3p	1,06	1,49	1,77	0,574
miR-324-5p	1,32	3,51	3,01	0,153
miR-376a	0,87	1,31	1,03	0,746
miR-130a-3p	11,88	13,25	10,16	0,876

Tablo-15. miR-21-5p ve miR-210'un rölatif ekspresyon değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması ve p değerleri

miR-21-5p	st hata	p değeri
Kontrol ve A grubu	7,909	0,507
Kontrol ve B grubu	7,372	0,043
A ve B grubu	5,247	0,065
miR-210	st hata	p değeri
Kontrol ve A grubu	7,909	0,158
Kontrol ve B grubu	7,372	0,002
A ve B grubu	5,247	0,02

MiR-210 rölatif ekspresyon değeri kontrol grubu ile B grubu arasında ve A grubu ile B grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmış bulundu ($p=0,002$ ve $p=0,02$). Kontrol ile A grubu arasında bu fark mevcut değildi ancak, kontrol grubundan başlayıp invazyon derecesi arttıkça göreceli olarak ekspresyon ortalama değerlerinin miR-21-5p'ye benzer şekilde yükseldiği görüldü (Kontrol grubu ekspresyon ortalama değeri: 0.14, A grubu: 0.49, B grubu: 1.14).

Tablo-16. Gruplara göre rölatif miRNA ekspresyon değerleri ortalamaları grafik gösterimi



Tablo.14 ve 16'da görüldüğü gibi miR-21-5p, miR-210, miR-182, miR-183, miR-99b ve miR-410-3p rölatif ekspresyon değerleri gruplar arasında invazyon arttıkça yükselmiştir. miR-99a, miR-382, miR-324-5p, miR-376a ve miR-130a-3p de ise kontrol grubuna göre A grubunda rölatif ekspresyon değerleri daha yüksektir. Bahsedilen 5 miRNA'nın ekspresyon değeri en yüksek A grubunda olup, B grubunda göreceli daha düşüktür. Bu düşüş miR-130a-3p'de oldukça dikkat çekicidir.

A grubunda miR-21-5p (p=0,05 ve p=0,02) ve miR-410-3p (p=0,02 ve p=0,005) ER, PR pozitifliği, miR-99b ise ER pozitifliği (p=0,04) ile ilişkili bulundu. Bu miRNA'lar hormon reseptör pozitifliği olan hastalarda hormon reseptörü negatif olan hastalara göre daha yüksek eksprese edilmiştir. Korelasyon katsayıları 0,4-0,6 arasında değişmiş olup hormon reseptör pozitifliği ve bahsedilen miRNA ekspresyonları arasında pozitif korelasyon söz konusudur (Tablo-17).

Tablo-17. miR-21-5p, miR-410-3p ve miR-99b rölatif miRNA ekspresyon değerlerinin hormon reseptörleri ile ilişkisi ve p değerleri

		ER	PR
miR-21-5p	Korelasyon kat sayısı	0,44	0,5
	P değeri	0,05	0,02
miR410-3p	Korelasyon kat sayısı	0,5	0,6
	P değeri	0,02	0,005
miR-99b	Korelasyon kat sayısı	0,46	0,34
	P değeri	0,04	0,14

DKİS paternleri arasında miRNA ekspresyon farklılığına bakıldığında; kribriform patern ve papiller patern ile miR-182 ve 183 ile negatif ilişkili bulundu. Kribriform ve papiller paternde solid ve komedo tipe göre miR-182 ve miR183 downregüle olmuşlardır (p<0,05) (Tablo-18). Klinik olarak grade arttıkça invazyon ile ilişkili miRNA'ların yüksek eksprese edilmesi beklenmesine rağmen, çalışmamızda DKİS grade'i ve miRNA ekspresyonları arasında istatistiksel ilişki görülmedi (p>0,05).

Tablo-18. MiR182 ve miR-183' ün DKİS alt tiplerinde rölatif ekspresyon değerleri ortalamaları ve p değerleri. DKİS papiller ve kribriform tipte solid ve komedo tipe göre downregüle olmuşlardır.

DKİS tipleri	miR-182	p değeri	miR-183	p değeri.
Papiller tip	0,2980	0,03	0,0925	0,01
Kribriform tip	0,3265	0,04	0,1365	0,04
Solid tip	0,4480	0,84	0,1605	0,44
Komodo tip	0,3840	0,58	0,1640	0,87

B grubunda ise miR-376a ve miR-130a-5p PR pozitifliği ile negatif korele bulunmuş, Ki-67 ve Cerb-B2 pozitifliği ile korelasyon saptanmamıştır (Tablo-19). Histolojik gruplar luminal A, luminal B, HER-2 olarak incelenmiş, sadece bir adet triple negatif meme kanseri hastası olduğundan bu veri istatistik dışı bırakılmıştır. MiR21-5p ve miR-376a ekspresyonu

luminal A ile HER2+ gruplar arasında anlamlı farklı bulunmuştur. Her iki miRNA da HER2+ grupta daha fazla eksprese olmuştur (Tablo-20).

Tablo-19. B grubunda miRNA rölatif ekspresyon değerlerinin ER, PR, Ki-67 ve Cerb-B2 pozitiflikleriyle ilişkileri (p değerleri)

miRNA	ER	PR	Ki-67	Cerb-B2
miR-21-5p	0,189	0,164	0,028	0,056
miR-210	0,681	0,731	0,224	0,977
miR-183	0,915	0,335	0,548	0,760
miR-182	0,959	0,499	0,166	0,636
miR-99a	0,196	0,488	0,354	0,155
miR-99b	0,810	0,858	0,221	0,602
miR-382	0,650	0,844	0,737	0,287
miR-410-3p	0,344	0,089	0,098	0,202
miR-324-5p	0,842	0,879	0,141	0,327
miR-376a	0,056	0,009	0,388	0,101
miR-130a-3p	0,323	0,031	0,278	0,208

Tablo-20. MiR-21-5p ve miR376a nın Luminal A ve HER2+ meme kanseri gruplarında rölatif ekspresyon değerleri ortalamaları ve p değerleri

miRNA	Luminal A	HER2	P değeri
miR-21-5p	0,74	3,15	0,02
miR-376a	0,67	2,43	0,04

Meme kanseri evresi ile miRNA ekspresyonları arasında istatistiksel ilişki gösterilememiştir. Klinik olarak onkomiR'lerde artış tümör supressör miRNA'larda azalma beklenirken, Tablo-21'e bakıldığında evre ilerledikçe çalışılan miRNA'ların çoğunda tutarlı bir düşüş veya yükseliş görülmemektedir. MiR-382, miR-324-5p ve miR130a-3p'de evre ilerledikçe ekspresyon değerleri göreceli olarak azalmıştır.

Tablo-21. Evre ile miRNA rölatif ekspresyon değerleri ortalamaları arasındaki istatistiksel ilişki ve p değerleri

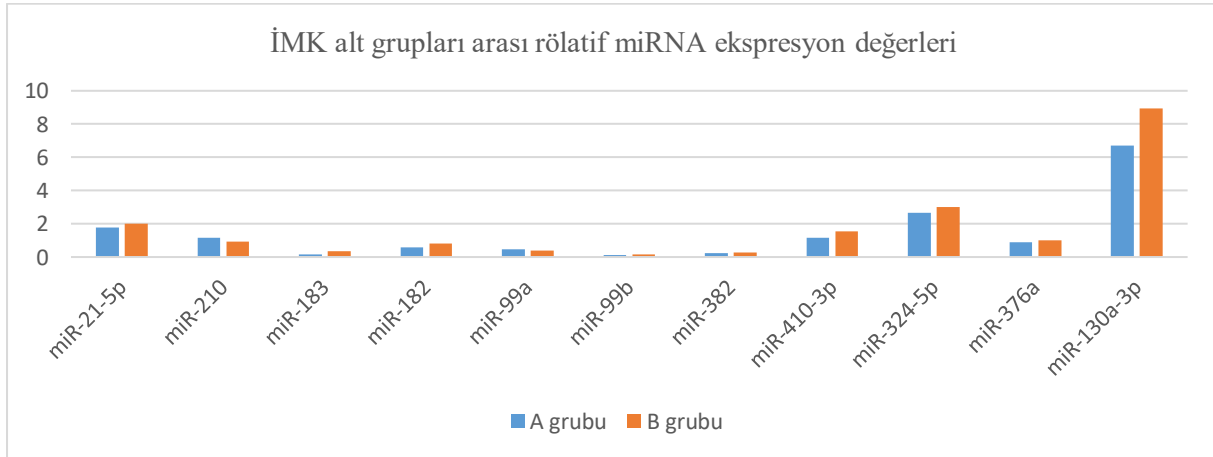
miRNA	Evre-1	Evre-2	Evre-3	p değeri
miR-21-5p	1,76	1,4	2,2	0,857
miR-210	2,27	0,66	1,5	0,251
miR-183	1,05	0,06	0,09	0,158
miR-182	1,18	0,15	0,16	0,165
miR-99a	0,64	0,31	0,45	0,272
miR-99b	0,21	0,05	0,07	0,124
miR-382	0,37	0,13	0,11	0,220
miR-410-3p	1,77	1,12	1,16	0,999
miR-324-5p	4,02	2,68	2,27	0,400
miR-376a	1,03	0,66	1,31	0,816
miR-130a-3p	10,23	9,74	4,82	0,869

B grubunda aynı dokudan DKİS alanı ve invaziv alandan örnek alınarak çalışılan miRNA ekspresyonları arasında istatistiksel olarak fark bulunamadı. Ama ekspresyon değerleri arasında göreceli olarak fark mevcuttur. OnkomiR olan miR-21-5p, miR-182, iR-183, miR-99b, miR-382, miR-410-3p, miR-324-5p, miR-130a-3p invaziv alandan alınan örnekte DKİS alanına göre daha yüksek ifade edilmiştir. Tümör supressör olan miR-99a DKİS alanına göre invaziv alanda daha az eksprese olmuştur. Ancak klinik beklentiye ters olarak onkomiR olduğu bilinen miR-210 invaziv alanda daha az eksprese olmuş ve tümör supressör miRNA olan miR-376a ise invaziv alanda daha yüksek eksprese olmuştur.

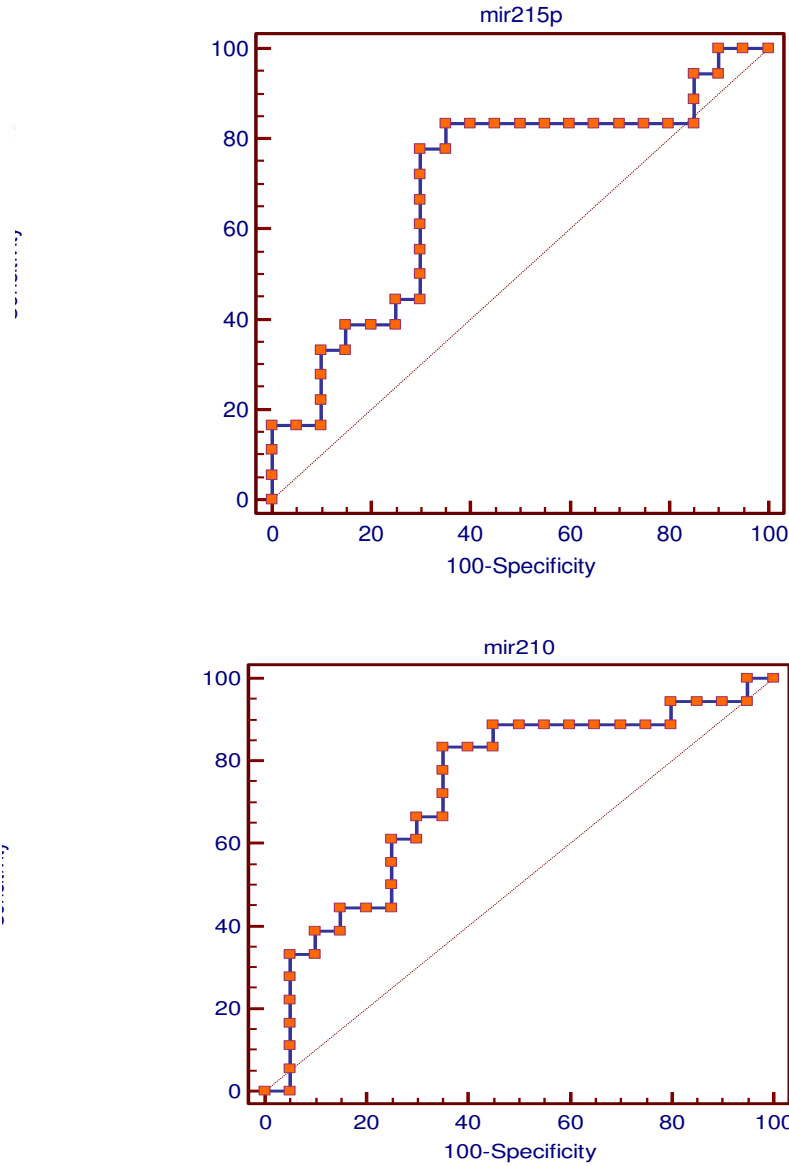
Tablo-22. B grubunun alt grupları arasında miRNA rölatif ekspresyon değerleri ortalamalarının karşılaştırılması ve p değerleri

miRNA	A alt grubu	B alt grubu	p değeri
miR-21-5p	1,76	2,00	0,36
miR-210	1,14	0,94	0,72
miR-183	0,17	0,34	0,66
miR-182	0,57	0,80	0,61
miR-99a	0,45	0,40	0,85
miR-99b	0,13	0,17	0,4
miR-382	0,24	0,27	0,52
miR-410-3p	1,16	1,56	0,74
miR-324-5p	2,68	3,01	0,88
miR-376a	0,89	1,01	0,85
miR-130a-3p	6,70	8,93	0,72

