



**T.C.  
GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA  
TEZİ**

**MEME KANSERİNDE RET POLİMORFİZMİ  
VE RET İLİŞKİLİ PARAMETRELERİN  
SERUM DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**TUBA TAŞKAN**

**BİYOKİMYA (ECZ) ANABİLİM DALI**

**KASIM 2021**



**MEME KANSERİNDE RET POLİMORFİZMİ VE RET İLİŞKİLİ  
PARAMETRELERİN SERUM DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Tuba TAŞKAN**

**DOKTORA TEZİ  
BİYOKİMYA (ECZ) ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KASIM 2021**

## **ETİK BEYAN**

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Tuba TAŞKAN

...../...../.....

MEME KANSERİNDE RET POLİMORFİZMİ VE RET İLİŞKİLİ PARAMETRELERİN  
SERUM DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ  
(Doktora Tezi)

Tuba TAŞKAN

BİYOKİMYA (ECZ) ANABİLİM DALI  
GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
Kasım 2021

ÖZET

Kadınlarda en sık görülen kanser türü olan meme kanserinde patolojinin altında yatan genetik etkenlerin aydınlatılması ve uygun tedavinin seçimi büyük önem taşımaktadır. RET, çeşitli dokuların normal gelişimi ve olgunlaşması için gerekli olan reseptör tirozin kinaz ailesinin bir üyesidir. RET sinyali tümörü çevreleyen stroma ve hücrel kompozisyonu değiştiren tümör mikroçevresindeki değişiklikleri teşvik etmektedir. RET ve NRTN'in gen polimorfizmleri kanser patojenezinin, riskinin, invazyon ve metastazının araştırılmasında çalışmaların odak konularından biridir. Birçok etnik köken ve popülasyonda çeşitli kanserlerde RET ve NRTN polimorfizmleri araştırılmış olmakla birlikte meme kanseri konusunda literatürde yeterli çalışma bulunmamaktadır. Bu tez kapsamında RET geni G691S (rs1799939), L769L (rs1800861) ve S904S (rs1800863) ile Neuturin geni IVSI-663 (rs1379868) polimorfizmleri ile meme kanseri arasındaki olası riskin incelenmesi ve RET ilişkili serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeylerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada 110 meme kanserli hasta ve 110 sağlıklı kontrol yer almıştır. RET geni G691S, L769L ve S904S ve NRTN geni IVSI-663 polimorfizmleri PZR-RFLP yöntemiyle tespit edilerek alel frekansları ve genotip dağılımları belirlenmiştir. Serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeyleri ticari kitler kullanılarak ELISA yöntemiyle ölçülmüştür. NRTN geni IVSI-663 bölgesi polimorfizminde G alelinin meme kanseri riskini 1,54 kat arttığı ve AA genotipinde meme kanseri riskinin 0,43 kat azaldığı tespit edilmiştir (sırasıyla,  $p<0,05$ ,  $p<0,05$ ). RET geni G691S, L769L ve S904S alel frekansları ve genotip dağılımları açısından hasta ve kontrol grupları benzer bir profil göstermiştir ( $p>0,05$ ). Hasta grubunda serum NRTN, BDNF ve FAK düzeylerinde artış ve MMP-2 düzeylerinde azalma bulunmuştur ( $p<0,05$ ). RET ligandı olan NRTN geni IVSI-663 polimorfizminde G aleli ile artan meme kanseri riskinin, aynı zamanda artan serum NRTN, BDNF ve FAK düzeylerinin bulunması teşhis, prognoz ve yeni tedavi stratejilerinin belirlenmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Bilim Kodu : 10103.11  
Anahtar Kelimeler : RET, Neurturin, Meme Kanseri, Polimorfizm, BDNF, FAK, MMP-2  
Sayfa Adedi : 150  
Danışman : Prof. Dr. Aymelek GÖNENÇ

# EVALUATION OF RET POLYMORPHISM AND SERUM LEVELS OF RET RELATED PARAMETERS IN BREAST CANCER

(Ph. D. Thesis)

Tuba TAŞKAN

GAZİ UNIVERSITY  
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

November 2021

## ABSTRACT

The most common type of cancer in women is breast cancer elucidating the genetic factors underlying the pathology and choosing the treatment method are of great importance. RET is a member of the receptor tyrosine kinase family that is essential for the normal development and maturation of various tissues. RET signaling promotes changes in the tumor microenvironment that alter the stroma and cellular composition surrounding the tumor. Gene polymorphisms of RET and NRTN are one of the focus of studies in the investigation of cancer pathogenesis, risk, invasion and metastasis. Although RET and NRTN polymorphisms have been investigated in various cancers in many ethnicities and populations, there are not enough studies in breast cancer. In this thesis, it was aimed to examine the possible risk between RET gene G691S (rs1799939), L769L (rs1800861), S904S (rs1800863), Neurturin gene IVSI-663 (rs1379868) polymorphisms and breast cancer, and to evaluate RET-related serum NRTN, BDNF, MMP-2 and FAK levels. The study consists of 110 breast cancer patients and 110 healthy controls. RET gene G691S, L769L, S904S and NRTN gene IVSI-663 polymorphisms were detected by PCR-RFLP method. Allele frequencies and genotype distributions of this polymorphisms were determined. Serum NRTN, BDNF, MMP-2 and FAK levels were measured by ELISA method using commercial kits. NRTN gene IVSI-663 polymorphism in G allele has been found to be 1.54 fold increased the risk of breast cancer, however AA genotype has been found 0,43 fold decreased the risk of breast cancer (respectively,  $p<0.05$ ,  $p<0.05$ ). The patient and control groups showed a similar profile for RET gene G691S, L769L and S904S allele frequencies and genotype distributions ( $p>0,05$ ). In the patient group, increase in serum NRTN, BDNF and FAK levels and decrease in MMP-2 levels were found ( $p<0,05$ ). It is thought that increased breast cancer risk with the G allele in NRTN gene, which is a RET ligand, IVSI-663 polymorphism, as well as the increased serum NRTN, BDNF and FAK levels, will contribute to the diagnosis, prognosis and determination of new treatment strategies.

Science Code : 10103.11

Key Words : RET, Neurturin, Breast Cancer, Polymorphism, BDNF, FAK, MMP-2

Page Number : 150

Supervisor : Prof. Dr. Aymelek GÖNENÇ

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince üzerimde büyük emekleri olan, beni akademik gelişimimde her daim destekleyen, çalışmalarım boyunca değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren, kıymetli tecrübelerinden faydalandığım, ufkumun gelişmesini sağlayan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Aymelek GÖNENÇ'e,

Tez İzleme Komitesi üyeleri olan ve tezimin her aşamasında bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Prof. Dr. Meral TORUN, Prof. Dr. Yeşim ÖZKAN ve Prof. Dr. Ela KADIOĞLU hocalarıma,

Örneklerin toplanmasındaki katkılarından dolayı Gazi Üniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Osman KURUKAHVECİOĞLU'na, Uzm. Dr. Farshad NOORİ'ye ve anabilim dalı asistanlarına,

Örneklerin toplanmasındaki katkılarından dolayı Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Polikliniği doktoru Uzm. Dr. Niyazi KARAMAN ve poliklinik hemşirelerine,

Tez konumu seçerken toplum için bilim anlayışıyla şekillen bu yolda, gönüllüsü olarak çalışmış olduğum METAMAZON Derneği başkanı Canan PERDAHLI'ya hayatımda oluşturduğu farkındalık için,

Bu uzun soluklu yolculukta her zaman yanımda olan, destekleyen arkadaşlarıma,

Beni yetiştiren, her şart ve durumda destekleyen, hiçbir emeğin boşa gitmediğini öğreten, her yorulduğumda destekleyip kol kanat geren, doktora eğitimimle beraber hayalim olan ikinci lisans eğitimimi almamı sağlayan ve beni sevgisiyle sarıp sarmalayan başta canım annem olmak üzere, babam ve kardeşlerime sonsuz teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

|                                                            | Sayfa |
|------------------------------------------------------------|-------|
| ÖZET .....                                                 | iv    |
| ABSTRACT .....                                             | v     |
| TEŞEKKÜR .....                                             | vi    |
| İÇİNDEKİLER .....                                          | vii   |
| ÇİZELGELERİN LİSTESİ .....                                 | x     |
| ŞEKİLLERİN LİSTESİ .....                                   | xiv   |
| RESİMLERİN LİSTESİ .....                                   | xvi   |
| SİMGELER VE KISALTMALAR .....                              | xvii  |
| 1. GİRİŞ .....                                             | 1     |
| 2. GENEL BİLGİLER .....                                    | 5     |
| 2.1. Meme Anatomisi .....                                  | 5     |
| 2.2. Meme Kanseri .....                                    | 6     |
| 2.2.1. Meme kanseri sınıflandırılması .....                | 8     |
| 2.2.2. Meme kanseri risk faktörleri .....                  | 20    |
| 2.3. Reseptör Tirozin Kinazlar .....                       | 27    |
| 2.4. RET .....                                             | 29    |
| 2.4.1. Meme kanserinde RET .....                           | 32    |
| 2.4.2. Kanserde RET'in tek nükleotid polimorfizmleri ..... | 34    |
| 2.5. Nörotrofik Faktörler .....                            | 36    |
| 2.5.1. Klasik nörotrofinler .....                          | 36    |
| 2.5.2. GDNF ligandları .....                               | 39    |
| 2.5.3. Nöroprotektif sitokinler .....                      | 40    |
| 2.6. Matriks Metaloproteinazlar (MMP'ler) .....            | 41    |
| 2.6.1. Matriks metaloproteinaz-2 (MMP-2) .....             | 42    |
| 2.7. Fokal Adezyon Kinaz (FAK) .....                       | 43    |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM .....                                   | 45    |
| 3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler .....                     | 45    |
| 3.2. Kullanılan Kimyasallar .....                          | 45    |
| 3.3. Kullanılan Ticari Kitler .....                        | 46    |
| 3.4. Etik Onay ve Çalışma Grubu .....                      | 46    |