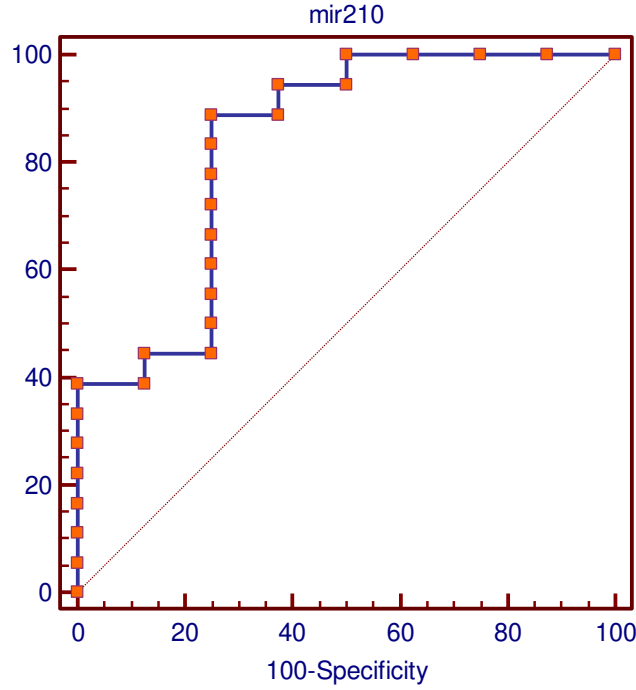
Tablo-23. B grubunun alt grupları arasında miRNA rölatif ekspresyon değerleri ortalamalarının karşılaştırılması grafik gösterimi



Üç grup arasında rölatif ekspresyon değerleri farklı çıkan miR-21-5p ve miR-210'un DKİS'tan invazyona geçişi öngörebilecek miRNA'lar oldukları hipoteziyle ROC analizi yapıldı. Amacımız DKİS teşhisi alan hastada bakılan miRNA'nın invazyonu öngörmesi olduğu için A ve B grubu arasında ayırım yapabilecek miRNA molekülünü saptamak hedeflendi. Hem miR-21-5p hem de miR-210, DKİS ve İMK gruplarının ayırımını yapabilmek adına istatistiksel anlamlı bulundu ($p=0,02$ ve $p=0,007$). MiR-21-5p için ekspresyon cut off değeri $>0,77$, miR-210 için ise $>1,46$ olarak hesaplandı.



Şekil-19. A ve B grubu arasında miR-21-5p ve miR-210 için çizilen ROC eğrileri



Şekil-20. Kontrol ve B grubu arasında miR-210 için çizilen ROC eğrisi

Ayrıca gruplar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında miR-210'un benign lezyon ve İMK arasında ayırım yapabilecek güçte olduğu saptanmış ($p=0,0008$) ve cut off değeri $>0,43$ olarak hesaplanmıştır. Her iki miRNA'nın B grubunun alt grupları ve kontrol grubu ile A grubu arasında ayırım yapma gücünde olmadığı izlenmiştir ($p>0,05$).

Tablo-24. MiR-21-5p ve miR-210'un gruplar arasındaki ayırım gücü

	miRNA	P Değeri	Youden j indexi	Güven Aralığı	EAA	Sensitivite	Spesifite
GrupA-GrupB	miR-210	0,007	$>0,776$	0,562 - 0,861	0,731	83,33	65
	miR-21-5p	0,029	$>1,464$	0,527 - 0,835	0,697	83,33	65
Kontrol-GrupA	miR-210	0,0856	$>0,165$	0,531 - 0,880	0,731	95	62,5
	miR-21-5p	0,4582	$>1,414$	0,381 - 0,764	0,581	50	87,5
Kontrol-GrupB	miR-210	0,0008	$>0,438$	0,636 - 0,949	0,833	88,89	75
	miR-21-5p	0,3826	$\leq 0,35$	0,388 - 0,783	0,597	50	100
GrupA-Grupb	miR-210	0,4361	$>1,4$	0,402 - 0,740	0,577	83,33	44,44
	miR-21-5p	0,7991	$\leq 2,65$	0,353 - 0,695	0,526	94,44	27,78

5. TARTIŞMA

Meme kanseri, kadın popülasyonunda en sık görülen malign tümördür. Mamografi taraması ve diğer tekniklerin kullanımı yoluyla meme kanserinin erken saptanması, hastalığın prognozunu değiştirdiği için esastır. Meme kanseri öncülü kabul edilen DKİS’de malign hücreler henüz bazal membranı aşmadığından metastaz kapasitesi olmadığı kabul edilir. Bu aşamada yakalanan lezyonun OS ve DFS oranları mükemmeldir. Bu nedenle, meme kanseri hastaları için hastalığı invazyon öncesi aşamada yakalayabilecek biyobelirteçlerin tanımlanmasına ihtiyaç vardır.

Çalışmalar, miRNA’ların kanser hücrelerinin proliferasyonu, invazyonu, metastazı ve ilaç direnci süreçlerinde yer aldığını ve bu moleküllerin histolojik derece, klinik evre, lenf nodu metastazı varlığı vb. ile yakından ilişkili olduğunu göstermiştir [231, 232]. Bu yönleriyle potansiyel kanser biyobelirteçleri olarak özellikle dikkat çekicidirler. Ayrıca terapötik hedef olarak kullanılabileceklerine dair yapılan çalışmalar da mevcuttur.

Meme kanserinde miRNA ekspresyonu çalışan pek çok yayın mevcuttur. Preinvaziv lezyonlardan (ADH, DKİS) invaziv kansere geçiş aşamaları ile ilgili yapılan çalışmalardan biri olan; Hannafon ve arkadaşlarının normal meme epiteli, redüksiyon mammoplasti dokuları ve DKİS dokularında miRNA ekspresyonlarını karşılaştırdıkları çalışmalarında miR-21, miR-182, miR-183, miR-410, miR-99a, miR-99b, miR-382, miR-324-5p, miR-376a ve miR-130a’nın disregüle olduğunu gösterilmiştir. MiR-21, miR-99b, miR-182 ve miR-183 ve miR-324-5p normal dokuya göre DKİS’te upregüle olurken; miR-99a, miR-130a, miR-376a, miR-382 ve miR-410 downregüle olmuştur [224]. Farazi ve arkadaşlarının çalışmasında ise normal dokuya göre DKİS dokusunda miR-21’in upregüle, miR-99a’nın downregüle olduğu saptanmıştır [225]. Volina ve arkadaşlarının çalışmasında bu bulgularla tutarlı şekilde DKİS dokusunda normal dokuya göre miR-21, miR-182, miR-183 upregüle; miR-99a, miR-376a downregüle olmuştur. Ayrıca miR-210’un DKİS ve meme kanseri dokuları karşılaştırıldığında, invaziv kanserde daha fazla eksprese olduğu gösterilmiştir [233]. Chen ve arkadaşlarının normal doku ile ADH karşılaştıran çalışmasında ADH dokusunda miR-21 ve miR-183 upregüle [234], Haakensen ve arkadaşlarının çalışmasında ise normal dokuya göre DKİS dokusunda miR-21 ve miR-183 upregüle; miR-99a downregüle bulunmuştur. Bu bilgiler ışığında meme kanseri karsinogenez basamaklarında değişim göstermesi beklenen; miR-21-5p, miR-210, miR-182, miR-183, miR-410-3p, miR-99a, miR-99b, miR-382, miR-324-5p, miR-376a ve miR-130a-3p çalışmamız için seçilmiştir [223-227, 233-235].

Çalışmamızda, gruplar arası miRNA ekspresyonları karşılaştırıldığında; miR-21-5p ve miR-210 istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($p=0,04$ ve $p=0,002$). MiR-21-5p kontrol grubu ile B grubu arasında farklı bulunmuş olup ($p=0,04$) kontrol grubuna göre invaziv grupta daha fazla eksprese edilmiştir. Kontrol grubundan başlayıp invazyon derecesi arttıkça rölatif ekspresyon değerlerinin de arttığı görülmüştür.

MiR-21, tümör ilerlemesinde yer aldığı keşfedilen ilk miRNA'dır ve genellikle birden çok insan solid tümöründe aşırı eksprese edildiği bildirilmiştir [236, 237]. Normal doku ile karşılaştırıldığında meme kanserinde yüksek oranda upregüle edilir [12, 238]. Çalışmalar ayrıca miR-21'in PTEN, PDCD4, Bcl2, metaloproteinaz 3'ün (TIMP3) doku inhibitörü, tropomiyosin 1 (TPM1) dahil olmak üzere birkaç tümör baskılayıcı geni hedefleyerek kanser invazyonu ve metastazında rol oynadığını göstermiştir [239-245].

Çalışmamızda DKİS grubunda ER ve PR pozitifliği ile miR-21-5p ifadesinin pozitif korele olduğu görüldü ancak, İMK grubunda bu korelasyon bulunmadı. Bulgumuza zıt olarak miR-21 ifadesinin ER ve PR ile negatif ilişkili olduğunu gösteren bir çalışma mevcuttur [237]. Bir meta-analizde miR-21 ekspresyonu ile lenf nodu metastazı ve histolojik grade arasında pozitif ilişki görülmüş ve HER2/neu ile ilişkili olduğu düşünülmüştür [237]. Bununla tutarlı olarak çalışmamızda invaziv grupta luminal A'ya göre HER2/neu pozitif hastalarda istatistiksel olarak anlamlı yüksek miR-21-5p ekspresyonu izledik. Yapılan başka bir çalışmada grade 1 meme kanserine kıyasla grade 2 ve 3'te daha yüksek miR-21 ifadesi bulunmuştur [12]. Bizim çalışmamızda ise kanser evresi veya histolojik grade açısından miR-21-5p ekspresyon farkı saptanmamıştır. Bu durumun, hastalar evrelere ve histolojik gradelere göre bölündüğünde örneklem grubunun küçülmesi nedeniyle meydana geldiği düşünülmektedir.

MiR-21 ifadesinin normal doku, flat epitelyal atipi, DKİS ve İMK dokuları arasında karşılaştırıldığı başka bir çalışmada invazyon ve hastalığın ciddiyetiyle paralel olarak artma eğiliminde olduğu gösterilmiş ve bu bulgu pek çok çalışmayla desteklenmiştir [12, 238, 246]. El-Toukhy ve arkadaşlarının çalışmasında [247] pek çok çalışmayla uyumlu bir şekilde [248-251] erken evre meme kanseri hasta serumlarında miRNA-21 ekspresyon seviyelerinin arttığı, ardından iyi huylu ve sonrasında da sağlıklı deneklerin geldiği gösterilmiştir. Birçok çalışma, miRNA-21'in meme kanseri dokusunda komşu normal dokuya kıyasla artan ekspresyonunu doğrulamıştır [252-257]. Chen ve arkadaşlarının çalışmasında ise meme kanseri, benign lezyon ve sağlıklı kontrol grubunda miR-21-5p karşılaştırılmış, meme kanserli hastalarda miR-21-5p'nin floresan kantitatif PCR Ct değerinin kontrol grubundan anlamlı derecede düşük olduğu bulunmuştur [258]. Çalışmamızdaki rölatif ekspresyon değerlerine bakıldığında invazyon

arttıkça; sırasıyla kontrol grubu, DKİS grubu, İMK grubunda miR-21-5p değeri göreceli olarak artmıştır.

MiR-21'in meme kanseri prognozunu ön görme ve ilaç direnciyle ilişkisine odaklanan çalışmalar da mevcuttur. Özgün ve arkadaşları, meme kanseri dokularındaki miR-21 ekspresyonunu analiz ederek, yüksek miR-21 ekspresyon seviyelerine sahip hastaların, düşük miR-21 ekspresyon seviyelerine sahip hastalardan önemli ölçüde daha düşük hastalısız sağkalıma sahip olduğunu bildirmiştir. Bu bulguyu miR-21'in agresif bir meme kanseri fenotipinin göstergesi olarak kabul etmiştir [259]. MiR-21'in aşırı ekspresyonu, meme kanseri hücre hatlarında hücre büyümesini, göçünü ve invazyonunu, kendini yenilemesini ve klon genisitesini artırır [260]. Meme kanseri dokularında ve PTX (paklitaksel) 'e dirençli meme kanseri hücre hatlarında miR-21-5p'nin upregüle edildiği ve PDCD4'ün downregüle edildiği bulunmuştur [261]. Tümör dokusunda fazla ekspresyonu tümör agresifliği ve ilaç direnciyle ilişkili olabilir.

Tüm bu bilgilere ve çalışmamızın sonucuna dayanarak miR-21-5p ifadesinin meme kanseri patogeneğinde erken basamaklardan itibaren artmaya başlayıp invazyon derecesi arttıkça daha da yükseldiğini görmekteyiz. Bu fikirle, miR-21-5p'nin DKİS'in invazivliğini öngörmek için yeterli ayrım gücüne sahip olup olmadığına bakmak ROC analizi yapıldı ve olumlu sonuç alındı. DKİS dokusunda 1,46 üzerindeki rölatif ekspresyon değerinde saptanması halinde bu lezyonun %83 sensitiviteyle invaziv olduğunu veya olacağını söyleyebiliriz (Tablo-22). Ancak kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında ayrım sağlamadığı görüldü ($p>0,05$). Bunun nedeni kontrol grubu örneklem sayısının diğer gruplardan daha düşük olması olabilir.

Çalışmamızda miR-21-5p'ye ek olarak mir-210 ifadesi gruplar arasında farklı bulunmuştur. Bu farklılık kontrol grubu ile invaziv kanser grubu arasında ve DKİS grubu ile invaziv kanser grubu arasında mevcuttur. İnvazyon derecesi arttıkça miR-210 ekspresyonu da miR-21-5p'ye benzer şekilde artmıştır. MiR-210-3p'nin bir onkogen olarak rolü iyi karakterize edilmiştir; bununla birlikte, bir tümör baskılayıcı olarak da hareket ettiğini öne süren çalışmalar da mevcuttur [262]. Genel olarak literatüre bakıldığında meme kanseri için onkomiR olarak kabul etmek daha doğrudur.

miR-21 ve miR-210, meme kanseri dokusunda yüksek oranda eksprese edilir ve lenf nodu metastazı, klinik evreleme ve farklılaşma ile önemli ölçüde ilişkilidir. miR-210 upregülasyonu, meme kanserli hastaların kötü prognozu ve ilaca dirençli meme kanseri

gelişimiyle ilişkili bulunmuştur [253, 263-272]. Hipoksik çevrede HIF-1 alfa yolağını kullanarak yüksek eksprese olduğu ve hücre proliferasyonu, invazyon ve migrasyonunu arttırdığı görülmüştür [273-276]. MiR-210 ekspresyonu, tümör anjiyogenezinde olası bir rolü gösteren VEGF ekspresyonu ile ilişkili görünmektedir [277]. Bar I. ve ark.larının TNBC hastalarda yaptıkları çalışma miR-210 ekspresyonunun tümör mikroçevresi (TME) tarafından eksprese edildiğini göstermiştir [278]. Ayrıca miR-210'un deneysel olarak doğrulanmış hedefleri mitokondriyal metabolizmanın düzenlenmesi, hücre döngüsü kontrolü, anjiyogenez, apoptoz ve DNA hasarı onarımı dahil işlevleri olduğu hakkında bilgi vermektedir [275, 279].

Shi ve ark. üçlü negatif hücre hattındaki miR-210 ekspresyonunun luminalden dört kat daha yüksek olabileceğini göstermiştir [235]. Çalışmamızda bu bulguyu destekler bir sonuç elde edilememiştir. Bunun nedeni invaziv grupta tek bir TNBC hasta olması ve istatistiksel olarak veri elde edemememizdir. Shidfar ve ark. tarafından yapılan çalışmada redüksiyon mamoplasti spesimenleri, meme kanserli dokular ve sağlam meme dokuları karşılaştırılmış, miR-210 ekspresyonunun hem ER-pozitif hem de ER-negatif tümörlerde ve karşı meme dokularında, redüksiyon mamoplasti kontrollerine kıyasla önemli ölçüde arttığı doğrulanmıştır. Karşı memenin meme kanseri riski, biyobelirteç keşfi için mükemmel bir yüksek risk modeli olarak düşünülmüştür. MiR-210'un doku örneklerinde meme kanseri riskini ön görebilecek güçlü bir aday biyobelirteç olduğu fikrini savunmaktadırlar. [280]

Normal memeden DKİS'e geçişte miR-210'un azaldığını, ancak DKİS'den İMK'ye geçişte arttığını ortaya koyan çalışmalar da mevcuttur. [233, 235]. Yine aynı çalışmada miR-210'un İMK'de DKİS 'e kıyasla önemli ölçüde arttığı bulunmuştur ve bu bulgu Volinia ve meslektaşları tarafından invazyona geçişte açıklanan değişikliklerle tutarlıdır [233, 235, 280]. Çalışmamızda kontrol grubundan DKİS'e geçişte bir düşüş olmamış, literatürdeki çoğu bilgiyle tutarlı olarak göreceli bir yükselme olmuştur. DKİS - İMK geçişinde ise bahsedilen çalışmalarla tutarlı şekilde miR-210 ekspresyonu artmıştır. Bu bulgular ışığında miR-210'un benign lezyon, DKİS ve İMK ayırım gücünü hesaplamak için ROC analizi yapılmıştır. Hem DKİS ve İMK ayırımı, hem de benign lezyon ve İMK ayırımı açısından istatistiksel anlamlı bulunmuştur (Tablo-22). Bu bulgunun anlamı; miR-210 rölatif ekspresyon değerinin 0,77 ve üzerinde saptandığı DKİS dokusunda %83 sensitivite ile lezyonun invazivliğini öngörebileceğidir (p=0,007). Ayrıca fibroadenom dokusuyla İMK dokusu arasında ekspresyon cut off değeri 0,43 ve üzerinde olması halinde %88,8 sensitivite ile ayırım yapabilir (p=0,0008). Bu bulgu şüpheli benign lezyonların malign olup olmadığı konusunda yorum yapmamıza da olanak sağlaması açısından değerlidir.

Çalışılan diğer miRNA ifadelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar bulunmadı. Bu durumun nedeni eski tarihli parafin bloklar olabilir. Çalışılan diğer miRNA'ları inceleyecek olursak; miR-99a bir tümör suppressör miRNA olup miR-99a-5p'nin (kılavuz iplik) tümör baskılayıcı işlevine ilişkin çok sayıda rapor bulunmaktadır [281-283]. Önceki çalışmalar, mTOR, HOXA1, IGF-1R, CDC25 ve FGF3'ün doğrudan miR-99a-5p tarafından düzenlendiğini göstermiştir ve miR-99a-5p'nin azalan ekspresyonu, bu onkogenlerin kanser hücrelerinde anormal ekspresyonunun bir nedenidir [281-286].

Yapılan bir kohort çalışmasında miR-99a-5p ve miR-99a-3p'nin meme kanseri dokularında normal meme dokularına kıyasla önemli ölçüde downregüle edildiğini göstermiştir [287]. Sun ve ark. miR-99a ekspresyonunun, memedeki duktal karsinomda downregüle edildiğini gözlemlemiştir [288]. Benzer şekilde, Wang ve ark. meme kanseri dokularının normal dokulara kıyasla downregüle edilmiş miR99a ekspresyonu gösterdiğini, bunun lenf nodu metastazı ve daha kısa genel sağkalım ile yüksek oranda ilişkili olduğunu bildirmiştir [282]. Hu ve ark. meme kanseri doku örneklerinde ve hücre hatlarında miR-99a ekspresyon seviyesinde bir düşüş gözlemlemiştir [283], Garrido-Cano ve arkadaşlarının 103 meme kanseri ve 26 sağlıklı meme dokusunda yaptıkları çalışmada da kanser grubunda downregüle olduğu görülmüştür. Dolaşımdaki miR-99a-5p seviyelerine bakmışlar ve ilginç bir şekilde, asemptomatik kontrollerle karşılaştırıldığında erken meme kanseri hastalarında (evre I ve II) upregüle olduğunu bulmuşlardır [289]. Literatür bulgularına bakıldığında miR-99a'yı bir tümör suppressör miRNA olarak yorumladık. Çalışmamızda ise üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı miR-99a ekspresyon farkı bulunmamıştır.

MiR-99b bir onkomiR'dir. Yapılan çalışmalarda meme kanseri dokularında upregüle olduğu bulunmuştur. Meme kanserinde transforme edici büyüme faktörü (TGF)- β ile indüklenen epitelyalden mezenkimal geçiş (EMT) ve ayrıca meme kanseri hücrelerinin proliferasyonu ve migrasyonunu modüle ettiği de bildirilmiştir [290]. MiR-99b ekspresyonu, histolojik grade ile anlamlı bir korelasyon göstermiş, bu nedenle, yüksek miR-99b ekspresyonu meme kanseri hücre proliferasyonu ile ilişkilendirilmiştir [291]. Yüksek miR-99b ekspresyonu olan meme kanseri, özellikle luminal A alt tipinde daha kötü hastalıklı sağkalım (DSS) ve genel sağkalım (OS) ile ilişkilendirilmiştir [291]. Çalışmamızda gruplar arasında istatistiksel anlamlı ekspresyon farkı bulunmamıştır. DKİS grubunda, ER pozitif hastalarda negatif olanlara göre daha yüksek eksprese edilmiş ve ER pozitifliği ile pozitif korelasyon göstermiştir. Ancak invaziv kanser grubunda histolojik alt tiplerle ilişkisi görülmemiştir. Bu durum, tümör histolojik alt tiplerine bölündüğünde hasta sayısının azalmasıyla ilgili olabilir.

MiR-130a-3p, insan meme kanseri örneklerinde ve kandan türetilen eksozomlarda ekspresyonunun azaldığı bulunan bir tümör baskılayıcı miRNA'dır. Meme kanseri kök hücrelerinde (CSC- Cancer Stem Cell) miR-130a-3p'nin zorla yukarı regülasyonu, proliferasyonu, göç potansiyelini ve istilacılığı bastırırken, susturulması zıt etkilere yol açmıştır [292]. Önceki raporlar miR-130a'nın PI3K ve AKT, Wnt/ β -katenin ve NF-kB sinyal yolları yoluyla PTEN'i hedef aldığını belirlemiştir [293]. Çalışmamızda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı ekspresyon farkı gösterilememiştir. Ekspresyon değerlerine bakıldığında kontrol grubuna göre DKİS'de daha yüksek, invaziv kanser grubunda ise DKİS'e göre daha düşük eksprese edilmiştir. Ayrıca progesteron reseptör pozitifliği olan hastalarda negatif hastalara göre daha düşük eksprese edilmiştir ve PR pozitifliği ile negatif korelasyon söz konusudur ($p<0,05$). Literatürde bu bulguyu destekler çalışma yoktur.

MiR-182 ve miR-183, miR-96-182-183 kümesinin üyeleridir ve bu miRNA kümesi, 7q32.2 kromozomu üzerinde bulunur [294]. miR-182 ve miR-183, OnkomiR'lerdir ve DKİS 'da aşırı eksprese edilirler [224]. Meme kanserli hastaların tümör dokularında, serumlarında miR-182 ve miR-183 eş zamanlı artışının birbiriyle bir ilişkisi olduğu görülmüştür [295].

MiR-182'nin onkojen gibi davrandığını destekleyen birçok çalışma yapılmıştır [296-302]. Meme kanseri alt gruplarında miR-182 ekspresyonu üzerine yapılan bir çalışmada, meme kanserinin tüm alt gruplarında miR-182 ekspresyonunun normal dokuya göre belirgin şekilde upregülasyonu gözlenmiş, en yüksek miR-182 ekspresyonu PR+/ER+ meme kanserinde gösterilmiştir [297]. Başka bir çalışmada da miR-182 ile ER ve PR arasında da pozitif bir korelasyon bulunmuştur [303-305]. Bunlara karşılık ER+ PR+ meme kanseri hastalarında negatif hastalara göre daha düşük ekspresyon düzeyi izlenmiş olan bir çalışma da mevcuttur.[300]

MiR-183'ün aşırı ekspresyonunun, hücrelerin proliferasyon ve migrasyon kapasitelerinde bir artışa neden olduğu gösterilmiştir [306]. Bu bulguyu destekler nitelikte çalışmalar mevcuttur. Bir tümör baskılayıcı gen olan FHL1, çoklu habis tümörlerde yaygın olarak downregüle edilir [307]. MiR-183-5p'nin yüksek ekspresyonu FHL1 ekspresyonu ile negatif korelasyon göstermiştir [308]. MiR-183-5p'nin aşırı ifade edilmesi, meme kanserinin ilerlemesini önemli ölçüde hızlandırırken, miR-183-5p'nin susturulması zıt sonuca neden olmuştur [309]. MiR-183 ekspresyonunun ER ve PR pozitif meme tümörlerinde ER ve PR negatif meme tümörlerine göre anlamlı derecede düşük olduğunu, miR-183 ekspresyonunun HER2/neu pozitif tümörlerde HER2/neu negatif tümörlere göre anlamlı derecede yüksek

olduğunu ortaya konmuştur. Luminal A tümörleri, miR-183'ün en düşük ifadesini sergilemiştir [15].

Çalışmamızda miR-182 ve miR-183'ün göreceli olarak gruplar arasında invazyon arttıkça yüksek eksprese edildiği saptanmış, ancak anlamlı fark bulunamamıştır. ER ve PR ile veya tümör histolojik alt tipleriyle (luminal A, luminalB, HER2+ ve üçlü negatif) herhangi bir ilişki gösterilememiştir. Ancak literatürde çalışılmamış olan DKİS alt tiplerine bakıldığında miR-182 ve miR-183 kribriform ve papiller paternde solid ve komedo tipe göre daha düşük eksprese edilmiş ve bu paternlerle aralarında negatif korelasyon bulunmuştur. Daha az agresif olan kribriform ve papiller paternde birer onkogen olan miR-182 ve miR-183'ün düşük ifade edilmesi beklenen bir bulgudur.

MiR-324-5p veya -3p'nin aşırı ekspresyonu, meme kanseri hücrelerinin büyümesini ve istilasını bastırmıştır [310]. Glutasyon peroksidaz-3 GPX3, meme kanserinde potansiyel bir tümör baskılayıcıdır. Meme kanseri hücre hatları ve dokularında düşük GPX3 ekspresyonu doğrulanmıştır. MiR-324-5p inhibisyonu meme kanserinde GPX3 downregülasyonundan sorumludur [311]. Üçlü negatif meme kanserinde yapılan çalışmalarda miR-324-5p azalan genel sağkalım ile önemli ölçüde ilişkili bulunmuştur [312, 313]. Tümör baskılayıcı miRNA olan miR-324-5p'nin DKİS ve invaziv grupta azalması beklenirken, çalışmamızda bunu destekler bulgu izlenmemiştir. İnvaziv kanser grubunda ise beklendiği gibi evre 1 hastalıkta evre 2 ve 3'e göre daha çok eksprese edilmiştir ancak istatistiksel anlamlılık yoktur.

MiR-376 ailesi, insan kromozomu 14'te bulunur ve aynı veya benzer dizileri içeren birkaç üyeye sahiptir. MIR376a ve MIR376b, makro-otofajinin düzenlenmesinde rol oynamaktadır [314]. İyi huylu meme dokusu numunelerine kıyasla malign meme kanserinde daha düşük seviyelerde bulunmuştur [315]. Yapılan başka bir çalışmada miR-376a ekspresyonu, meme kanseri hastalarının genel sağkalımı ile pozitif olarak ilişkilidir ve meme kanseri hücrelerinde önemli ölçüde azalmıştır ve miR-376a aşırı ekspresyonu, hücre proliferasyonunu, göçünü ve istilasını bastırmış ve hücrelerin apoptozunu desteklemiştir [316]. Çalışmamızda gruplar arasında anlamlı ekspresyon farkı izlenmemiştir. İnvaziv meme kanseri grubunda PR pozitifliği olan hastalarda negatif olan hastalara göre daha düşük eksprese olmuştur ($p<0,05$) ve PR pozitifliği ile negatif korelasyonu istatistiksel olarak doğrulanmıştır. Ayrıca HER2 pozitif hastalarda luminal A ile karşılaştırıldığında daha çok eksprese olmuştur ($p<0,05$).