|                                                                                      | <b>Sayfa</b> |
|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| 3.4.1. Çalışma grubunun işleme ve dışlama kriterleri .....                           | 46           |
| 3.5. Kan Numunelerinin Toplanması .....                                              | 47           |
| 3.6. Meme Kanserinde Prognostik Faktörlerin Sınıflandırılması .....                  | 47           |
| 3.7. Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu .....                                          | 48           |
| 3.7.1. DNA derişiminin ölçümü .....                                                  | 49           |
| 3.8. PZR-RFUP ile Dizi Analizi .....                                                 | 50           |
| 3.8.1. Agaroj jel hazırlanışı, örneklerin jelde yürütölmesi ve<br>görüntölleme ..... | 51           |
| 3.8.2. PZR ürünlerine kesim enzimi uygulanması .....                                 | 54           |
| 3.9. Sekanslama ile Dizi Analizi .....                                               | 55           |
| 3.10. ELISA Ölçümleri .....                                                          | 56           |
| 3.10.1. Serum BDNF ölçümü .....                                                      | 56           |
| 3.10.2. Serum NRTN ölçümü .....                                                      | 58           |
| 3.10.3. Serum MMP-2 ölçümü .....                                                     | 60           |
| 3.10.4. Serum FAK ölçümü .....                                                       | 63           |
| 3.11. İstatistiksel Analiz .....                                                     | 65           |
| 4. BULGULAR .....                                                                    | 67           |
| 4.1. Polimorfizmler .....                                                            | 69           |
| 4.1.1. RET G691S polimorfizmi (rs1799939) .....                                      | 69           |
| 4.1.2. RET L769L polimorfizmi (rs1800861) .....                                      | 70           |
| 4.1.3. RET S904S polimorfizmi (rs1800863) .....                                      | 71           |
| 4.1.4. Neurturin IVSI-663 polimorfizmi (rs1379868) .....                             | 73           |
| 4.2. Serum Düzeyleri .....                                                           | 77           |
| 4.2.1. BDNF .....                                                                    | 77           |
| 4.2.2. NRTN .....                                                                    | 78           |
| 4.2.3. MMP-2 .....                                                                   | 79           |
| 4.2.4. FAK .....                                                                     | 79           |
| 5. TARTIŞMA .....                                                                    | 99           |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....                                                           | 115          |
| KAYNAKLAR .....                                                                      | 119          |
| EKLER .....                                                                          | 143          |
| EK-1. Etik Kurul Onayı .....                                                         | 144          |

|                           | <b>Sayfa</b> |
|---------------------------|--------------|
| EK-2. Çalışma Onayı ..... | 146          |
| EK-3. Anket.....          | 147          |
| ÖZGEÇMİŞ .....            | 148          |

## ÇİZELGELERİN LİSTESİ

| Çizelge                                                                                                              | Sayfa |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Çizelge 2.1. AJCC Primer tümörün (T) -klinik (cT) ve patolojik (pT) olarak tanımlanması .....                        | 9     |
| Çizelge 2.2. AJCC Bölgesel lenf nodlarının- klinik (cN) ve patolojik (pN) olarak tanımlanması .....                  | 10    |
| Çizelge 2.3. Uzak metastaz kategorileri—klinik ve patolojik.....                                                     | 11    |
| Çizelge 2.4. Meme kanseri moleküler alt tipleri .....                                                                | 14    |
| Çizelge 2.5. Meme kanseri histolojik sınıflandırması .....                                                           | 15    |
| Çizelge 2.6. Meme kanserinde risk faktörleri.....                                                                    | 21    |
| Çizelge 2.7. Nörotrofik faktörlerin sınıflandırılması .....                                                          | 36    |
| Çizelge 3.1. Çalışılan her bir SNP için gen bölgesi adları ve kullanılan primer dizileri .....                       | 50    |
| Çizelge 3.2. PZR reaksiyon protokolü .....                                                                           | 50    |
| Çizelge 3.3. Her bir SNP için PZR ürün uzunluğu ve Tm sıcaklıkları .....                                             | 51    |
| Çizelge 3.4. RET G691S, L769L ve S904S SNP'leri için uygulanan kesim enzimleri ve kesim sonrası bant bilgileri ..... | 55    |
| Çizelge 3.5. BDNF standart konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerleri.....                               | 57    |
| Çizelge 3.6. Serum BDNF değerleri gün içi tekrarlanabilirlik .....                                                   | 58    |
| Çizelge 3.7. Serum BDNF değerleri günler arası tekrarlanabilirlik.....                                               | 58    |
| Çizelge 3.8. Neurturin standart konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerleri.....                          | 59    |
| Çizelge 3.9. Serum Neurturin değerleri gün içi tekrarlanabilirlik .....                                              | 60    |
| Çizelge 3.10. Serum Neurturin değerleri günler arası tekrarlanabilirlik.....                                         | 60    |
| Çizelge 3.11. MMP-2 standart konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerleri.....                             | 61    |
| Çizelge 3.12. Serum MMP-2 değerleri gün içi tekrarlanabilirlik .....                                                 | 62    |
| Çizelge 3.13. Serum MMP-2 değerleri günler arası tekrarlanabilirlik.....                                             | 62    |
| Çizelge 3.14. FAK standart konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerleri .....                              | 64    |
| Çizelge 3.15. Serum FAK değerleri gün içi tekrarlanabilirlik .....                                                   | 64    |

| <b>Çizelge</b> |                                                                                                                  | <b>Sayfa</b> |
|----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Çizelge 3.16.  | Serum FAK değerleri günler arası tekrarlanabilirlik .....                                                        | 65           |
| Çizelge 4.1.   | Hasta ve kontrol grubunun karakteristik özellikleri.....                                                         | 67           |
| Çizelge 4.2.   | Hasta grubu dağılımı .....                                                                                       | 68           |
| Çizelge 4.3.   | Çalışma gruplarına ait G691S genotip ve alel dağılımları.....                                                    | 70           |
| Çizelge 4.4.   | Çalışma gruplarına ait L769L genotip ve alel dağılımları .....                                                   | 71           |
| Çizelge 4.5.   | Çalışma gruplarına ait S904S genotip ve alel dağılımları .....                                                   | 73           |
| Çizelge 4.6.   | Çalışma gruplarına ait IVSI-663 genotip ve alel dağılımları .....                                                | 74           |
| Çizelge 4.7.   | G691S ve L769L SNP'lerinin epistazi analizi.....                                                                 | 76           |
| Çizelge 4.8.   | G691S ve S904S SNP'lerinin epistazi analizi .....                                                                | 77           |
| Çizelge 4.9.   | L769L ve S904S SNP'lerinin epistazi analizi .....                                                                | 77           |
| Çizelge 4.10.  | G691S, L769L ve S904S SNP'lerinin epistazi analizi .....                                                         | 77           |
| Çizelge 4.11.  | Hasta grubunda G691S genotiplerinde serum<br>parametrelerinin değerlendirilmesi.....                             | 80           |
| Çizelge 4.12.  | Hasta grubunda G691S homozigot ve heterozigot<br>genotiplerinde serum parametrelerinin değerlendirilmesi .....   | 81           |
| Çizelge 4.13.  | Kontrol grubunda G691S genotiplerinde serum<br>parametrelerinin değerlendirilmesi.....                           | 81           |
| Çizelge 4.14.  | Kontrol grubunda G691S homozigot ve heterozigot<br>genotiplerinde serum parametrelerinin değerlendirilmesi ..... | 81           |
| Çizelge 4.15.  | Hasta grubunda L769L genotiplerinde serum<br>parametrelerinin değerlendirilmesi.....                             | 82           |
| Çizelge 4.16.  | Hasta grubunda L769L homozigot ve heterozigot<br>genotiplerinde serum parametrelerinin değerlendirilmesi .....   | 82           |
| Çizelge 4.17.  | Kontrol grubunda L769L genotiplerinde serum<br>parametrelerinin değerlendirilmesi.....                           | 82           |
| Çizelge 4.18.  | Kontrol grubunda L769L homozigot ve heterozigot<br>genotiplerinde serum parametrelerinin değerlendirilmesi ..... | 83           |
| Çizelge 4.19.  | Hasta grubunda S904S genotiplerinde serum<br>parametrelerinin değerlendirilmesi.....                             | 83           |
| Çizelge 4.20.  | Hasta grubunda L769L homozigot ve heterozigot<br>genotiplerinde serum parametrelerinin değerlendirilmesi .....   | 83           |