Önceki çalışmalar, miR-382'nin meme kanseri de dahil olmak üzere çeşitli kanser türlerinde tümör baskılayıcı bir rol oynadığını doğrulamıştır [317, 318]. İlgili çalışmalar, miR-382'nin doku iltihabını ve T-hücresi farklılaşmasını düzenlemede kritik roller oynayabileceğini göstermiştir [319-321]. MiR-382 tarafından hedeflendiği bildirilen moleküller ve sinyal yolları arasında, TLR4/MyD88/NF- κ B [320] ve Akt/mTOR eksenleri [322] ve TAM (tümör ilişkili makrofaj)'ların polarizasyonu mevcuttur [319].

El-Toukhy ve meslektaşlarının çalışmasında miRNA-382'nin meme kanserli hasta serumlarında sağlıklı kontrol grubuna göre daha düşük seviyelerde eksprese edildiği gösterilmiştir ve miRNA-382'nin ekspresyon seviyesinin, normal kontrol ile karşılaştırıldığında, iyi huylu veya kötü huylu tümörleri olan kişilerde önemli ölçüde azaldığı ortaya konmuştur [247]. Yine kanserli dokuda downregülasyonu destekleyen pek çok çalışma mevcuttur [323-327]. Li ve diğerleri tarafından yapılan bir çalışma, duktal karsinoma in situ (DKİS) hastalarının dokularında miR-382-5p ekspresyonunun önemli ölçüde azaldığını göstermiştir [328]. Çalışmamızda beklenenin aksine DKİS'de diğer gruplara göre anlamlı fark bulunmamıştır.

MiR-410-3p bir tümör baskılayıcı miRNA'dır. Yapılan bir çalışmada ekspresyonun meme kanseri dokularında, eşleştirilmiş normal meme dokularında kaydedilene kıyasla daha düşük olduğunu bulunmuş ve miR410-3p'nin aşırı ekspresyonu, meme kanseri hücrelerinde hücre proliferasyonunu ve istilasını bastırmıştır. Ayrıca aynı çalışmada miR410-3p'nin meme kanseri hücrelerinde EMT fenotipini inhibe ettiğini ve Snail ekspresyonunun miR-410-3p ekspresyonu ile ters orantılı olduğunu bulmuşlardır [329]. Ek olarak miR-410-3p/CCND1 aksı [330], miRNA-410-3p/EMC2 aksı [331] gibi yollarla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Yaptığımız çalışmada downregülasyon gösterilememiştir. DKİS grubunda ER ve PR pozitifliği ile korele olduğu görülmüş, reseptör pozitif hastalarda daha yüksek eksprese edilmiştir.

B grubu alt gruplarında yukarıda bahsedilen tüm miRNA'lar çalışılmış olup ekspresyon değerleri arasında göreceli olarak fark mevcuttur. Onkogen olan (miR-21-5p, miR-182, iR-183, miR-99b, miR-382, miR-410-3p, miR-324-5p, miR-130a-3p) miRNA'lar invaziv alandan alınan örnekte DKİS alanına göre daha yüksek ifade edilmiştir. Beklentinin aksine istatistiksel anlamlılık görülmemiştir. Tümör supressör olan miR-99a DKİS alanına göre invaziv alanda daha az eksprese olmuştur. Ancak klinik beklentiye ters olarak onkomiR olduğu bilinen miR-210 invaziv alanda daha az eksprese olmuş ve tümör supressör miRNA olan miR-376a ise invaziv alanda daha yüksek eksprese olmuştur. Bu durumun nedeni parafin blokların zamanla

bozulan kalitesi ve kesit alınırken meydana gelebilecek DKİS ve İMK hücrelerinin kontaminasyonu ile ilgili olabilir.



6. SONUÇ

Özetle, çalışılan tüm miRNA'lar kontrol grubuna kıyasla DKİS grubunda daha fazla eksprese olmuşlardır, bu durum invaziv grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında da geçerlidir. Ancak miR-21-5p ve miR-210 istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. MiR-21-5p ve miR-210 ifadesi çalışmamızla uyumlu şekilde genel literatüre bakıldığında meme kanseri patogeneğinde erken basamaklardan, ADH ve DKİS'ten itibaren artmaya başlayıp invazyon derecesi arttıkça bu artış da devam etmekte, ayrıca her iki miRNA belli cut off değerinde DKİS-İMK ayrımı yapabilmektedirler. Bu yönleriyle klinikte erken tanı ve DKİS olarak saptanan lezyonların invaziv olup olmadığını ayırmak için kullanılabilirler.

Bu sonuçlar daha yüksek miRNA ve hasta sayılarıyla yapılacak çalışmalarla desteklendiğinde, miRNA'ların erken teşhiste, prognozu öngörerek sistemik tedavinin bireyselleştirilerek düzenlenmesinde, DKİS'da invazivliği öngörerek özellikle aksiller cerrahi kararının daha net verilmesinde, tedavi takibinde ve terapötik hedef olarak ilaç araştırmalarını yönlendirmede biyomarker olarak kullanılabileceği görüşündeyiz. Çalışmamızın sonuçları da, miR-21-5p ve miR-210'un potansiyel biyomarkerlar olarak kullanılabileceğine dikkat çekmektedir.

7. KAYNAKÇA

1. Sung, H., et al., *Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries*. CA: a cancer journal for clinicians, 2021. 71(3): p. 209-249.
2. Nardin, S., et al., *Breast Cancer Survivorship, Quality of Life, and Late Toxicities*. Front Oncol, 2020. 10: p. 864.
3. Bellanger, M., et al., *Are Global Breast Cancer Incidence and Mortality Patterns Related to Country-Specific Economic Development and Prevention Strategies?* J Glob Oncol, 2018. 4: p. 1-16.
4. Smolarz, B., A.Z. Nowak, and H. Romanowicz, *Breast Cancer-Epidemiology, Classification, Pathogenesis and Treatment (Review of Literature)*. Cancers, 2022. 14(10).
5. van Seijen, M., et al., *Ductal carcinoma in situ: to treat or not to treat, that is the question*. Br J Cancer, 2019. 121(4): p. 285-292.
6. Elshof, L.E., et al., *Cause-specific Mortality in a Population-based Cohort of 9799 Women Treated for Ductal Carcinoma In Situ*. Ann Surg, 2018. 267(5): p. 952-958.
7. Bijker, N., et al., *Is DCIS Breast Cancer, and How Do I Treat it?* Current Treatment Options in Oncology, 2013. 14(1): p. 75-87.
8. Kim, S.Y., et al., *Genomic differences between pure ductal carcinoma in situ and synchronous ductal carcinoma in situ with invasive breast cancer*. Oncotarget, 2015. 6(10): p. 7597-7607.
9. Pang, J.B., et al., *Breast ductal carcinoma in situ carry mutational driver events representative of invasive breast cancer*. Mod Pathol, 2017. 30(7): p. 952-963.
10. Nimmo, R.A. and F.J. Slack, *An elegant miRror: microRNAs in stem cells, developmental timing and cancer*. Chromosoma, 2009. 118(4): p. 405-418.
11. Friedman, R.C., et al., *Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs*. Genome Research, 2009. 19(1): p. 92-105.
12. Iorio, M.V., et al., *MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer*. Cancer Res, 2005. 65(16): p. 7065-70.
13. Mattie, M.D., et al., *Optimized high-throughput microRNA expression profiling provides novel biomarker assessment of clinical prostate and breast cancer biopsies*. Molecular Cancer, 2006. 5.
14. Blenkiron, C., et al., *MicroRNA expression profiling of human breast cancer identifies new markers of tumor subtype*. Genome Biology, 2007. 8(10).
15. Sempere, L.F., et al., *Altered microRNA expression confined to specific epithelial cell Subpopulations in breast cancer*. Cancer Research, 2007. 67(24): p. 11612-11620.
16. Bazira P.J., E.H., Mahadevan V., *Anatomy and physiology of the breast*. Surgery (Oxford), 2022. Volume 40(Issue 2): p. Pages 79-83.
17. Hunt K. K., G.M.C., and Buchholz T. A., *Diseases of the Breast*, in *Sabiston Textbook of Surgery: The biological basis of modern surgical practice*, B.R.D. Townsend C. M., Evers B. M., Mattox K. L., Editor. 2019. p. 824-869.
18. *breast anatomy*. Available from: <https://www.netterimages.com/adrenal-medulla-and-catecholamines-unlabeled-gynecology-frank-h-netter-1346.html>.
19. de la Pared Torácica, A. and A. y Mama, *Anatomy of the thoracic wall, axilla and breast*. Int. J. Morphol, 2006. 24(4): p. 691-704.
20. Biswas, S.K., et al., *The Mammary Gland: Basic Structure and Molecular Signaling during Development*. Int J Mol Sci, 2022. 23(7).

21. Watson, C.J. and W.T. Khaled, *Mammary development in the embryo and adult: new insights into the journey of morphogenesis and commitment*. Development, 2020. 147(22).
22. Visvader, J.E., *Keeping abreast of the mammary epithelial hierarchy and breast tumorigenesis*. Genes & Development, 2009. 23(22): p. 2563-2577.
23. Streuli, C.H., *Cell adhesion in mammary gland biology and neoplasia - Preface*. Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia, 2003. 8(4): p. 375-381.
24. Muschler, J. and C.H. Streuli, *Cell-Matrix Interactions in Mammary Gland Development and Breast Cancer*. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 2010. 2(10).
25. Schedin, P. and P.J. Keely, *Mammary Gland ECM Remodeling, Stiffness, and Mechanosignaling in Normal Development and Tumor Progression*. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 2011. 3(1).
26. Zhao, C., et al., *Stromal Gli2 activity coordinates a niche signaling program for mammary epithelial stem cells*. Science, 2017. 356(6335).
27. Brenot, A., I. Hutson, and C. Harris, *Epithelial-adipocyte interactions are required for mammary gland development, but not for milk production or fertility*. Dev Biol, 2020. 458(2): p. 153-163.
28. McNally, S. and T. Stein, *Overview of Mammary Gland Development: A Comparison of Mouse and Human*. Mammary Gland Development: Methods and Protocols, 2017. 1501: p. 1-17.
29. Macias, H.H., L., *Mammary Gland Development*. Wiley Interdiscip Rev Dev Biol., 2012.
30. Wu, D., L.U. Thompson, and E.M. Comelli, *MicroRNAs: A Link between Mammary Gland Development and Breast Cancer*. International Journal of Molecular Sciences, 2022. 23(24).
31. Slepicka, P.F., S.L. Cyrill, and C.O. dos Santos, *Pregnancy and Breast Cancer: Pathways to Understand Risk and Prevention*. Trends in Molecular Medicine, 2019. 25(10): p. 866-881.
32. Scheele, C.L., et al., *Identity and dynamics of mammary stem cells during branching morphogenesis*. Nature, 2017. 542(7641): p. 313-317.
33. Paine, I.S. and M.T. Lewis, *The Terminal End Bud: the Little Engine that Could*. Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia, 2017. 22(2): p. 93-108.
34. Sternlicht, M.D., *Key stages in mammary gland development - The cues that regulate ductal branching morphogenesis*. Breast Cancer Research, 2006. 8(1).
35. Buchmann, B., et al., *Mechanical plasticity of collagen directs branch elongation in human mammary gland organoids*. Nature Communications, 2021. 12(1).
36. Akhtar, N. and C.H. Streuli, *An integrin-ILK-microtubule network orients cell polarity and lumen formation in glandular epithelium*. Nature Cell Biology, 2013. 15(1): p. 17-U48.
37. Richert, M.M., et al., *An atlas of mouse mammary gland development*. Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia, 2000. 5(2): p. 227-241.
38. Oakes, S.R., H.N. Hilton, and C.J. Ormandy, *Key stages in mammary gland development - The alveolar switch: coordinating the proliferative cues and cell fate decisions that drive the formation of lobuloalveoli from ductal epithelium*. Breast Cancer Research, 2006. 8(2).
39. Wang, Q.A. and P.E. Scherer, *Remodeling of Murine Mammary Adipose Tissue during Pregnancy, Lactation, and Involution*. Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia, 2019. 24(3): p. 207-212.

40. Watson, C.J., *Key stages in mammary gland development - Involution: apoptosis and tissue remodelling that convert the mammary gland from milk factory to a quiescent organ*. Breast Cancer Research, 2006. 8(2).
41. Lemay, D.G., et al., *RNA Sequencing of the Human Milk Fat Layer Transcriptome Reveals Distinct Gene Expression Profiles at Three Stages of Lactation*. Plos One, 2013. 8(7).
42. Neville, M.C., et al., *Studies in Human Lactation - Milk Volume and Nutrient Composition during Weaning and Lactogenesis*. American Journal of Clinical Nutrition, 1991. 54(1): p. 81-92.
43. Hannan, F.M., et al., *Hormonal regulation of mammary gland development and lactation*. Nature Reviews Endocrinology, 2022.
44. Nyquist, S.K., et al., *Cellular and transcriptional diversity over the course of human lactation*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2022. 119(15).
45. Ruan, W.F. and D.L. Kleinberg, *Insulin-like growth factor I is essential for terminal end bud formation and ductal morphogenesis during mammary development*. Endocrinology, 1999. 140(11): p. 5075-5081.
46. Vandenberg, L.N., et al., *The mammary gland response to estradiol: Monotonic at the cellular level, non-monotonic at the tissue-level of organization?* Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 2006. 101(4-5): p. 263-274.
47. Yamaji, D., et al., *Sequential activation of genetic programs in mouse mammary epithelium during pregnancy depends on STAT5A/B concentration*. Nucleic Acids Research, 2013. 41(3): p. 1622-1636.
48. Briskin, C., et al., *Prolactin controls mammary gland development via direct and indirect mechanisms*. Developmental Biology, 1999. 210(1): p. 96-106.
49. Ormandy, C.J., et al., *Investigation of the transcriptional changes underlying functional defects in the mammary glands of prolactin receptor knockout mice*. Recent Progress in Hormone Research, Vol 58, 2003. 58: p. 297-323.
50. Pang, W.W. and P.E. Hartmann, *Initiation of human lactation: Secretory differentiation and secretory activation*. Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia, 2007. 12(4): p. 211-221.
51. Mulac-Jericevic, B., et al., *Defective mammary gland morphogenesis in mice lacking the progesterone receptor B isoform*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2003. 100(17): p. 9744-9749.
52. Asselin-Labat, M.L., et al., *Control of mammary stem cell function by steroid hormone signalling*. Nature, 2010. 465(7299): p. 798-802.
53. Joshi, P.A., et al., *Progesterone induces adult mammary stem cell expansion*. Nature, 2010. 465(7299): p. 803-807.
54. Belet, M., et al., *Two distinct mechanisms underlie progesterone-induced proliferation in the mammary gland*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010. 107(7): p. 2989-2994.
55. Loladze, A.V., et al., *Epithelial-specific and stage-specific functions of insulin-like growth factor-I during postnatal mammary development*. Endocrinology, 2006. 147(11): p. 5412-23.
56. Neville, M.C., et al., *The insulin receptor plays an important role in secretory differentiation in the mammary gland*. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, 2013. 305(9): p. E1103-E1114.
57. Wintermantel, T.M., et al., *The epithelial glucocorticoid receptor is required for the normal timing of cell proliferation during mammary lobuloalveolar development but is dispensable for milk production*. Molecular Endocrinology, 2005. 19(2): p. 340-349.

58. Monks, J., M.S. Ladinsky, and J.L. McManaman, *Organelle Contacts of Milk Lipid Droplets*. Contact (Thousand Oaks), 2020. 3.
59. Anderson, S.M., et al., *Key stages in mammary gland development - Secretory activation in the mammary gland: it's not just about milk protein synthesis!* Breast Cancer Research, 2007. 9(1).
60. Stevenson, A.J., et al., *Multiscale imaging of basal cell dynamics in the functionally mature mammary gland*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2020. 117(43): p. 26822-26832.
61. Mather, I.H., et al., *Symposium review: Intravital imaging of the lactating mammary gland in live mice reveals novel aspects of milk-lipid secretion*. Journal of Dairy Science, 2019. 102(3): p. 2760-2782.
62. Crowley, W.R., *Neuroendocrine regulation of lactation and milk production*. Comprehensive Physiology, 2011. 5(1): p. 255-291.
63. McNeilly, A.S., et al., *Release of oxytocin and prolactin in response to suckling*. Br Med J (Clin Res Ed), 1983. 286(6361): p. 257-259.
64. Stevenson, A.J., et al., *Multiscale imaging of basal cell dynamics in the functionally mature mammary gland*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2020. 117(43): p. 26822-26832.
65. Diaz, S., et al., *Circadian variation of basal plasma prolactin, prolactin response to suckling, and length of amenorrhea in nursing women*. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 1989. 68(5): p. 946-955.
66. Cox, D.B., R.A. Owens, and P.E. Hartmann, *Blood and milk prolactin and the rate of milk synthesis in women*. Experimental Physiology: Translation and Integration, 1996. 81(6): p. 1007-1020.
67. Kritikou, E.A., et al., *A dual, non-redundant, role for LIF as a regulator of development and STAT3-mediated cell death in mammary gland*. 2003.
68. Nguyen, A.V. and J.W. Pollard, *Transforming growth factor beta3 induces cell death during the first stage of mammary gland involution*. Development, 2000. 127(14): p. 3107-3118.
69. Sargeant, T.J., et al., *Stat3 controls cell death during mammary gland involution by regulating uptake of milk fat globules and lysosomal membrane permeabilization*. Nature cell biology, 2014. 16(11): p. 1057-1068.
70. Heer, E., et al., *Global burden and trends in premenopausal and postmenopausal breast cancer: a population-based study*. The Lancet Global Health, 2020. 8(8): p. e1027-e1037.
71. Arnold, M., et al., *Current and future burden of breast cancer: Global statistics for 2020 and 2040*. The Breast, 2022. 66: p. 15-23.
72. Broders, A.C., *Carcinoma in situ contrasted with benign penetrating epithelium*. Journal of the American Medical Association, 1932. 99(20): p. 1670-1674.
73. Brunnicardi F. C., A.D.K., Billiar T. R., Dunn D. L., *The Breast*, in *Schwartz's Principles of Surgery*, S.D. Catherine C. Parker, Kirby I. Bland, and Kelly K. Hunt, Editor. 2019, McGraw-Hill Education. p. 541-602.
74. Recht, A., et al., *The fourth EORTC DCIS Consensus meeting (Chateau Marquette, Heemskerk, The Netherlands, 23–24 January 1998)—conference report*. European journal of cancer, 1998. 34(11): p. 1664-1669.
75. Foote Jr, F.W. and F.W. Stewart, *Lobular carcinoma in situ: a rare form of mammary cancer*. The American journal of pathology, 1941. 17(4): p. 491.
76. Consensus Conference Committee, a.n.b., *Consensus conference on the classification of ductal carcinoma in situ*. The Breast Journal, 1997. 3(6): p. 360-364.

77. Cserni, G., *Histological type and typing of breast carcinomas and the WHO classification changes over time*. Pathologica, 2020. 112(1): p. 25.
78. Sinn, H.P. and H. Kreipe, *A Brief Overview of the WHO Classification of Breast Tumors, 4th Edition, Focusing on Issues and Updates from the 3rd Edition*. Breast Care, 2013. 8(2): p. 149-154.
79. Rakha, E., et al., *The prognostic significance of inflammation and medullary histological type in invasive carcinoma of the breast*. European Journal of Cancer, 2009. 45(10): p. 1780-1787.
80. Rody, A., et al., *A clinically relevant gene signature in triple negative and basal-like breast cancer*. Breast cancer research, 2011. 13: p. 1-12.
81. Lee, H., et al., *Metaplastic breast cancer: clinicopathological features and its prognosis*. Journal of clinical pathology, 2012. 65(5): p. 441-446.
82. Abati, A.D., M. Kimmel, and P.P. Rosen, *Apocrine mammary carcinoma: a clinicopathologic study of 72 cases*. American journal of clinical pathology, 1990. 94(4): p. 371-377.
83. Niemeier, L.A., et al., *Androgen receptor in breast cancer: expression in estrogen receptor-positive tumors and in estrogen receptor-negative tumors with apocrine differentiation*. Modern Pathology, 2010. 23(2): p. 205-212.
84. Foschini, M.P. and T. Krausz, *Salivary gland-type tumors of the breast: a spectrum of benign and malignant tumors including "triple negative carcinomas" of low malignant potential*. in *Seminars in diagnostic pathology*. 2010. Elsevier.
85. Weigelt, B., et al., *Refinement of breast cancer classification by molecular characterization of histological special types*. The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland, 2008. 216(2): p. 141-150.
86. Capella, C., et al., *Endocrine differentiation in mucoid carcinoma of the breast*. Histopathology, 1980. 4(6): p. 613-630.
87. Lacroix-Triki, M., et al., *Mucinous carcinoma of the breast is genomically distinct from invasive ductal carcinomas of no special type*. The Journal of pathology, 2010. 222(3): p. 282-298.
88. Toikkanen, S. and H. Kujari, *Pure and mixed mucinous carcinomas of the breast: a clinicopathologic analysis of 61 cases with long-term follow-up*. Human pathology, 1989. 20(8): p. 758-764.
89. Edge, S.B., et al., *AJCC cancer staging manual*. Vol. 7. 2010: Springer.
90. Lucas, F.V. and C. Perez-Mesa, *Inflammatory carcinoma of the breast*. Cancer, 1978. 41(4): p. 1595-1605.
91. Hartman, M., et al., *Incidence and prognosis of synchronous and metachronous bilateral breast cancer*. Journal of Clinical Oncology, 2007. 25(27): p. 4210-4216.
92. Huo, D., et al., *Concordance in histological and biological parameters between first and second primary breast cancers*. Cancer, 2011. 117(5): p. 907-915.
93. Goldhirsch, A., et al., *Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2009*. Annals of oncology, 2009. 20(8): p. 1319-1329.
94. Cadoo, K.A., T.A. Traina, and T.A. King, *Advances in molecular and clinical subtyping of breast cancer and their implications for therapy*. Surgical Oncology Clinics, 2013. 22(4): p. 823-840.
95. Perou, C.M., et al., *Molecular portraits of human breast tumours*. nature, 2000. 406(6797): p. 747-752.
96. Herschkowitz, J.I., et al., *Identification of conserved gene expression features between murine mammary carcinoma models and human breast tumors*. Genome biology, 2007. 8: p. 1-17.

97. Rouzier, R., et al., *Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy*. Clinical cancer research, 2005. 11(16): p. 5678-5685.
98. Harbeck, N., et al., *Breast cancer*. Nature Reviews Disease Primers, 2019. 5.
99. Sørli, T., et al., *Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets*. Proceedings of the national academy of sciences, 2003. 100(14): p. 8418-8423.
100. Eroles, P., et al., *Molecular biology in breast cancer: intrinsic subtypes and signaling pathways*. Cancer treatment reviews, 2012. 38(6): p. 698-707.
101. Kennecke, H., et al., *Metastatic behavior of breast cancer subtypes*. Journal of clinical oncology, 2010. 28(20): p. 3271-3277.
102. Perou, C.M., *Molecular stratification of triple-negative breast cancers*. The oncologist, 2011. 16(S1): p. 61-70.
103. Prat, A. and C.M. Perou, *Deconstructing the molecular portraits of breast cancer*. Molecular oncology, 2011. 5(1): p. 5-23.
104. Hugh, J., et al., *Breast cancer subtypes and response to docetaxel in node-positive breast cancer: use of an immunohistochemical definition in the BCIRG 001 trial*. Journal of clinical oncology, 2009. 27(8): p. 1168.
105. Carey, L., et al., *Triple-negative breast cancer: disease entity or title of convenience?* Nature reviews Clinical oncology, 2010. 7(12): p. 683-692.
106. Giuliano, A.E., S.B. Edge, and G.N. Hortobagyi, *of the AJCC cancer staging manual: breast cancer*. Annals of surgical oncology, 2018. 25: p. 1783-1785.
107. D'Orsi, G.N.H.L.C.J., *Breast*, in *AJCC Cancer Staging Manual*. 2017: Chicago, İlionis. p. 589-636.
108. Memişoğlu, E., et al., *MEME KANSERİNDE TANI VE KLİNİK EVRELEME*. 2020. p. 147-163.
109. Weigel, M.T. and M. Dowsett, *Current and emerging biomarkers in breast cancer: prognosis and prediction*. Endocrine-Related Cancer, 2010. 17(4): p. R245-R262.
110. Wellings, E., L. Vassiliades, and R. Abdalla, *Breast Cancer Screening for High-Risk Patients of Different Ages and Risk - Which Modality Is Most Effective?* Cureus, 2016. 8(12).
111. Ozmen, N., et al., *Comparing Different Ultrasound Imaging Methods for Breast Cancer Detection*. Ieee Transactions on Ultrasonics Ferroelectrics and Frequency Control, 2015. 62(4): p. 637-646.
112. Alcantara, D., et al., *Molecular imaging of breast cancer: present and future directions*. Frontiers in Chemistry, 2014. 2.
113. Mann, R.M., et al., *Breast MRI: guidelines from the European Society of Breast Imaging*. European Radiology, 2008. 18(7): p. 1307-1318.
114. Sardanelli, F., et al., *Magnetic resonance imaging of the breast: Recommendations from the EUSOMA working group*. European Journal of Cancer, 2010. 46(8): p. 1296-1316.
115. Benard, F. and E. Turcotte, *Imaging in breast cancer: Single-photon computed tomography and positron-emission tomography*. Breast Cancer Research, 2005. 7(4): p. 153-162.
116. Duffy, M.J., et al., *Clinical use of biomarkers in breast cancer: Updated guidelines from the European Group on Tumor Markers (EGTM)*. European Journal of Cancer, 2017. 75: p. 284-298.
117. Kurozumi, S., et al., *Recent trends in microRNA research into breast cancer with particular focus on the associations between microRNAs and intrinsic subtypes*. Journal of Human Genetics, 2017. 62(1): p. 15-24.