| <b>Çizelge</b>                                                                                                                           | <b>Sayfa</b> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Çizelge 4.21. Kontrol grubunda S904S genotiplerinde serum parametrelerinin değerlendirilmesi.....                                        | 84           |
| Çizelge 4.22. Kontrol grubunda S904S homozigot ve heterozigot genotiplerinde serum parametrelerinin değerlendirilmesi .....              | 84           |
| Çizelge 4.23. Hasta grubunda Neurturin IVSI-663 genotiplerinde serum parametrelerinin değerlendirilmesi.....                             | 84           |
| Çizelge 4.24. Hasta grubunda NRTN geni IVSI-663 homozigot ve heterozigot genotiplerinde serum parametrelerinin değerlendirilmesi .....   | 85           |
| Çizelge 4.25. Kontrol grubunda Neurturin geni IVSI-663 genotiplerinde serum parametrelerinin değerlendirilmesi.....                      | 85           |
| Çizelge 4.26. Kontrol grubunda NRTN geni IVSI-663 homozigot ve heterozigot genotiplerinde serum parametrelerinin değerlendirilmesi ..... | 85           |
| Çizelge 4.27. NRTN geni IVSI-663 genotiplerinde KI67 değerlerinin karşılaştırılması .....                                                | 86           |
| Çizelge 4.28. Hasta grubunda serum parametrelerinin yaş gruplarına göre değerlendirilmesi .....                                          | 86           |
| Çizelge 4.29. Kontrol grubunda serum parametrelerinin yaş gruplarına göre değerlendirilmesi .....                                        | 87           |
| Çizelge 4.30. Hasta grubunda serum parametrelerinin menopoz yaşına göre değerlendirilmesi .....                                          | 87           |
| Çizelge 4.31. Kontrol grubunda serum parametrelerinin menopoz yaşına göre değerlendirilmesi .....                                        | 88           |
| Çizelge 4.32. Hasta grubunda ER reseptör durumuna göre serum parametrelerinin değerlendirilmesi.....                                     | 88           |
| Çizelge 4.33. Hasta grubunda PR reseptör durumuna göre serum parametrelerinin değerlendirilmesi.....                                     | 89           |
| Çizelge 4.34. Hasta grubunda HER2 reseptör durumuna göre serum parametrelerinin değerlendirilmesi.....                                   | 89           |
| Çizelge 4.35. Hasta grubunda menopoz durumuna göre serum parametrelerinin değerlendirilmesi.....                                         | 90           |

| <b>Çizelge</b>                                                                                                 | <b>Sayfa</b> |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Çizelge 4.36. Kontrol grubunda menopoz durumuna göre serum parametrelerinin değerlendirilmesi.....             | 90           |
| Çizelge 4.37. Tümör çapına göre serum parametrelerinin değerlendirilmesi                                       | 91           |
| Çizelge 4.38. Tümör derecesine göre serum parametrelerinin değerlendirilmesi .....                             | 91           |
| Çizelge 4.39. Hasta grubunda moleküler sınıflandırmaya göre serum parametrelerinin değerlendirilmesi.....      | 92           |
| Çizelge 4.40. Hasta grubunda histolojik sınıflandırmaya göre serum parametrelerinin değerlendirilmesi.....     | 93           |
| Çizelge 4.41. Hasta grubunda ailedeki meme kanseri durumuna göre serum parametrelerinin değerlendirilmesi..... | 94           |
| Çizelge 4.42. Hasta grubunda menarş yaşına göre serum parametrelerinin değerlendirilmesi.....                  | 94           |
| Çizelge 4.43. Kontrol grubunda menarş yaşına göre serum parametrelerinin değerlendirilmesi.....                | 95           |
| Çizelge 4.44. Hasta grubu korelasyon matrisi .....                                                             | 95           |
| Çizelge 4.45. Kontrol grubu korelasyon matrisi .....                                                           | 96           |

## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

| Şekil       |                                                                                                                                                                 | Sayfa |
|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Şekil 2.1.  | Meme dokusunun anatomisi.....                                                                                                                                   | 5     |
| Şekil 2.2.  | Malign tümör gelişimi.....                                                                                                                                      | 7     |
| Şekil 2.3.  | Gen mutasyonuna sahip bazı genler ve sıklık diyagramı .....                                                                                                     | 24    |
| Şekil 2.4.  | İnsan reseptör protein-tirozin kinazlar. ....                                                                                                                   | 28    |
| Şekil 2.5.  | A) RET reseptör tirozin kinazın üç fonksiyonel bölgesi,<br>B ve C) RET reseptör tirozin kinazın üç fonksiyonel bölgesinin<br>3 boyutlu moleküler görüntüsü..... | 30    |
| Şekil 2.6.  | GDNF- GFR $\alpha$ 1'in RET reseptörüne bağlanması .....                                                                                                        | 31    |
| Şekil 2.7.  | a) GDNF, NRTN, ARTN ve PSPN'in GFR $\alpha$ ailesi reseptörlerine<br>bağlanması, b) RET-GFL-GFR $\alpha$ kompleksi .....                                        | 32    |
| Şekil 2.8.  | Klasik nörotrofinler ve reseptörleri .....                                                                                                                      | 37    |
| Şekil 2.9.  | Neurturin, koreseptörü GFR $\alpha$ 2 ve reseptörü .....                                                                                                        | 40    |
| Şekil 2.10. | MMP-2'nin yapısı.....                                                                                                                                           | 42    |
| Şekil 3.1.  | Örneklerden DNA izolasyonu .....                                                                                                                                | 48    |
| Şekil 3.2.  | Standart BDNF kalibrasyon grafiği .....                                                                                                                         | 57    |
| Şekil 3.3.  | Standart Neurturin kalibrasyon grafiği .....                                                                                                                    | 59    |
| Şekil 3.4.  | Standart MMP-2 kalibrasyon grafiği .....                                                                                                                        | 62    |
| Şekil 3.5.  | Standart FAK kalibrasyon grafiği .....                                                                                                                          | 64    |
| Şekil 4.1.  | Neurturin IVSI-663 polimorfizmi yabancı tip kromatogram<br>görüntüsü.....                                                                                       | 74    |
| Şekil 4.2.  | Neurturin IVSI-663 polimorfizmi homozigot kromatogram<br>görüntüsü.....                                                                                         | 75    |
| Şekil 4.3.  | Neurturin IVSI-663 polimorfizmi heterozigot kromatogram<br>görüntüsü.....                                                                                       | 75    |
| Şekil 4.4.  | Hasta ve kontrol örneklerinde IVSI-663 pozisyonundaki alel<br>farklılıkları .....                                                                               | 76    |
| Şekil 4.5.  | Hasta ve kontrol gruplarında serum BDNF düzeyleri .....                                                                                                         | 78    |
| Şekil 4.6.  | Hasta ve kontrol gruplarında serum Neurturin düzeyleri .....                                                                                                    | 78    |
| Şekil 4.7.  | Hasta ve kontrol gruplarında serum MMP-2 düzeyleri.....                                                                                                         | 79    |
| Şekil 4.8.  | Hasta ve kontrol gruplarında serum FAK düzeyleri .....                                                                                                          | 80    |
| Şekil 4.9.  | Hasta grubu FAK-BDNF korelasyon saçılım grafiği.....                                                                                                            | 96    |

**Şekil****Sayfa**

|             |                                                           |    |
|-------------|-----------------------------------------------------------|----|
| Şekil 4.10. | Kontrol grubu MMP-2-BDNF korelasyon saçılım grafiği ..... | 97 |
|-------------|-----------------------------------------------------------|----|

## RESİMLERİN LİSTESİ

| Resim                                                                                                         | Sayfa |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Resim 3.1. Hasta ve kontrollere ait rastgele seçilmiş örnek RET G691S<br>PZR ürün jel görüntüsü .....         | 52    |
| Resim 3.2. Hasta ve kontrollere ait rastgele seçilmiş örnek RET L769L<br>PZR ürün jel görüntüsü .....         | 52    |
| Resim 3.3. Hasta ve kontrollere ait rastgele seçilmiş örnek RET S904S<br>PZR ürün jel görüntüsü .....         | 53    |
| Resim 3.4. Hasta ve kontrollere ait rastgele seçilmiş örnek Neurturin<br>IVSI-663 PZR ürün jel görüntüsü..... | 53    |
| Resim 4.1. RET G691S polimorfizmi kesim sonrası jel görüntüleri.....                                          | 69    |
| Resim 4.2. RET L769L polimorfizmi kesim sonrası jel görüntüleri.....                                          | 70    |
| Resim 4.3. RET S904S polimorfizmi kesim sonrası jel görüntüleri .....                                         | 72    |

## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

### Simgeler Açıklama

|            |            |
|------------|------------|
| <b>µL</b>  | Mikrolitre |
| <b>µM</b>  | Mikromolar |
| <b>bç</b>  | Baz Çifti  |
| <b>dk</b>  | Dakika     |
| <b>kDA</b> | Kilodalton |
| <b>L</b>   | Litre      |
| <b>M</b>   | Molarite   |
| <b>mL</b>  | Mililitre  |
| <b>mM</b>  | Milimolar  |
| <b>ng</b>  | Nanogram   |
| <b>pg</b>  | Pikogram   |
| <b>sn</b>  | Saniye     |