118. Iqbal, N. and N. Iqbal, *Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) in Cancers: Overexpression and Therapeutic Implications*. Mol Biol Int, 2014. 2014: p. 852748.
119. Scholzen, T. and J. Gerdes, *The Ki-67 protein: From the known and the unknown*. Journal of Cellular Physiology, 2000. 182(3): p. 311-322.
120. Soliman, N.A. and S.M. Yussif, *Ki-67 as a prognostic marker according to breast cancer molecular subtype*. Cancer Biology & Medicine, 2016. 13(4): p. 496-504.
121. Dai, X.F., et al., *Cancer Hallmarks, Biomarkers and Breast Cancer Molecular Subtypes*. Journal of Cancer, 2016. 7(10): p. 1281-1294.
122. Li, Y., et al., *Estrogen Stimulation of Cell Migration Involves Multiple Signaling Pathway Interactions*. Endocrinology, 2010. 151(11): p. 5146-5156.
123. Roy, S.S. and R.K. Vadlamudi, *Role of Estrogen Receptor Signaling in Breast Cancer Metastasis*. International Journal of Breast Cancer, 2012. 2012.
124. Fujita, N., et al., *MTA3, a Mi-2/NuRD complex subunit, regulates an invasive growth pathway in breast cancer*. Cell, 2003. 113(2): p. 207-19.
125. Speirs, V., et al., *Oestrogen receptor beta: what it means for patients with breast cancer*. Lancet Oncology, 2004. 5(3): p. 174-181.
126. Strom, A., et al., *Estrogen receptor beta inhibits 17beta-estradiol-stimulated proliferation of the breast cancer cell line T47D*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004. 101(6): p. 1566-71.
127. Skliris, G.P., et al., *Reduced expression of oestrogen receptor beta in invasive breast cancer and its re-expression using DNA methyl transferase inhibitors in a cell line model*. Journal of Pathology, 2003. 201(2): p. 213-220.
128. Park, I.H., et al., *Identification and clinical implications of circulating microRNAs for estrogen receptor-positive breast cancer*. Tumor Biology, 2014. 35(12): p. 12173-12180.
129. Shimono, Y., et al., *Downregulation of miRNA-200c Links Breast Cancer Stem Cells with Normal Stem Cells*. Cell, 2009. 138(3): p. 592-603.
130. Yu, F.Y., et al., *MicroRNA 34c Gene Down-regulation via DNA Methylation Promotes Self-renewal and Epithelial-Mesenchymal Transition in Breast Tumor-initiating Cells*. Journal of Biological Chemistry, 2012. 287(1): p. 465-473.
131. Zhang, X.N., et al., *Oncogenic Wip1 Phosphatase Is Inhibited by miR-16 in the DNA Damage Signaling Pathway*. Cancer Research, 2010. 70(18): p. 7176-7186.
132. Chang, C.J., et al., *p53 regulates epithelial-mesenchymal transition and stem cell properties through modulating miRNAs*. Nature Cell Biology, 2011. 13(3): p. 317-U296.
133. Bockhorn, J., et al., *MicroRNA-30c targets cytoskeleton genes involved in breast cancer cell invasion*. Breast Cancer Research and Treatment, 2013. 137(2): p. 373-382.
134. Cheng, C.W., et al., *MicroRNA-30a inhibits cell migration and invasion by downregulating vimentin expression and is a potential prognostic marker in breast cancer*. Breast Cancer Research and Treatment, 2012. 134(3): p. 1081-1093.
135. Smith, A.L., et al., *The miR-106b-25 cluster targets Smad7, activates TGF-beta signaling, and induces EMT and tumor initiating cell characteristics downstream of Six1 in human breast cancer*. Oncogene, 2012. 31(50): p. 5162-71.
136. Jia, Y.L., et al., *Exosome: emerging biomarker in breast cancer*. Oncotarget, 2017. 8(25): p. 41717-41733.
137. Borujeni, M.J.S., et al., *Molecular aspects of diabetes mellitus: Resistin, microRNA, and exosome*. Journal of Cellular Biochemistry, 2018. 119(2): p. 1257-1272.

138. Banikazemi, Z., et al., *Diet and cancer prevention: Dietary compounds, dietary MicroRNAs, and dietary exosomes*. Journal of Cellular Biochemistry, 2018. 119(1): p. 185-196.
139. Mirzaei, H., et al., *Diagnostic and Therapeutic Potential of Exosomes in Cancer: The Beginning of a New Tale?* Journal of Cellular Physiology, 2017. 232(12): p. 3251-3260.
140. Sempere, L.F., J. Keto, and M. Fabbri, *Exosomal MicroRNAs in Breast Cancer towards Diagnostic and Therapeutic Applications*. Cancers, 2017. 9(7).
141. Hannafon, B.N., et al., *Plasma exosome microRNAs are indicative of breast cancer*. Breast Cancer Research, 2016. 18.
142. Singh, R., et al., *Exosome-mediated transfer of miR-10b promotes cell invasion in breast cancer*. Mol Cancer, 2014. 13: p. 256.
143. F. Brunicardi, D.A., Timothy Billiar, David Dunn, John Hunter, Jeffrey Matthews, Raphael E. Pollock, *SCHWARTZ'S PRINCIPLES OF SURGERY*. 2019.
144. Beenken, S. and F. Wanger, *History of the therapy of breast cancer in The Breast, KI Bland and EM Copeland III*. Saunders–Elsevier, St. Louis, 2004: p. 3-18.
145. Le Dran, H.-F., *Traité des opérations de chirurgie. The operations in surgery of Mons. Le Dran... Translated by Mr. Gataker... With remarks, plates of the operations, and a sett of instruments, by Mr. Cheselden*. 1757: C. Hitch&L. Hawes; R. Dodsley.
146. Plesca, M., et al., *Evolution of radical mastectomy for breast cancer*. Journal of medicine and life, 2016. 9(2): p. 183.
147. Fisher, B., et al., *Twenty-five-year follow-up of a randomized trial comparing radical mastectomy, total mastectomy, and total mastectomy followed by irradiation*. New England Journal of Medicine, 2002. 347(8): p. 567-575.
148. Keynes, G., *Conservative treatment of cancer of the breast*. British medical journal, 1937. 2(4004): p. 643.
149. Luini, A., et al., *The evolution of the conservative approach to breast cancer*. The Breast, 2007. 16(2): p. 120-129.
150. Veronesi, U., et al., *Twenty-year follow-up of a randomized study comparing breast-conserving surgery with radical mastectomy for early breast cancer*. New England Journal of Medicine, 2002. 347(16): p. 1227-1232.
151. Fisher, B., et al., *Twenty-year follow-up of a randomized trial comparing total mastectomy, lumpectomy, and lumpectomy plus irradiation for the treatment of invasive breast cancer*. New England Journal of Medicine, 2002. 347(16): p. 1233-1241.
152. Veronesi, U., et al., *A randomized comparison of sentinel-node biopsy with routine axillary dissection in breast cancer*. New England Journal of Medicine, 2003. 349(6): p. 546-553.
153. Giuliano, A.E., et al., *Effect of axillary dissection vs no axillary dissection on 10-year overall survival among women with invasive breast cancer and sentinel node metastasis: the ACOSOG Z0011 (Alliance) randomized clinical trial*. Jama, 2017. 318(10): p. 918-926.
154. Margenthaler, J.A. and D.W. Ollila, *Breast Conservation Therapy Versus Mastectomy: Shared Decision-Making Strategies and Overcoming Decisional Conflicts in Your Patients*. Annals of Surgical Oncology, 2016. 23(10): p. 3133-3137.
155. Lucci, A., et al., *Surgical complications associated with sentinel lymph node dissection (SLND) plus axillary lymph node dissection compared with SLND alone in the American College of Surgeons oncology Group trial Z0011*. Journal of Clinical Oncology, 2007. 25(24): p. 3657-3663.

156. Krag, D.N., et al., *Sentinel-lymph-node resection compared with conventional axillary-lymph-node dissection in clinically node-negative patients with breast cancer: overall survival findings from the NSABP B-32 randomised phase 3 trial*. *Lancet Oncology*, 2010. 11(10): p. 927-933.
157. Veronesi, U., et al., *A randomized comparison of sentinel-node biopsy with routine axillary dissection in breast cancer*. *New England Journal of Medicine*, 2003. 349(6): p. 546-553.
158. Giuliano, A.E., et al., *Locoregional Recurrence After Sentinel Lymph Node Dissection With or Without Axillary Dissection in Patients With Sentinel Lymph Node Metastases Long-term Follow-up From the American College of Surgeons Oncology Group (Alliance) ACOSOG Z0011 Randomized Trial*. *Annals of Surgery*, 2016. 264(3): p. 413-420.
159. Group, E.B.C.T.C., *Effects of radiotherapy and of differences in the extent of surgery for early breast cancer on local recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials*. *The Lancet*, 2005. 366(9503): p. 2087-2106.
160. Fisher, B., et al., *Postoperative radiotherapy in the treatment of breast cancer: results of the NSABP clinical trial*. *Annals of Surgery*, 1970. 172(4): p. 711.
161. McGale, P., et al., *Effect of radiotherapy after mastectomy and axillary surgery on 10-year recurrence and 20-year breast cancer mortality: meta-analysis of individual patient data for 8135 women in 22 randomised trials*. *The Lancet*, 2014. 383(9935): p. 2127-35.
162. Jensen, E.V., *From chemical warfare to breast cancer management*. *Nature Medicine*, 2004. 10(10): p. 1018-1021.
163. Ward, H., *Anti-oestrogen therapy for breast cancer: a trial of tamoxifen at two dose levels*. *Br Med J*, 1973. 1(5844): p. 13-14.
164. Fisher, B., et al., *Treatment of lymph-node-negative, oestrogen-receptor-positive breast cancer: long-term findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project randomised clinical trials*. *The Lancet*, 2004. 364(9437): p. 858-868.
165. Group, E.B.C.T.C., *Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials*. *The Lancet*, 2005. 365(9472): p. 1687-1717.
166. Group, B.I.G.-C., *A comparison of letrozole and tamoxifen in postmenopausal women with early breast cancer*. *New England Journal of Medicine*, 2005. 353(26): p. 2747-2757.
167. Gnant, M., et al., *Endocrine therapy plus zoledronic acid in premenopausal breast cancer*. *New England Journal of Medicine*, 2009. 360(7): p. 679-691.
168. Brodie, A. *Aromatase inhibitor development and hormone therapy: a perspective*. in *Seminars in oncology*. 2003. Elsevier.
169. Pan, H., et al., *20-year risks of breast-cancer recurrence after stopping endocrine therapy at 5 years*. *New England Journal of Medicine*, 2017. 377(19): p. 1836-1846.
170. Davies, C., et al., *Long-term effects of continuing adjuvant tamoxifen to 10 years versus stopping at 5 years after diagnosis of oestrogen receptor-positive breast cancer: ATLAS, a randomised trial*. *The Lancet*, 2013. 381(9869): p. 805-816.
171. Health, U.N.I.o., *Triptorelin with either exemestane or tamoxifen in treating premenopausal women with hormone-responsive breast cancer*. 2009.
172. Health, U.N.I.o., *Suppression of ovarian function plus either tamoxifen or exemestane compared with tamoxifen alone in treating premenopausal women with hormone-responsive breast cancer*. 2009.

173. Pagani, O., et al., *Absolute improvements in freedom from distant recurrence to tailor adjuvant endocrine therapies for premenopausal women: results from TEXT and SOFT*. Journal of clinical oncology, 2020. 38(12): p. 1293.
174. Ben-Dror, J., M. Shalamov, and A. Sonnenblick, *The History of Early Breast Cancer Treatment*. Genes, 2022. 13(6).
175. Bradley, R., et al., *Aromatase inhibitors versus tamoxifen in premenopausal women with oestrogen receptor-positive early-stage breast cancer treated with ovarian suppression: a patient-level meta-analysis of 7030 women from four randomised trials*. The Lancet Oncology, 2022. 23(3): p. 382-392.
176. Nurse, P., *Finding CDK: linking yeast with humans*. Nature Cell Biology, 2012. 14(8): p. 776.
177. Finn, R.S., A. Aleshin, and D.J. Slamon, *Targeting the cyclin-dependent kinases (CDK) 4/6 in estrogen receptor-positive breast cancers*. Breast Cancer Research, 2016. 18(1): p. 1-11.
178. Slamon, D.J., et al., *Phase III randomized study of ribociclib and fulvestrant in hormone receptor-positive, human epidermal growth factor receptor 2-negative advanced breast cancer: MONALEESA-3*. Journal of Clinical Oncology, 2018. 36(24): p. 2465-2472.
179. Sonke, G.S., et al., *Ribociclib with letrozole vs letrozole alone in elderly patients with hormone receptor-positive, HER2-negative breast cancer in the randomized MONALEESA-2 trial*. Breast cancer research and treatment, 2018. 167: p. 659-669.
180. Tripathy, D., et al., *Ribociclib plus endocrine therapy for premenopausal women with hormone-receptor-positive, advanced breast cancer (MONALEESA-7): a randomised phase 3 trial*. The Lancet Oncology, 2018. 19(7): p. 904-915.
181. Johnston, S.R., et al., *Abemaciclib combined with endocrine therapy for the adjuvant treatment of HR+, HER2-, node-positive, high-risk, early breast cancer (monarchE)*. Journal of Clinical Oncology, 2020. 38(34): p. 3987.
182. Miller, T.W., J.M. Balko, and C.L. Arteaga, *Phosphatidylinositol 3-kinase and antiestrogen resistance in breast cancer*. Journal of clinical oncology, 2011. 29(33): p. 4452-4461.
183. Bachelot, T., et al., *Randomized phase II trial of everolimus in combination with tamoxifen in patients with hormone receptor-positive, human epidermal growth factor receptor 2-negative metastatic breast cancer with prior exposure to aromatase inhibitors: A GINECO study*. Journal of Clinical Oncology, 2012. 30(22): p. 2718-2724.
184. Kornblum, N., et al., *Randomized phase II trial of fulvestrant plus everolimus or placebo in postmenopausal women with hormone receptor-positive, human epidermal growth factor receptor 2-negative metastatic breast cancer resistant to aromatase inhibitor therapy: results of PrE0102*. Journal of Clinical Oncology, 2018. 36(16): p. 1556.
185. André, F., et al., *Alpelisib for PIK3CA-mutated, hormone receptor-positive advanced breast cancer*. New England Journal of Medicine, 2019. 380(20): p. 1929-1940.
186. Mayer, I.A., et al., *A phase II randomized study of neoadjuvant letrozole plus alpelisib for hormone receptor-positive, human epidermal growth factor receptor 2-negative breast cancer (NEO-ORB)*. Clinical Cancer Research, 2019. 25(10): p. 2975-2987.
187. Group, E.B.C.T.C., *Comparisons between different polychemotherapy regimens for early breast cancer: meta-analyses of long-term outcome among 100 000 women in 123 randomised trials*. The Lancet, 2012. 379(9814): p. 432-444.

188. Jacquillat, C., et al., *Results of neoadjuvant chemotherapy and radiation therapy in the breast-conserving treatment of 250 patients with all stages of infiltrative breast cancer*. Cancer, 1990. 66(1): p. 119-129.
189. Fisher, B., et al., *Effect of preoperative chemotherapy on local-regional disease in women with operable breast cancer: findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18*. Journal of clinical oncology, 1997. 15(7): p. 2483-2493.
190. Van, J., et al., *Preoperative chemotherapy in primary operable breast cancer: results from the European Organization for Research and Treatment of Cancer trial 10902*. Impact of age, tumor characteristics, and treatment on local control and disease outcome in early stage breast cancer, 2001. 33.
191. Hurley, J., et al., *The use of neoadjuvant platinum-based chemotherapy in locally advanced breast cancer that is triple negative: retrospective analysis of 144 patients*. Breast cancer research and treatment, 2013. 138: p. 783-794.
192. Von Minckwitz, G., et al., *Neoadjuvant carboplatin in patients with triple-negative and HER2-positive early breast cancer (GeparSixto; GBG 66): a randomised phase 2 trial*. The lancet oncology, 2014. 15(7): p. 747-756.
193. Blum, J.L., et al., *Multicenter phase II study of capecitabine in paclitaxel-refractory metastatic breast cancer*. Journal of Clinical Oncology, 1999. 17(2): p. 485-485.
194. Li, J., et al., *Adjuvant capecitabine with docetaxel and cyclophosphamide plus epirubicin for triple-negative breast cancer (CBCSG010): an open-label, randomized, multicenter, phase III trial*. Journal of Clinical Oncology, 2020. 38(16): p. 1774.
195. Von Minckwitz, G., et al., *Adjuvant pertuzumab and trastuzumab in early HER2-positive breast cancer*. New England Journal of Medicine, 2017. 377(2): p. 122-131.
196. Lewis Phillips, G.D., et al., *Targeting HER2-positive breast cancer with trastuzumab-DM1, an antibody-cytotoxic drug conjugate*. Cancer research, 2008. 68(22): p. 9280-9290.
197. Von Minckwitz, G., et al., *Trastuzumab emtansine for residual invasive HER2-positive breast cancer*. New England Journal of Medicine, 2019. 380(7): p. 617-628.
198. Tamura, K., et al., *Trastuzumab deruxtecan (DS-8201a) in patients with advanced HER2-positive breast cancer previously treated with trastuzumab emtansine: a dose-expansion, phase 1 study*. The Lancet Oncology, 2019. 20(6): p. 816-826.
199. Bardia, A., et al., *Efficacy and safety of anti-trop-2 antibody drug conjugate sacituzumab govitecan (IMMU-132) in heavily pretreated patients with metastatic triple-negative breast cancer*. Journal of Clinical Oncology, 2017. 35(19): p. 2141.
200. Bardia, A., et al., *Sacituzumab govitecan in metastatic triple-negative breast cancer*. New England Journal of Medicine, 2021. 384(16): p. 1529-1541.
201. Staaf, J., et al., *Whole-genome sequencing of triple-negative breast cancers in a population-based clinical study*. Nature medicine, 2019. 25(10): p. 1526-1533.
202. Health, N.I.o., *Assessment of the Efficacy and Safety of Olaparib Monotherapy Versus Physicians Choice Chemotherapy in the Treatment of Metastatic Breast Cancer Patients With Germline BRCA1/2 Mutations*. OlympiAD) Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02000622> Last accessed June, 2016.
203. Robson, M., et al., *Olaparib for metastatic breast cancer in patients with a germline BRCA mutation*. New England Journal of Medicine, 2017. 377(6): p. 523-533.
204. Litton, J.K., et al., *Talazoparib in patients with advanced breast cancer and a germline BRCA mutation*. New England Journal of Medicine, 2018. 379(8): p. 753-763.
205. Tutt, A.N., et al., *Adjuvant olaparib for patients with BRCA1-or BRCA2-mutated breast cancer*. New England Journal of Medicine, 2021. 384(25): p. 2394-2405.

206. Leitaο, A.L. and F.J. Enguita, *A Structural View of miRNA Biogenesis and Function*. Noncoding RNA, 2022. 8(1).
207. Lee, R.C., R.L. Feinbaum, and V. Ambros, *The C-Elegans Heterochronic Gene Lin-4 Encodes Small Rnas with Antisense Complementarity to Lin-14*. Cell, 1993. 75(5): p. 843-854.
208. Wightman, B., I. Ha, and G. Ruvkun, *Posttranscriptional Regulation of the Heterochronic Gene Lin-14 by Lin-4 Mediates Temporal Pattern-Formation in C-Elegans*. Cell, 1993. 75(5): p. 855-862.
209. Lagos-Quintana, M., et al., *Identification of novel genes coding for small expressed RNAs*. Science, 2001. 294(5543): p. 853-8.
210. Lee, R.C. and V. Ambros, *An extensive class of small RNAs in Caenorhabditis elegans*. Science, 2001. 294(5543): p. 862-4.
211. Lau, N.C., et al., *An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in Caenorhabditis elegans*. Science, 2001. 294(5543): p. 858-862.
212. Javanmardi, S., et al., *miR-21, An Oncogenic Target miRNA for Cancer Therapy: Molecular Mechanisms and Recent Advancements in Chemo and Radio-resistance*. Curr Gene Ther, 2017. 16(6): p. 375-389.
213. Feng, Y. and X. Yu, *Cardinal roles of miRNA in cardiac development and disease*. Sci China Life Sci, 2011. 54(12): p. 1113-20.
214. Lopez-Pastor, A.R., et al., *miRNA Dysregulation in the Development of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and the Related Disorders Type 2 Diabetes Mellitus and Cardiovascular Disease*. Front Med (Lausanne), 2020. 7: p. 527059.
215. Costa, M.C., A.L. Leitaο, and F.J. Enguita, *Biogenesis and mechanism of action of small non-coding RNAs: insights from the point of view of structural biology*. Int J Mol Sci, 2012. 13(8): p. 10268-10295.
216. Zeng, Y. and B.R. Cullen, *Structural requirements for pre-microRNA binding and nuclear export by Exportin 5*. Nucleic Acids Res, 2004. 32(16): p. 4776-85.
217. Lee, Y., et al., *The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing*. Nature, 2003. 425(6956): p. 415-419.
218. Banerjee, J. and C.K. Sen, *MicroRNAs in skin and wound healing*. Methods Mol Biol, 2013. 936: p. 343-56.
219. MacFarlane, L.-A. and P. R. Murphy, *MicroRNA: biogenesis, function and role in cancer*. Current genomics, 2010. 11(7): p. 537-561.
220. Griffiths-Jones, S., et al., *miRBase: tools for microRNA genomics*. Nucleic Acids Res, 2008. 36(Database issue): p. D154-8.
221. Lu, J., et al., *MicroRNA expression profiles classify human cancers*. Nature, 2005. 435(7043): p. 834-838.
222. Iorio, M.V., et al., *MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer*. Cancer Research, 2005. 65(16): p. 7065-7070.
223. Hannafon, B.N. and W.Q. Ding, *miRNAs as Biomarkers for Predicting the Progression of Ductal Carcinoma in Situ*. American Journal of Pathology, 2018. 188(3): p. 542-549.
224. Hannafon, B.N., et al., *Expression of microRNA and their gene targets are dysregulated in preinvasive breast cancer*. Breast Cancer Research, 2011. 13(2).
225. Farazi, T.A., et al., *MicroRNA Sequence and Expression Analysis in Breast Tumors by Deep Sequencing*. Cancer Research, 2011. 71(13): p. 4443-4453.
226. Haakensen, V.D., et al., *Subtype-specific micro-RNA expression signatures in breast cancer progression*. International Journal of Cancer, 2016. 139(5): p. 1117-1128.

227. Hannafon, B.N. and W.Q. Ding, *Functional Role of miRNAs in the Progression of Breast Ductal Carcinoma in Situ*. American Journal of Pathology, 2019. 189(5): p. 966-974.
228. Fu, S.W., et al., *miRNAs as potential biomarkers in early breast cancer detection following mammography*. Cell and Bioscience, 2016. 6.
229. Knezevic, D., et al., *Analytical validation of the Onco type DX prostate cancer assay—a clinical RT-PCR assay optimized for prostate needle biopsies*. BMC genomics, 2013. 14: p. 1-12.
230. Livak, K.J. and T.D. Schmittgen, *Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method*. Methods, 2001. 25(4): p. 402-8.
231. Esquela-Kerscher, A. and F.J. Slack, *Oncomirs - microRNAs with a role in cancer*. Nat Rev Cancer, 2006. 6(4): p. 259-69.
232. Kasinski, A.L. and F.J. Slack, *Epigenetics and genetics. MicroRNAs en route to the clinic: progress in validating and targeting microRNAs for cancer therapy*. Nat Rev Cancer, 2011. 11(12): p. 849-64.
233. Volinia, S., et al., *Breast cancer signatures for invasiveness and prognosis defined by deep sequencing of microRNA*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2012. 109(8): p. 3024-3029.
234. Chen, L., et al., *Role of Deregulated microRNAs in Breast Cancer Progression Using FFPE Tissue*. Plos One, 2013. 8(1).
235. Shi, Y., P. Ye, and X. Long, *Differential expression profiles of the transcriptome in breast cancer cell lines revealed by next generation sequencing*. Cellular Physiology and Biochemistry, 2017. 44(2): p. 804-816.
236. Zhao, J., Y. Zhang, and G. Zhao, *Emerging role of microRNA-21 in colorectal cancer*. Cancer Biomark, 2015. 15(3): p. 219-26.
237. Pan, F., et al., *Prognostic and clinicopathological significance of microRNA-21 overexpression in breast cancer: a meta-analysis*. Int J Clin Exp Pathol, 2014. 7(9): p. 5622-33.
238. Volinia, S., et al., *A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006. 103(7): p. 2257-61.
239. Song, B., et al., *MicroRNA-21 regulates breast cancer invasion partly by targeting tissue inhibitor of metalloproteinase 3 expression*. Journal of experimental & clinical cancer research, 2010. 29(1): p. 1-8.
240. Yang, Y., et al., *Identification of miR-21 targets in breast cancer cells using a quantitative proteomic approach*. Proteomics, 2009. 9(5): p. 1374-1384.
241. Lu, Z., et al., *MicroRNA-21 promotes cell transformation by targeting the programmed cell death 4 gene*. Oncogene, 2008. 27(31): p. 4373-9.
242. Asangani, I.A., et al., *MicroRNA-21 (miR-21) post-transcriptionally downregulates tumor suppressor Pdc4 and stimulates invasion, intravasation and metastasis in colorectal cancer*. Oncogene, 2008. 27(15): p. 2128-36.
243. Zhu, S., et al., *MicroRNA-21 targets the tumor suppressor gene tropomyosin 1 (TPM1)*. J Biol Chem, 2007. 282(19): p. 14328-36.
244. Si, M., et al., *miR-21-mediated tumor growth*. Oncogene, 2007. 26(19): p. 2799-2803.
245. Meng, F., et al., *MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer*. Gastroenterology, 2007. 133(2): p. 647-58.
246. Qi, L., et al., *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, 2009. 9: p. 163.

247. El-Toukhy, S.E., et al., *The diagnostic significance of circulating miRNAs and metabolite profiling in early prediction of breast cancer in Egyptian women*. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology, 2022.
248. NERMINE, H.M., et al., *Circulating microRNA-21 as a promising marker for early detection of breast cancer and disease progression in Egyptian females*. The Medical Journal of Cairo University, 2019. 87(June): p. 2491-2500.
249. Swellam, M., et al., *Potential diagnostic role of circulating MiRNAs in breast cancer: implications on clinicopathological characters*. Clinical Biochemistry, 2018. 56: p. 47-54.
250. Motawi, T.M.K., et al., *Study of microRNAs-21/221 as potential breast cancer biomarkers in Egyptian women*. Gene, 2016. 590(2): p. 210-219.
251. Toraih, E.A., et al., *Pilot study of serum microRNA-21 as a diagnostic and prognostic biomarker in Egyptian breast cancer patients*. Molecular diagnosis & therapy, 2015. 19: p. 179-190.
252. Amirfallah, A., et al., *Hsa-miR-21-3p associates with breast cancer patient survival and targets genes in tumor suppressive pathways*. PloS one, 2021. 16(11): p. e0260327.
253. Wu, X., *Expressions of miR-21 and miR-210 in Breast Cancer and Their Predictive Values for Prognosis*. Iran J Public Health, 2020. 49(1): p. 21-29.
254. Soleimanpour, E., et al., *Circulating miR-21 and miR-155 as potential noninvasive biomarkers in Iranian Azeri patients with breast carcinoma*. Journal of Cancer Research and Therapeutics, 2019. 15(5): p. 1092-1097.
255. Yanwirasti, W.A.H., *TTT 2017. Evaluation of mir-21 and mir-10b expression of human breast cancer in West Sumatera*. Pak. J. Biol. Sci, 2017. 20: p. 189-196.
256. Zhang, C., et al., *miR-21: A gene of dual regulation in breast cancer*. International journal of oncology, 2016. 48(1): p. 161-172.
257. Wang, G., et al., *Quantitative measurement of serum microRNA-21 expression in relation to breast cancer metastasis in Chinese females*. Annals of laboratory medicine, 2015. 35(2): p. 226.
258. Chen, C., et al., *Clinical Significance of let-7a-5p and miR-21-5p in Patients with Breast Cancer*. Ann Clin Lab Sci, 2019. 49(3): p. 302-308.
259. Özgün, A., et al., *MicroRNA-21 as an indicator of aggressive phenotype in breast cancer*. Oncology Research and Treatment, 2013. 36(3): p. 115-118.
260. Han, M., et al., *Re-expression of miR-21 contributes to migration and invasion by inducing epithelial-mesenchymal transition consistent with cancer stem cell characteristics in MCF-7 cells*. Molecular and cellular biochemistry, 2012. 363: p. 427-436.
261. Tao, L., Y.Q. Wu, and S.P. Zhang, *MiR-21-5p enhances the progression and paclitaxel resistance in drug-resistant breast cancer cell lines by targeting PDCD4*. Neoplasma, 2019. 66(5): p. 746-755.
262. Tsuchiya, S., et al., *MicroRNA-210 regulates cancer cell proliferation through targeting fibroblast growth factor receptor-like 1 (FGFRL1)*. Journal of Biological Chemistry, 2011. 286(1): p. 420-428.
263. Tang, Y., et al., *High expression levels of miR-21 and miR-210 predict unfavorable survival in breast cancer: a systemic review and meta-analysis*. Int J Biol Markers, 2015. 30(4): p. e347-58.
264. Hong, L., et al., *High expression of miR-210 predicts poor survival in patients with breast cancer: a meta-analysis*. Gene, 2012. 507(2): p. 135-8.