### Kısaltmalar Açıklama

|              |                                                                           |
|--------------|---------------------------------------------------------------------------|
| <b>AJCC</b>  | American Joint Committee on Cancer<br>(Amerikan Birleşik Kanser Komitesi) |
| <b>ARTN</b>  | Artemin                                                                   |
| <b>ATM</b>   | Mutasyona Uğramış Ataksi-Telanjiyektazi                                   |
| <b>BDNF</b>  | Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör                                          |
| <b>BRCA1</b> | Breast cancer 1, early onset<br>(Meme Kanseri Tip 1 Duyarlılık Proteini)  |
| <b>BRCA2</b> | Breast Cancer Genes 2<br>(Meme kanseri geni 2)                            |
| <b>CHEK2</b> | Checkpoint Kinase 2<br>(Kinaz 2 Kontrol Noktası)                          |
| <b>CNTF</b>  | Ciliary Neurotrophic Factor<br>(Siliyer Nörotrofik Faktör)                |

| <b>Kısaltmalar</b>            | <b>Açıklama</b>                                                                                                                                              |
|-------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>DKİS</b>                   | Duktal Karsinoma İn Situ                                                                                                                                     |
| <b>DSÖ</b>                    | Dünya Sağlık Örgütü                                                                                                                                          |
| <b>ECIBC</b>                  | European Commission Initiative on Breast Cancer<br>(Avrupa Komisyonu Meme Kanseri Girişimi)                                                                  |
| <b>EGF</b>                    | Epidermal Growth Factor<br>(Epidermal Büyüme Faktörü)                                                                                                        |
| <b>ELISA</b>                  | Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay<br>(Enzime Bağlı İmmünosorban Yöntem)                                                                                      |
| <b>ER</b>                     | Estrogen Receptor<br>(Östrojen Reseptörü)                                                                                                                    |
| <b>ErbB</b>                   | Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü                                                                                                                           |
| <b>ERK1/2</b>                 | Extracellular Signal-Regulated Kinase 1/2<br>(RAS/Hücre Dışı Sinyal Ayarlı Protein Kinaz 1 ve 2)                                                             |
| <b>ERK-JNK Pathway</b>        | The extracellular signal regulated kinase-The c-Jun N-terminal kinase pathway<br>(Hücre dışı sinyalle düzenlenen kinazlar- c-Jun N terminal kinazlar yolağı) |
| <b>ESM</b>                    | Ekstraselüler Matrisin                                                                                                                                       |
| <b>FAK</b>                    | Focal adhesion kinase<br>(Fokal adezyon kinaz)                                                                                                               |
| <b>FGF</b>                    | Fibroblast Growth Factors<br>(Fibroblast Büyüme Faktörü)                                                                                                     |
| <b>FTK</b>                    | Foliküler Tiroid Kanseri                                                                                                                                     |
| <b>GDNF</b>                   | Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor<br>(Glial Türevli Nörotrofik Faktör)                                                                             |
| <b>GFL</b>                    | The GDNF family of ligands<br>(GDNF Ailesi Liganları)                                                                                                        |
| <b>GFR<math>\alpha</math></b> | GDNF Ailesi Reseptörü $\alpha$                                                                                                                               |
| <b>GPI</b>                    | Glikozilfosfatidil İnositol                                                                                                                                  |
| <b>HER2 (CERBB2)</b>          | Human Epidermal Growth Factor 2<br>(İnsan Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü 2)                                                                               |

| <b>Kısaltmalar</b>            | <b>Açıklama</b>                                                                           |
|-------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>HGF</b>                    | Hepatocyte Growth Factor<br>(Hepatosit Büyüme Faktörü)                                    |
| <b>HRT</b>                    | Hormon Replasman Tedavisi                                                                 |
| <b>HS</b>                     | Heparan Sülfatı                                                                           |
| <b>IGF-1</b>                  | Insulin-Like Growth Factor<br>(İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü)                            |
| <b>IR</b>                     | İnsülin Reseptör                                                                          |
| <b>İDK</b>                    | İnvaziv Duktal Karsinom                                                                   |
| <b>İLK</b>                    | İnvaziv Lobüler Karsinom                                                                  |
| <b>JNK</b>                    | c-Jun Amino-Terminal Kinaz                                                                |
| <b>KBA</b>                    | Kadherin Benzeri Alan                                                                     |
| <b>LKİS</b>                   | Lobüler Karsinoma İn Situ                                                                 |
| <b>MEN2</b>                   | Multipl Endokrin Neoplazi Tip 2                                                           |
| <b>MMP</b>                    | Matriks Metalloproteinaz                                                                  |
| <b>MTK</b>                    | Medüller Tiroid Karsinom                                                                  |
| <b>NF1</b>                    | Neurofibromin 1                                                                           |
| <b>NGF</b>                    | Nerve Growth Factor<br>(Sinir Büyüme Faktörü)                                             |
| <b>NRTN</b>                   | Neurturin                                                                                 |
| <b>NT-3</b>                   | Nörotrofin-3                                                                              |
| <b>NT-4</b>                   | Nörotrofin-4                                                                              |
| <b>p38MAPK</b>                | p38 Mitogen-Activated Protein Kinase<br>(p38 Mitojenle Aktifleştirilen Protein Kinaz)     |
| <b>PDGFR</b>                  | Platelet-Derived Growth Factor Receptor<br>(Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü Reseptörü)   |
| <b>PI3K/AKT</b>               | Phosphatidylinositol 3-Kinase AKT Pathway<br>Fosfatidilinositol 3-Kinaz AKT Sinyal Yolağı |
| <b>PLC<math>\gamma</math></b> | Phosphoinositide Phospholipase C<br>Fosfoinositid Fosfolipaz C- $\gamma$                  |
| <b>PR</b>                     | Progesteron Receptor<br>(Progesteron Reseptörü)                                           |
| <b>PSPN</b>                   | Persefin                                                                                  |

| <b>Kısaltmalar</b> | <b>Açıklama</b>                                                                                               |
|--------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>PTK</b>         | Papiller Tiroid Kanseri                                                                                       |
| <b>PZR</b>         | Polimeraz Zincir Reaksiyonu                                                                                   |
| <b>RET</b>         | Rearranged During Transfection<br>(Transfeksiyon Sırasında Yeniden Düzenlenmiş)                               |
| <b>RFLP</b>        | Restriction Fragment Length Polymorphism<br>(Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi)                      |
| <b>RTK</b>         | Reseptör Tirozin Kinazlar                                                                                     |
| <b>sMTK</b>        | Sporadik Medüller Tiroid Karsinom                                                                             |
| <b>SNP</b>         | Single Nucleotide Polymorphism<br>(Tek Nükleotid Polimorfizmi)                                                |
| <b>STAT1/3</b>     | Signal Transducer And Activator of Transcription 1/3<br>(Sinyal Transdüseri ve Transkripsiyon Aktivatörü 1/3) |
| <b>SZA</b>         | Sistein Açısından Zengin Alan                                                                                 |
| <b>TIMP</b>        | Tissue Inhibitors of Matrix Metalloproteinase<br>(Metalloproteinaz Endojen Doku İnhibitörleri)                |
| <b>TKA</b>         | Tirozin Kinaz Alanı                                                                                           |
| <b>TNF</b>         | Tumor Necrosis Factor<br>Tümör Nekroz Faktörü                                                                 |
| <b>TNM</b>         | Tümör, Nod, Metastaz                                                                                          |
| <b>TP53</b>        | Tümör Proteini 53                                                                                             |
| <b>Trk</b>         | Tropomiyozin Reseptör Kinazları                                                                               |
| <b>ÜNMK</b>        | Üçlü Negatif Meme Kanseri                                                                                     |
| <b>VEGF</b>        | Vascular endothelial growth factor<br>(Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü)                                    |
| <b>VEGFR</b>       | Vascular Endothelial Growth Factor Receptor<br>Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü Reseptörü                   |
| <b>VKİ</b>         | Vücut Kitle İndeksi                                                                                           |

## 1. GİRİŞ

Meme kanseri dünya genelinde son 5 yılda 7,8 milyon kadının tanı aldığı en yaygın kanser türüdür. Hastalığın erken teşhisi prognozunu iyileştirilmesini ve sağkalım artışını sağlarken kemik, karaciğer, akciğer ve beyin gibi uzak organlara metastaz yapması meme kanserinin tedavisini zorlaştırmaktadır. Meme kanseri kadınlarda erkeklere göre 100 kat daha sık görülmektedir. Görülme sıklığı her geçen yıl artmasına rağmen erken taramaların yaygınlaşması ve gelişmiş tıbbi tedaviler nedeniyle meme kanserinden ölümler azalmaktadır [1]. Tüm meme kanseri vakalarının yaklaşık %10'u ülkeye ve etnik kökene göre farklılıklar göstermektedir. Dünya çapında meme kanseri insidansı yaşam tarzı faktörleri ve ekonomik gelişme arasındaki ilişkiyi yansıtmaktadır ve ölüm/insidans oranı %15'tir [2].

Reseptör tirozin kinazlar (RTK'ler) özellikle kanserdeki rolleri nedeniyle araştırmaların ilgi odağı olan transmembran reseptörlerdir. Keşfedilmelerinden bu yana çoklu kanser türleriyle ilişkili çeşitli RTK düzensizlik mekanizmaları ortaya konmuştur. Son yirmi yılda çeşitli kanserlerde klinik onay alan çok sayıda küçük molekül yapılı tirozin kinaz inhibitörü ilaçlar bu alanda büyük bir sınıfı temsil etmektedir [3]. RET (rearranged during transfection), 10. kromozomda 10q11.2 üzerinde lokalize edilmiş RET protoonkogen tarafından kodlanan bir transmembran RTK'dir [4]. RET nörotrofik faktörlerden olan glial türevli nörotrofik faktör (GDNF) ailesinin büyüme faktörlerini bağlayan çok moleküllü bir kompleksin sinyal reseptörüdür. RET sinyaline neurturin (NRTN), artemin (ARTN) ve persefin (PSPN) de dahil olmak üzere, GDNF ailesi ligandlarının (GFL'ler) çözünebilir proteinlerinin bağlanması aracılık etmektedir. GFL'ler, GDNF ailesi reseptörü  $\alpha$  (GFR $\alpha$ ) proteinleri ile birleşir ve ardından RET'e bağlanarak aktive edilirler. GFL'ler dokuların gelişimi için gerekli olan aynı zamanda kansere önemli katkıda bulunan çözünür nörotrofik faktörlerdir. RET'in GFL aracılı aktivasyonu, tümör büyümesini ve yayılmasını destekleyen, giderek daha fazla tanınan bir mekanizmadır. RET ve GFL ekspresyonları kötü hasta prognozu ile bağlantılı meme, pankreas ve prostat tümörlerini içeren çeşitli kanserlerde metastaz ve invazyon ile ilişkilendirilmektedir. Buna ek olarak GFL-RET sinyali tümörü çevreleyen stroma ve hücrel kompozisyonu değiştiren tümör mikroçevresindeki değişiklikleri de teşvik etmektedir. Bu nedenle, GFL-RET sinyali yeni terapötik yaklaşımlar için önemli bir

hedeftir [5]. Meme kanserinde RET ekspresyonundaki artışın RET'teki polimorfizm ve genomik değişikliklerin kanserin patojenezinde ve tedaviye yanıtı dahil olabileceğini göstermektedir [6-8]. RET fonksiyonel polimorfik varyantlarının, mutasyonlarının ve artan ekspresyon seviyelerinin RET'in onkojenik fonksiyonları üzerinde etkisi olduğu bildirilmektedir [9]. Onkojenik bir gen olarak tanımlanan RET'in birçok polimorfizmi (rs1799939, rs1800861, rs1800862, rs1800863, rs1800858, rs2435357, rs2565206) multipl endokrin neoplazi tip 2 (MEN2), feokromositoma, papiller tiroid kanseri (PTK) ve foliküler tiroid kanserli (FTK), sporadik medüller tiroid karsinom (sMTK), tiroid kanseri, akciğer kanseri gibi çeşitli kanserlerde araştırılmıştır [10-15].

Nörotrofik faktörler spesifik hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanarak işlevlerini gerçekleştiren polipeptidlerdir. Nörotrofik faktörler klasik nörotrofinler, GDNF ligandları ve nöroprotektif sitokinler olmak üzere üç gruptur [16]. GDNF ligandları ailesinden olan NRTN, RET üzerinden birkaç sinyal yolağını aktifleştirerek hücrelerin hayatta kalması, proliferasyonu, farklılaşması, migrasyonu ve onkojenik etkileri yaymaktadır [17]. NRTN'nin koreseptörü GFR $\alpha$ 2'ye bağlanmasıyla oluşan protein kompleksi transmembran reseptörü olan RET'i aktive etmektedir [18]. Neurturin polimorfik varyantları olan rs1379868, rs10775589 ve rs11268405 Hirschsprung hastalığı ve rs1379868 sMTK'da araştırılmıştır [19, 20]. Klasik nörotrofinlerden olan, 477 amino asitten oluşan ve beyindeki büyüme, hayatta kalma, sinir hücrelerinin farklılaşması ve nöral plastisitede önemli rol oynayan beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), tirozin kinaz reseptörleri TrkA, TrkB ve p75 reseptörleri aracılığıyla meme kanseri hücre büyümesini ve metastazını uyaran güçlü bir nörotrofik faktördür [21].

Matriks metalloproteinazlar (MMP), ekstraselüler matriksin (ESM) bileşenlerini parçalamaktan sorumlu çinko bağımlı endopeptidaz enzim ailesidir. MMP-2 denatüre kolajen, kolajen IV ve V'nin degrade eden üç fibronektin tekrarına sahip jelatinaz ailesinin bir üyesidir. Bazal membrandaki kolajeni ve ayrıca diğer ESM bileşenlerini bozarak ESM'nin yeniden şekillenmesini sağlayarak doku onarımı, yara iyileşmesi ve hücre farklılaşması gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde anahtar rol oynamaktadır. MMP-2 proteolitik işlevleri aracılığıyla hücre proliferasyonu, anjiyogenez ve tümör metastazı dahil olmak üzere karsinogenez süreçlerinde yer almaktadır [22].

Fokal adezyon kinaz (FAK), integrin aracılı hücre yapışma bölgelerinde ve büyüme faktörü reseptörleri tarafından başlatılan sinyal iletim yollarında önemli bir rol oynayan ve reseptör olmayan bir tirozin kinazdır. FAK kanserde hayatta kalma, çoğalma, migrasyon ve invazyon süreçlerinin kilit düzenleyicisidir. Çeşitli kanserlerde FAK'ın aşırı ekspresyonu ve artan aktivitesi gösterilmektedir [23-26].

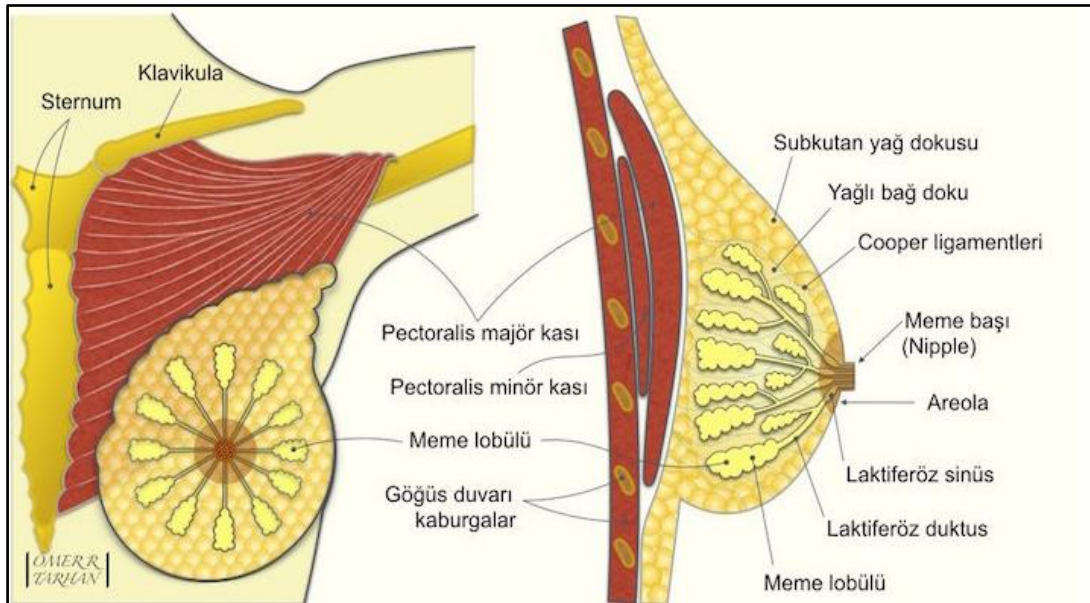
Son zamanlarda yapılan çalışmalarda meme kanserinin tedavisinde kişiye özel moleküler düzeyde gen tedavileri ve genetik haritalama yöntemleri yaygınlaşmaktadır. RET geni meme kanseri de dahil olmak üzere çeşitli kanserlerde tedavi hedefi olarak araştırmacıların ilgi odağında bulunmaktadır. Kanser türlerinde RET geninin etkisini araştıran çalışmalar bulunmaktadır. Bu tez kapsamında RET geni G691S (rs1799939), L769L (rs1800861) ve S904S (rs1800863) ve NRTN geni IVSI-663 (rs1379868) polimorfizmlerinin incelenmesi ve meme kanseri riski ile ilişkisinin irdelenmesi, bunun yanında RET ilişkili parametreler olan serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeylerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmanın meme kanseri tedavisini konu alan çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Meme Anatomisi

Meme tabanı ikinci kaburgadan altıncı kaburgaya kadar uzanan ön göğüs duvarında yer alır. Memenin anatomik sınırları, üstte ikinci veya üçüncü kaburga seviyesinden altta meme altı kıvrımına kadar ve enine sınırı, medialde sternumun lateral sınırından lateralde midaksiller çizgiye kadardır. Memenin yaklaşık üçte ikisi pektoralis majör kasının üzerinde bulunur ve geri kalanı serratus anterior kası ve abdominal oblik kasın üst kısmı ile temas eder. Meme dokusu sıklıkla Spence'in koltuk altı kuyruğu olarak aksillaya uzanır. Meme deri, deri altı doku ve meme dokusundan oluşur. Memede 2 fasyal katman bulunur. Yüzeysel fasya dermisin derinliklerinde yer alır ve derin fasya pektoralis majör kas fasyasının önünde yer alır. Meme dokusu, dermisin derinindeki yüzeysel fasyada bulunur, Cooper'ın ligamentleri ile cilde tutunur ve pektoralis majör kasının yatırım fasyasından retromammary bursa ile ayrılır. Retromammary bursa gevşek areolar doku ile dolar ve Cooper'ın asıcı bağları ile birlikte memenin göğüs duvarına karşı serbestçe hareket etmesine izin verir. Cooper ligamentleri, meme parankiminden geçen ve dermise dik olarak uzanan fibröz bağ dokusu bantlarıdır (Şekil 2.1.) [27].