265. Rothe, F., et al., *Global microRNA expression profiling identifies MiR-210 associated with tumor proliferation, invasion and poor clinical outcome in breast cancer*. PLoS One, 2011. 6(6): p. e20980.
266. Bar, I., et al., *MiR-210 Is Overexpressed in Tumor-infiltrating Plasma Cells in Triple-negative Breast Cancer*. J Histochem Cytochem, 2020. 68(1): p. 25-32.
267. Pasculli, B., et al., *Hsa-miR-210-3p expression in breast cancer and its putative association with worse outcome in patients treated with Docetaxel*. Sci Rep, 2019. 9(1): p. 14913.
268. Yang, Y.F., et al., *[MiR--210 promotes 5--fluorouracil resistance in breast cancer cells by increasing the antioxidant activity mediated by GPX1]*. Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi, 2018. 47(9): p. 721-722.
269. Xing, Z., et al., *Effect of MiR-210 on the Chemosensitivity of Breast Cancer by Regulating JAK-STAT Signaling Pathway*. Biomed Res Int, 2021. 2021: p. 7703159.
270. Chen, X., et al., *The role of miRNAs in drug resistance and prognosis of breast cancer formalin-fixed paraffin-embedded tissues*. Gene, 2016. 595(2): p. 221-226.
271. Jung, E.J., et al., *Plasma microRNA 210 levels correlate with sensitivity to trastuzumab and tumor presence in breast cancer patients*. Cancer, 2012. 118(10): p. 2603-2614.
272. Qattan, A., et al., *Clinical identification of dysregulated circulating microRNAs and their implication in drug response in triple negative breast cancer (TNBC) by target gene network and meta-analysis*. Genes, 2021. 12(4): p. 549.
273. Camps, C., et al., *hsa-miR-210 Is induced by hypoxia and is an independent prognostic factor in breast cancer*. Clin Cancer Res, 2008. 14(5): p. 1340-8.
274. Zhang, Y., et al., *HIF-1alpha Promotes Breast Cancer Cell MCF-7 Proliferation and Invasion Through Regulating miR-210*. Cancer Biother Radiopharm, 2017. 32(8): p. 297-301.
275. Ivan, M. and X. Huang, *miR-210: fine-tuning the hypoxic response*. Tumor Microenvironment and Cellular Stress: Signaling, Metabolism, Imaging, and Therapeutic Targets, 2014: p. 205-227.
276. Gee, H.E., et al., *HypoxamiRs and cancer: from biology to targeted therapy*. Antioxidants & redox signaling, 2014. 21(8): p. 1220-1238.
277. Huang, X. and J. Zuo, *Emerging roles of miR-210 and other non-coding RNAs in the hypoxic response*. Acta Biochim Biophys Sin, 2014. 46(3): p. 220-232.
278. Bar, I., et al., *The MicroRNA miR-210 is expressed by cancer cells but also by the tumor microenvironment in triple-negative breast cancer*. Journal of Histochemistry & Cytochemistry, 2017. 65(6): p. 335-346.
279. Dang, K. and K.A. Myers, *The role of hypoxia-induced miR-210 in cancer progression*. International journal of molecular sciences, 2015. 16(3): p. 6353-6372.
280. Shidfar, A., et al., *Expression of miR-18a and miR-210 in Normal Breast Tissue as Candidate Biomarkers of Breast Cancer Risk*. Cancer Prev Res (Phila), 2017. 10(1): p. 89-97.
281. Qin, H. and W. Liu, *MicroRNA-99a-5p suppresses breast cancer progression and cell-cycle pathway through downregulating CDC25A*. Journal of cellular physiology, 2019. 234(4): p. 3526-3537.
282. Wang, X., et al., *MicroRNA-99a inhibits tumor aggressive phenotypes through regulating HOXA1 in breast cancer cells*. Oncotarget, 2015. 6(32): p. 32737.
283. Hu, Y., Q. Zhu, and L. Tang, *MiR-99a antitumor activity in human breast cancer cells through targeting of mTOR expression*. PloS one, 2014. 9(3): p. e92099.
284. Long, X., et al., *MicroRNA-99a suppresses breast cancer progression by targeting FGFR3*. Frontiers in oncology, 2020. 9: p. 1473.

285. Xia, M., et al., *MiR-99a suppress proliferation, migration and invasion through regulating insulin-like growth factor 1 receptor in breast cancer*. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2016. 20(9): p. 1755-1763.
286. Yang, Z., et al., *miR-99a directly targets the mTOR signalling pathway in breast cancer side population cells*. Cell proliferation, 2014. 47(6): p. 587-595.
287. Shinden, Y., et al., *Molecular pathogenesis of breast cancer: impact of miR-99a-5p and miR-99a-3p regulation on oncogenic genes*. J Hum Genet, 2021. 66(5): p. 519-534.
288. Sun, E., et al., *Screening miRNAs related to different subtypes of breast cancer with miRNAs microarray*. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2014. 18(19): p. 2783-8.
289. Garrido-Cano, I., et al., *Circulating miR-99a-5p Expression in Plasma: A Potential Biomarker for Early Diagnosis of Breast Cancer*. Int J Mol Sci, 2020. 21(19).
290. Turcatel, G., et al., *MIR-99a and MIR-99b Modulate TGF-beta Induced Epithelial to Mesenchymal Plasticity in Normal Murine Mammary Gland Cells*. Plos One, 2012. 7(1).
291. Oshi, M., et al., *High miR-99b expression is associated with cell proliferation and worse patient outcomes in breast cancer*. Am J Cancer Res, 2022. 12(10): p. 4840-4852.
292. Kong, X., et al., *MiR-130a-3p inhibits migration and invasion by regulating RAB5B in human breast cancer stem cell-like cells*. Biochem Biophys Res Commun, 2018. 501(2): p. 486-493.
293. Zhang, H.-d., et al., *The role of miR-130a in cancer*. Breast cancer, 2017. 24: p. 521-527.
294. Xu, S., et al., *MicroRNA (miRNA) transcriptome of mouse retina and identification of a sensory organ-specific miRNA cluster*. Journal of Biological Chemistry, 2007. 282(34): p. 25053-25066.
295. Soheilifar, M.H., et al., *Concomitant overexpression of mir-182-5p and mir-182-3p raises the possibility of IL-17-producing Treg formation in breast cancer by targeting CD3d, ITK, FOXO1, and NFATs: A meta-analysis and experimental study*. Cancer Sci, 2021. 112(2): p. 589-603.
296. Chiang, C.H., M.F. Hou, and W.C. Hung, *Up-regulation of miR-182 by beta-catenin in breast cancer increases tumorigenicity and invasiveness by targeting the matrix metalloproteinase inhibitor RECK*. Biochim Biophys Acta, 2013. 1830(4): p. 3067-76.
297. Krishnan, K., et al., *MicroRNA-182-5p targets a network of genes involved in DNA repair*. Rna, 2013. 19(2): p. 230-242.
298. Moskwa, P., et al., *miR-182-mediated downregulation of BRCA1 impacts DNA repair and sensitivity to PARP inhibitors*. Molecular cell, 2011. 41(2): p. 210-220.
299. Guttilla, I.K. and B.A. White, *Coordinate regulation of FOXO1 by miR-27a, miR-96, and miR-182 in breast cancer cells*. Journal of Biological Chemistry, 2009. 284(35): p. 23204-23216.
300. Wang, P.Y., et al., *Higher expression of circulating miR-182 as a novel biomarker for breast cancer*. Oncol Lett, 2013. 6(6): p. 1681-1686.
301. Barsoum, F.S., et al., *MALAT-1: LncRNA ruling miR-182/PIG-C/mesothelin triad in triple negative breast cancer*. Pathology-Research and Practice, 2020. 216(12): p. 153274.
302. Chiang, C.H., et al., *MiR-182 promotes proliferation and invasion and elevates the HIF-1alpha-VEGF-A axis in breast cancer cells by targeting FBXW7*. Am J Cancer Res, 2016. 6(8): p. 1785-98.
303. McDermott, A.M., et al., *Identification and validation of oncologic miRNA biomarkers for luminal A-like breast cancer*. PloS one, 2014. 9(1): p. e87032.

304. Munagala, R., et al., *MicroRNA 'signature' during estrogen-mediated mammary carcinogenesis and its reversal by ellagic acid intervention*. Cancer letters, 2013. 339(2): p. 175-184.
305. Murugesan, M. and K. Premkumar, *Integrative miRNA-mRNA functional analysis identifies miR-182 as a potential prognostic biomarker in breast cancer*. Mol Omics, 2021. 17(4): p. 533-543.
306. Macedo, T., et al., *Overexpression of mir-183 and mir-494 promotes proliferation and migration in human breast cancer cell lines*. Oncol Lett, 2017. 14(1): p. 1054-1060.
307. Wang, J., et al., *Epigenetic analysis of FHL1 tumor suppressor gene in human liver cancer*. Oncology Letters, 2017. 14(5): p. 6109-6116.
308. Li, Y., et al., *MiR-183-5p Promotes Proliferation, Metastasis and Angiogenesis in Breast Cancer Cells through Negatively Regulating Four and a Half LIM Protein 1*. J Breast Cancer, 2020. 23(4): p. 355-372.
309. Wu, C., et al., *miR-183-5p Aggravates Breast Cancer Development via Mediation of RGS2*. Comput Math Methods Med, 2021. 2021: p. 9664195.
310. Kuo, W.T., et al., *MicroRNA-324 in Human Cancer: miR-324-5p and miR-324-3p Have Distinct Biological Functions in Human Cancer*. Anticancer Research, 2016. 36(10): p. 5189-5196.
311. Lou, W.Y., et al., *Overexpression of GPX3, a potential biomarker for diagnosis and prognosis of breast cancer, inhibits progression of breast cancer cells in vitro*. Cancer Cell International, 2020. 20(1).
312. Hong, H.C., et al., *A panel of eight microRNAs is a good predictive parameter for triple-negative breast cancer relapse*. Theranostics, 2020. 10(19): p. 8771-8789.
313. Turashvili, G., et al., *Novel prognostic and predictive microRNA targets for triple-negative breast cancer*. Faseb Journal, 2018. 32(11): p. 5937-5954.
314. Tekirdag, K.A., et al., *MIR376 family and cancer*. Histology and Histopathology, 2016. 31(8): p. 841-855.
315. Cuk, K., et al., *Plasma MicroRNA Panel for Minimally Invasive Detection of Breast Cancer*. Plos One, 2013. 8(10).
316. Zhang, L., et al., *miR-376a inhibits breast cancer cell progression by targeting neuropilin-1 NR*. Onco Targets Ther, 2018. 11: p. 5293-5302.
317. Yao, H., et al., *MiR-382 functions as tumor suppressor and chemosensitizer in colorectal cancer*. Bioscience reports, 2019. 39(8).
318. Zhang, S., et al., *MiR-382 targets GOLM1 to inhibit metastasis of hepatocellular carcinoma and its down-regulation predicts a poor survival*. American journal of cancer research, 2018. 8(1): p. 120.
319. Zhou, H., et al., *miR-382 inhibits breast cancer progression and metastasis by affecting the M2 polarization of tumor-associated macrophages by targeting PGC-1alpha*. Int J Oncol, 2022. 61(4).
320. Lei, J., et al., *miR-382-3p suppressed IL-1 β induced inflammatory response of chondrocytes via the TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway by directly targeting CX43*. Journal of cellular physiology, 2019. 234(12): p. 23160-23168.
321. Huang, J., et al., *Cellular microRNAs contribute to HIV-1 latency in resting primary CD4+ T lymphocytes*. Nature medicine, 2007. 13(10): p. 1241-1247.
322. Wang, X., et al., *Upregulation of miR-382 contributes to renal fibrosis secondary to aristolochic acid-induced kidney injury via PTEN signaling pathway*. Cell death & disease, 2020. 11(8): p. 620.
323. Li, S., et al., *MicroRNA-132 is frequently down-regulated in ductal carcinoma in situ (DCIS) of breast and acts as a tumor suppressor by inhibiting cell proliferation*. Pathology-Research and Practice, 2013. 209(3): p. 179-183.

324. Huo, D.Z., et al., *Identification of a circulating MicroRNA signature to distinguish recurrence in breast cancer patients*. *Oncotarget*, 2016. 7(34): p. 55231-55248.
325. Tao, Z. and J. Wu, *Lower expression of Mir-382 is associated with the development, progression and metastasis of breast cancer in the Chinese population*. *Int J Clin Exp Pathol*, 2016. 9(6): p. 5912-5920.
326. Gonzalez-Villasana, V., et al., *Presence of circulating miR-145, miR-155, and miR-382 in exosomes isolated from serum of breast cancer patients and healthy donors*. *Disease markers*, 2019. 2019.
327. Zhang, X.L., et al., *The MicroRNA-382-5p/MXD1 Axis Relates to Breast Cancer Progression and Promotes Cell Malignant Phenotypes*. *Journal of Surgical Research*, 2020. 246: p. 442-449.
328. Li, S., et al., *MicroRNA-132 is frequently down-regulated in ductal carcinoma in situ (DCIS) of breast and acts as a tumor suppressor by inhibiting cell proliferation*. *Pathology Research and Practice*, 2013. 209(3): p. 179-183.
329. Zhang, Y.F., et al., *miR-410-3p suppresses breast cancer progression by targeting Snail*. *Oncol Rep*, 2016. 36(1): p. 480-6.
330. Liu, X., et al., *LncRNA NEAT1 accelerates breast cancer progression through regulating miR-410-3p/ CCND1 axis*. *Cancer Biomark*, 2020. 29(2): p. 277-290.
331. Liu, X., et al., *The ncRNA-Mediated Overexpression of Ferroptosis-Related Gene EMC2 Correlates With Poor Prognosis and Tumor Immune Infiltration in Breast Cancer*. *Frontiers in Oncology*, 2021. 11.