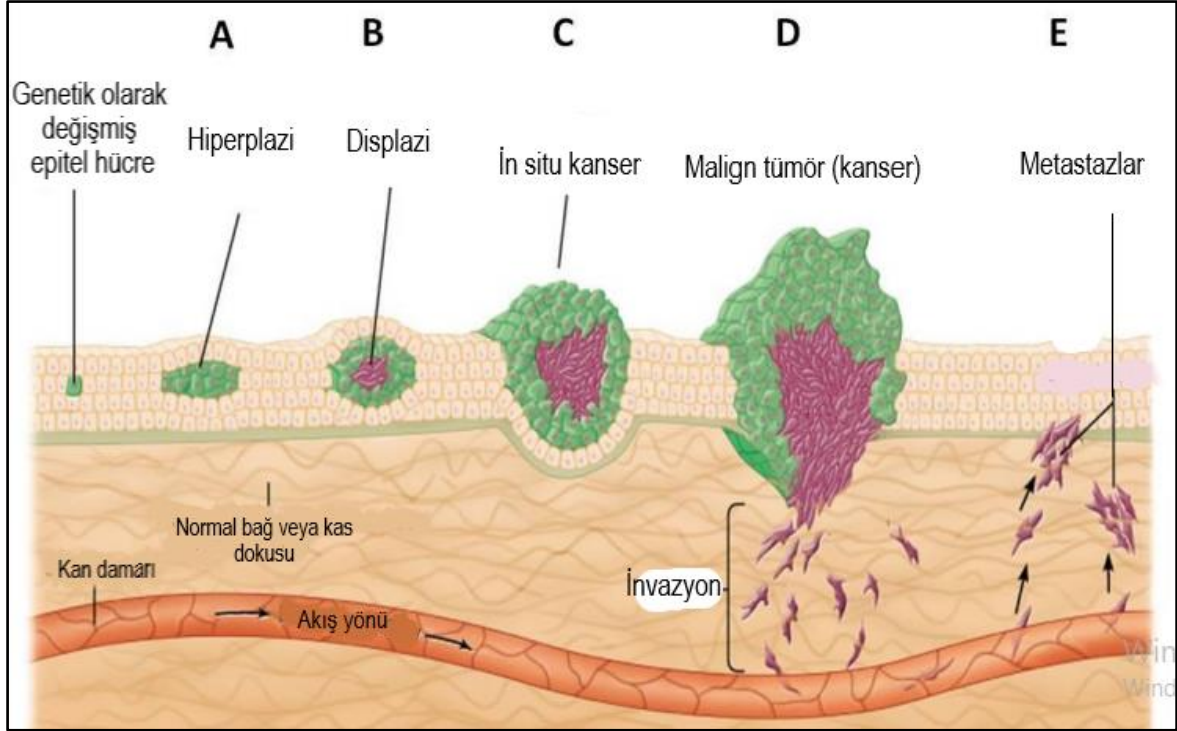
Şekil 2.1. Meme dokusunun anatomisi [28]

Meme 15 ile 20 lobdan oluşur ve her biri 20 ile 40 arasında değişen lobüllere ayrılır. Lobüller, dallanmış tübüloalveolar bezlerden meydana gelir. Her lob büyük bir süt kanalına drene olur. Süt veren kanallar areolanın altında süt veren bir sinüse genişler ve daha sonra daralmış bir delikten meme ucuna açılır. Loblar arasındaki boşluk yağ dokusu ile doludur. Meme, üst iç, üst dış, alt iç ve alt dış kadranda olmak üzere dört bölüme ayrılır. Meme hacminin çoğu, meme tümörlerinin en sık görüldüğü yer olan üst dış kadranda bulunur [29].

## 2.2. Meme Kanseri

Kanser, kontrolsüz büyüme, tümör oluşumu ve çevredeki dokuların istilası ile karakterize olan heterojen bir hastalık grubudur. Normal somatik hücrelerin aşırı büyümesi tümörlerin gelişmesine yol açar, ancak tüm tümör türleri kanser değildir. Benign tümörler tek bir bölgede kalırlar, sınırlı büyüme gösterirler, komşu dokuları istila etmezler ve vücuda yayılmazlar [30]. Bununla birlikte malign tümörler tek bir bölgede kalmayarak komşu dokulara veya vücudun diğer bölgelerine yayılırlar. Malign tümörlerin daha yıkıcı formu, tümörlerin lenfatik sistem veya kan dolaşımı yoluyla vücudun uzak bölgelerine hareket ettiği metastatik tümörler olarak bilinir. Metastaz, kansere bağlı ölümlerin %90'ından fazlasının nedenidir. Yerel çevreyi istila eden birincil tümör hücreleri dolaşıma dahil olurlar ve uzak organları istila ederek metastatik bir lezyon oluşturabilirler (Şekil 2.2.) [30].

Kanser çeşitli ve çok yönlü bir hastalıktır, vücudun her yerinde ortaya çıkabilir. Kanser tipik olarak anatomik kökenine göre meme kanseri, kolon kanseri, prostat kanseri, lenfoma, lösemi, akciğer kanseri, vb sınıflandırılır. Bunların her biri ayrıca farklı alt türlere ayrılır. Kanser son derece karmaşık bir hastalık olmasına rağmen, hemen hemen tüm maligniteler arasında bir dizi özellik ortaktır. Bu özellikler, tümör oluşumu sırasında kazanılan birleşik yetenekler kümesidir. Başlangıçta kanserin ayırt edici özellikleri olarak öne sürülen altı özellik vardır: büyüme sinyallerinde kendi kendine yeterlilik, büyümeyi inhibe eden sinyallere karşı duyarsızlık, programlanmış hücre ölümünün önlenmesi, sınırsız replikatif potansiyel, sürekli anjiyogenez ve doku istilası ile metastaz [31].



Şekil 2.2. Malign tümör gelişimi. (A) Hiperplazi, genetiği değiştirilmiş veya anormal hücrelerin kontrolsüz ve hızlı büyüme gösterdiği aşamadır. (B) Displazi, aşırı büyüyen hücrelerin orijinal formlarını değiştirdiği tümör gelişiminin aşaması. Daha olgunlaşmamış hücrelerden oluşur. (C) Yerinde kanser, hücrelerin olgunlaşma sürecine girmediği, doku kimliklerini kaybettiği ve düzenleme olmadan büyüdüğü neoplastik lezyonu temsil eder. (D) Kötü huylu tümörde, aşırı büyüyen hücreler, bazal zarı yırtarak diğer alanları istila eder. (E) Metastazlar, kanser hücrelerinin lenfatik sistem ve kan dolaşımı yoluyla uzak bölgelere ulaşmasıyla oluşur [32].

Meme kanseri, kadınlar arasında en sık görülen kanser olup, her yıl 2,1 milyon kadını etkilemektedir. Meme kanseri kadınlarda kansere bağlı ölümlerde birinci sırada yer alan kanser türüdür ve insidansı dünya genelinde hemen hemen her bölgede artmaktadır [33]. Meme kanseri gelişiminde cinsiyet, yaş, östrojen, aile öyküsü, gen mutasyonları ve yaşam tarzı gibi sayısız risk faktörü bulunmaktadır [34]. Meme kanseri genellikle kadınlarda görülür ve vaka sayısı kadınlarda erkeklerden 100 kat daha fazladır [35].

Meme kanseri metastatik bir kanserdir ve genellikle kemik, karaciğer, akciğer ve beyin gibi uzak organlara yayılabilmektedir. Hastalığın erken teşhisi prognozunu iyileşmesini ve yüksek sağkalımı sağlamaktadır. Kuzey Amerika'da, meme kanseri hastalarının 5 yıllık göreceli sağkalım oranı, bu hastalığın erken teşhisi nedeniyle % 80'in üzerindedir [36]. Avrupa Birliği'nin (AB) 28 üye ülkesinden 25'i, klinik öncesi bir aşamada meme kanserini tespit etmek için ulusal veya bölgesel popülasyon temelli

mamografi tarama programlarını planlamakta, pilotlaştırmakta ve yaygınlaştırmaktadır [37]. Avrupa Komisyonu Meme Kanseri Girişimi (ECIBC) 50-69 yaş arası kadınlarda kanıta dayalı olarak mamografi taramasını gerekli görerek önermektedir. Daha genç yaş gruplarındaki kadınlar için ise koşullara bağlı öneriler sunmaktadır [38].

Meme kanseri tanısı, görüntüleme ile kombinasyon halinde klinik muayeneye ve takiben patolojik değerlendirmeye dayanmaktadır. Klinik muayene memelerin ve bölgesel lenf düğümlerinin bimanuel palpasyonunu ve uzak metastazların değerlendirilmesini içermektedir. Nörolojik muayene ise sadece semptomlar olduğunda gerekli görülmektedir. Görüntüleme, bilateral mamografi, meme ve bölgesel lenf nodlarının ultrasonografisini içermektedir [39]. Tam kişisel tıbbi öykünün alınması, meme/yumurtalık ve diğer kanserlerle ilgili aile öyküsünün varlığının öğrenilmesi, hastanın menopozal durumunun teyidi ve tam bir fiziksel muayene yapılması zorunlu görülmektedir [40].

Meme tümörleri genellikle duktal hiperproliferasyondan başlar ve daha sonra çeşitli kanserojen faktörlerle sürekli uyarıldıktan sonra iyi huylu tümörler veya metastatik karsinomlar halinde gelişmektedir. Stromal etkiler ve makrofajlar gibi tümör mikro ortamları meme kanseri başlangıcında ve ilerlemesinde hayati rol oynamaktadır [41].

### **2.2.1. Meme kanseri sınıflandırılması**

Meme kanserinde heterojenliği düzenlemek ve dili standardize etmek için sınıflandırma sistemleri geliştirilmiştir. Tümör başlatan kanser kök hücrelerinin ve meme kanserinin moleküler alt tiplerinin tanımlanması, meme kanseri heterojenitesinin daha kapsamlı ve klinik olarak sınıflandırmasını sağlamaya yardımcı olmaktadır [42]. Meme kanserinin tümör, nod, metastaz (TNM), moleküler, histolojik şeklinde sınıflandırılmaları yapılmaktadır.

#### **Meme Kanseri Tümör, Nod, Metastaz Sınıflandırması**

Meme kanserinde patolojik tanı Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sınıflandırmasına ve Amerikan Birleşik Kanser Komitesi (AJCC) TNM evreleme sistemine göre yapılmaktadır [43, 44]. TNM evreleme sistemi 1959 yılında AJCC evreleme

raporlarının bir sonucu olarak ortaya konulmuştur (Çizelge 2.1., 2.2., 2.3.) [45]. Meme kanserinde anatomik bilgilerin dışında, Östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR), insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2), tümör derecesi ve gen ekspresyonu gibi tümör biyolojisi ile ilgili prognostik bilgilerin daha fazla anlaşılması ve bunların prognoz, tedavi seçimi ve tedaviye yanıt üzerindeki etkisini değerlendirebilmek için TNM evreleme sistemi kullanılmaktadır [46].

Çizelge 2.1. AJCC Primer tümörün (T) -klinik (cT) ve patolojik (pT) olarak tanımlanması [43]

| <b>T Kategorisi</b> | <b>T Kriteri</b>                                                                                                 |
|---------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>TX</b>           | Primer tümör değerlendirilemez.                                                                                  |
| <b>T0</b>           | Primer tümör kanıtı yok.                                                                                         |
| <b>Tis (DKİS)</b>   | Duktal karsinom in situ (DKİS)                                                                                   |
| <b>Tis (Paget)</b>  | Meme başındaki paget hastalığı                                                                                   |
| <b>T1</b>           | Tümör $\leq 20$ mm                                                                                               |
| <b>T1mi</b>         | Tümör $\leq 1$ mm                                                                                                |
| <b>T1a</b>          | 1 mm < Tümör $\leq 5$ mm                                                                                         |
| <b>T1b</b>          | 5 mm < Tümör $\leq 10$ mm                                                                                        |
| <b>T1c</b>          | 10 mm < Tümör $\leq 20$ mm                                                                                       |
| <b>T2</b>           | 20 mm < Tümör $\leq 50$ mm                                                                                       |
| <b>T3</b>           | Tümör > 50 mm                                                                                                    |
| <b>T4</b>           | Göğüs duvarına ve/veya cilde doğrudan uzayan herhangi bir boyuttaki tümör (ülserasyon veya makroskopik nodüller) |
| <b>T4a</b>          | Göğüs duvarı invazyonu olan tümör                                                                                |
| <b>T4b</b>          | Ülserasyon ve/veya satellit deri nodülleri ve/veya ödem dahil makroskopik deri değişiklikleri olan tümör         |
| <b>T4c</b>          | Hem T4a hem de T4b mevcuttur                                                                                     |
| <b>T4d</b>          | İnflamatuvar karsinom                                                                                            |

Çizelge 2.2. AJCC Bölgesel lenf nodlarının- klinik (cN) ve patolojik (pN) olarak tanımlanması [43]

| Kategori                 | Kriter                                                                                                                                                                                                                  |
|--------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>cNX</b>               | Bölgesel lenf düğümleri değerlendirilemez.                                                                                                                                                                              |
| <b>cN0</b>               | Bölgesel lenf nodu metastazı yok.                                                                                                                                                                                       |
| <b>cN1</b>               | Hareketli ipsilateral seviye I ve II aksiller lenf nodlarına metastaz                                                                                                                                                   |
| <b>cN1mi<sup>c</sup></b> | Mikrometastazlar (yaklaşık 200 hücre, 0,2 mm<nod ≤2,0 mm)                                                                                                                                                               |
| <b>cN2</b>               | Klinik olarak fikse veya matlaşmış aynı tarafta seviye I-II aksiller lenf nodlarına veya aksiller lenf nodu tutulumu olmayan ipsilateral internal meme nodlarına metastazlar                                            |
| <b>cN2a</b>              | Klinik olarak sabit veya matlaşmış ipsilateral seviye I-II aksiller nodlara metastazlar                                                                                                                                 |
| <b>cN2b</b>              | Aksiller düğüm tutulumu olmaksızın ipsilateral iç meme düğümlerine metastazlar                                                                                                                                          |
| <b>cN3</b>               | İpsilateral infraklaviküler (seviye III aksiller) lenf nodlarına, seviye I-II aksiller lenf nodu metastazları olan ipsilateral internal meme lenf nodlarına veya ipsilateral supraklaviküler lenf nodlarına metastazlar |
| <b>cN3a</b>              | İpsilateral infraklaviküler lenf nodlarına metastazlar                                                                                                                                                                  |
| <b>cN3b</b>              | İpsilateral internal meme lenf nodlarına ve aksiller lenf nodlarına metastazlar                                                                                                                                         |
| <b>cN3c</b>              | Aynı taraf supraklaviküler lenf nodlarına metastazlar                                                                                                                                                                   |
| <b>pNX</b>               | Bölgesel lenf düğümleri değerlendirilemez                                                                                                                                                                               |
| <b>pN0</b>               | Bölgesel lenf nodu metastazı tanımlanmamış veya sadece izole tümör hücreleri yok                                                                                                                                        |
| <b>pN0(i+)</b>           | Bölgesel lenf nodlarında sadece izole tümör hücreleri (0,2 mm'den büyük olmayan malign hücre kümeleri)                                                                                                                  |
| <b>pN1</b>               | Mikrometastazlar<br>1-3 aksiller lenf nodlarındaki metastazlar<br>Sentinel lenf nodu biyopsisi ile mikrometastaz<br>Makrometastazlı klinik olarak negatif internal meme lenf nodları                                    |
| <b>pN1mi</b>             | Mikrometastazlar (0.2 mm<nod≤2 mm)                                                                                                                                                                                      |
| <b>pN1a</b>              | 1-3 aksiller lenf nodlarına metastaz, <2,0 mm en az bir metastaz                                                                                                                                                        |

Çizelge 2.2. (devam) AJCC bölgesel lenf nodlarının- klinik (cN) ve patolojik (pN) olarak tanımlanması [43]

|             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>pN1b</b> | İpsilateral internal meme sentinel lenf nodlarına izole tümör hücreleri hariç metastazlar                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>pN1c</b> | pN1a ve pN1b kombine                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>pN2</b>  | Aksiller lenf nodu metastazlarının yokluğunda görüntüleme ile 4-9 aksiller lenf noduna veya pozitif ipsilateral internal meme lenf noduna metastazlar                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <b>pN2a</b> | 4-9 aksiller düğümüne metastaz, >2 mm en az 1 metastaz                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| <b>pN2b</b> | Klinik olarak saptanan iç meme düğümlerinde mikroskopik doğrulama ile veya doğrulama olmadan metastazlar<br>Patolojik olarak negatif aksiller düğümler ile                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| <b>pN3</b>  | 10 veya daha fazla aksiller lenf nodunda metastaz; infraklaviküler (seviye III aksiller) lenf düğümlerinde<br>Bir veya daha fazla pozitif seviye I ve II aksiller lenf nodu varlığında görüntülenerek pozitif ipsilateral internal meme lenf nodları<br>Klinik olarak negatif ipsilateral internal meme lenf nodlarında sentinel lenf nodu biyopsisi ile 3'ten fazla aksiller lenf nodu ve mikrometastaz veya makrometastazda<br>İpsilateral Supraklaviküler lenf düğümlerinde |
| <b>pN3a</b> | ≥10 aksiller lenf nodunda metastaz (>2,0 mm en az bir tümör)<br>İnfraklaviküler (seviye III aksiller lenf) düğümlere metastazlar                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <b>pN3b</b> | cN2b varlığında pN1a veya pN2a; veya pN1b varlığında pN2a                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>pN3c</b> | İpsilateral supraklaviküler düğümlere metastaz                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |

Çizelge 2.3. Uzak metastaz kategorileri—klinik ve patolojik (CM0, CM1, PM1) [43]

| <b>Uzak Mestastaz Kategorileri—Klinik ve Patolojik (CM0, CM1, PM1)</b> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>M Kategorisi</b>                                                    | <b>M Kriteri</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| <b>M0</b>                                                              | Uzak metastazların klinik veya radyografik kanıtı yok                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <b>cM0(i+)</b>                                                         | Tümör hücrelerinin varlığında uzak metastazların klinik veya radyografik kanıtı veya semptom veya bulgusu olmayan bir hastada dolaşımdaki kan, kemik iliği veya diğer bölgesel olmayan lenf nodu dokusunda metastazların mikroskopik olarak veya moleküler teknikler kullanılarak 0,2 mm'den büyük olmayan tortular |
| <b>M1</b>                                                              | Klinik ve radyografik yöntemlerle (cM) tespit edilen uzak metastazlar ve/veya 0,2 mm'den (pM) büyük histolojik olarak kanıtlanmış metastazlar                                                                                                                                                                       |
| <b>pM1</b>                                                             | Solid organlarda histolojik olarak kanıtlanmış uzak metastazlar; bölgesel olmayan düğümlerde >0,2 mm metastazlar                                                                                                                                                                                                    |

### Meme Kanseri Moleküler Sınıflandırması

Meme kanseri moleküler sınıflandırmasında Luminal A, Luminal B, HER2 ve Bazal tip olmak üzere dört alt tip bulunmaktadır (Çizelge 2.4.). Hormon reseptörünün durumu, malignitede östrojen ve/veya progesteron reseptör ekspresyonunun varlığını veya yokluğunu ifade etmektedir. Hormon reseptörü pozitif metastatik olmayan meme kanseri, hormon bloke edici tedaviye uygundur. ER ve PR pozitif, HER2 negatif meme kanserinin en yaygın ekspresyon tipidir. Üçlü negatif meme kanseri (ÜNMK), ER, PR ve HER2 ekspresyonu olmayan malignitelere işaret etmektedir. Hasta kadınların yaklaşık %12'sinde ÜNMK bulunmaktadır [47]. ÜNMK olan kadınların teşhis edilmesi evre III veya IV'tedir. Bunun yanında, ÜNMK bazal alt tipi ER ve PR pozitif, HER2 negatif hastalığından daha yüksek dereceli agresif maligniteler daha ileri evrededir. Ki-67 meme kanserinde nüks riskini sınıflandırmaya yardımcı olan proliferasyon biyobelirtecidir [48].

#### *Luminal A*

Luminal tümörler meme kanserinde en yaygın alt tiptir ve luminal A çoğunluktadır. Luminal A tümörleri, ER ile ilişkili genlerin ekspresyonuna ve proliferatif genlerin luminal B kanserine göre daha düşük ekspresyonuna sahiptir [49]. Luminal tümörler tipik olarak düşük dereceli, güçlü ER pozitif/PR pozitif, HER2 negatif ve düşük proliferatif fraksiyona sahiptir [50].

#### *Luminal B*

Luminal B tümörü luminal A tümöründen önemli ölçüde daha kötü prognoz ve daha yüksek dereceli olma eğilimindedir [49]. Tümörler ER pozitifdir, ancak değişken derecelerde ER/PR ekspresyonu olabilir ve yüksek proliferatif fraksiyona sahiptir [50].

Luminal tümörler hormon tedavisine iyi yanıt verirken, geleneksel kemoterapiye zayıf yanıt vermektedirler. Luminal A tümörü endokrin tedavisi ile tedavi edilebilirken, daha proliferatif olan luminal B tümöründe kemoterapi ve hormonal tedavinin kombine terapötik stratejisinden daha fazla yararlanılabilmektedir [49].

## *HER2*

HER2 aşırı ekspresyon tümörü, ER negatif, PR negatif, HER2 pozitif alt gruba karşılık gelmektedir. HER2 aşırı ekspresyonlu meme tümörü kötü bir prognoz taşımakla birlikte, luminal meme tümörlerinden önemli ölçüde daha yüksek patolojik tam yanıt ile antrasiklin ve taksan bazlı neoadjuvan kemoterapiye daha duyarlıdır.

Bazal tümörlerin aksine, HER2 aşırı ekspresyon tümörleri için anti HER2 monoklonal antikoru, trastuzumab gibi moleküler olarak hedeflenmiş ajanlar mevcuttur [49].

### *Bazal Tip (Üçlü Negatif)*

Bazal tip ER-PR-HER2- tümörlerden oluşmaktadır. Bu ekspresyon paternleri, hormon reseptörleri ve HER2'nin eksik veya düşük ekspresyonunu ve bazal belirteçlerin, proliferasyonla ilişkili genlerin yüksek ekspresyonunu içermektedir. Diğer alt tiplerle karşılaştırıldığında, bu tümörler daha erken hasta yaşı ile ilişkili olmakla birlikte Afro-Amerikalı kadınlarda ve özellikle menopoz öncesi bireylerde daha sık görülmektedir. Bu tip meme kanseri daha düşük bir sağkalım ve daha yüksek lokal ve bölgesel nüks riskiyle ilişkilidir. Metastaz paterni bazal tümörleri diğer meme kanserlerinden ayırır, kemik hariç viseral organlara eğilim gösterir ve lenf düğümlerini içirme olasılığı daha düşüktür. Bazal tümörlerin boyutu, genel olarak, diğer alt tiplerden daha büyüktür, bir seride medyan boyutu 2 cm'dir. Ayrıca, bu sınıftaki tümörler hızlı büyüme gösterme eğilimindedir. Üçlü negatif reseptör durumu göz önüne alındığında, bazal tümörler konvansiyonel hedeflenmiş meme kanseri tedavilerine uygun değildir, bu da kemoterapiyi tedavide tek seçenek olarak bırakmaktadır [49].

Çizelge 2.4. Meme kanseri moleküler alt tipleri [48].

| Alt tip              | İmmunohistokimya                                                                                                                                  | Bazı özellikler                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Luminal A</b>     | <ul style="list-style-type: none"> <li>• ER pozitif</li> <li>• PR pozitif</li> <li>• HER-2 negatif</li> <li>• Ki67 düşük</li> </ul>               | <ul style="list-style-type: none"> <li>• En yaygın alt tip</li> <li>• Genellikle düşük dereceli tümörler</li> <li>• Genellikle erken evrelerde teşhis edilir.</li> <li>• Selektif östrojen reseptör modülatörleri ve aromataz inhibitörleri gibi hormon tedavilerine yanıt verir.</li> <li>• En düşük nüks oranı</li> </ul> |
| <b>Luminal B</b>     | <ul style="list-style-type: none"> <li>• ER pozitif</li> <li>• PR pozitif</li> <li>• HER-2 pozitif veya negatif</li> <li>• Ki67 yüksek</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Yüksek dereceli olma eğilimi</li> <li>• Luminal A'dan daha sık tekrarlama eğilimi</li> </ul>                                                                                                                                                                                       |
| <b>HER-2 pozitif</b> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• ER negatif</li> <li>• PR negatif</li> <li>• HER-2 pozitif</li> </ul>                                     | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bazı tümörler anti-HER-2 monoklonal antikorlarına uygun olabilir.</li> <li>• Çoğu hastada anti-HER-2 monoklonal antikorlara (özellikle trastuzumab) direnç gelişir.</li> </ul>                                                                                                     |
| <b>Bazal</b>         | <ul style="list-style-type: none"> <li>• ER negatif</li> <li>• PR negatif</li> <li>• HER-2 negatif</li> </ul>                                     | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Siyahi kadınlarda daha yaygındır.</li> <li>• Tanı yaşı genellikle diğer alt tiplerden daha erkendir.</li> <li>• Hormon tedavisine veya HER-2 tedavisine uygun değildir.</li> <li>• Yüksek nüks oranları ile agresif olma eğilimindedir.</li> </ul>                                 |

### Meme Kanseri Histolojik Sınıflandırılması

Meme kanseri genel olarak in situ karsinom ve invaziv karsinom olarak sınıflandırılmaktadır. İn situ meme karsinomu duktal veya lobüler olarak alt sınıflara ayrılır, büyüme paternleri ve sitolojik özellikleri iki tip arasında ayırım yapmak için temel oluşturur. Duktal karsinoma in situ (DKİS), lobüler karsinoma in situdan (LKİS) daha yaygındır ve heterojen bir tümör grubunu oluşturur. Bu sınıflandırma, değerli bir araç olmasına rağmen, kanıtlanmış prognostik önemi olan daha yeni moleküler belirteçleri kullanmadan yalnızca histolojiye dayanmaktadır (Çizelge 2.5.) [42].

Çizelge 2.5. Meme kanseri histolojik sınıflandırması [42]

| Meme Kanseri                                          |                                                                                                                         |
|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| İn Situ Karsinomu                                     | İnvaziv Karsinomu                                                                                                       |
| Duktal Karsinoma İn Situ<br>Lobüler Karsinoma İn Situ | İnvaziv Duktal<br>İnvaziv Lobüler<br>Tübüler<br>Kribiform<br>Müsinöz (Kolloid)<br>Medüller<br>Papiller<br>Mikropapiller |

*İn situ meme karsinomu*

İn situ meme karsinomu, primer bölgenin ötesine yayılmamış lokalize olan kanserdir. DKİS veya LKİS olarak iki alt sınıfa ayrılır [51]. Memenin in situ karsinomlarından en sık görülen iki alt tip duktal karsinom (%70-75) ve lobüler karsinomdur (%12-15) [18].

*Duktal karsinoma in situ*

DKİS, LKİS'a göre daha sık görülmektedir. Süt kanallarını astarıyla sınırlı olan ve süt kanallarını çevreleyen meme dokusunu veya vücudun herhangi bir bölümünü istila etmeyen meme kanseri hücreleri ile karakterizedir. Tedavi edilmediğinde zamanla yakındaki dokulara yayılabilir ve invaziv meme kanserine dönüşebilir [52]. DKİS, DKİS olmayan kadınlarda beklenenden daha yüksek risk indeksi faktörüne sahip invaziv karsinomun sonraki gelişimi için öncü bir lezyon olarak kabul edilmektedir. DKİS'e bağlı ölüm son derece nadirdir, ancak DKİS'nin ilk teşhisinden sonra meydana gelen ölüm, ya saptanamayan invaziv bileşen ya da tedaviden sonra invaziv lezyonun tekrarlaması nedeniyle [44]. Bazı DKİS vakaları tek bir büyüme modeline sahiptir, ancak çoğunluğu modellerin bir karışımını gösterir. DKİS lezyonlarının küçük bir kısmı, taşlı yüzük hücreleri, nöroendokrin farklılaşma veya çok çekirdekli dev hücreler, apokrin metaplastik hücreler ve vakalarda skuamöz özellikler gibi nadiren ek morfolojik varyasyonlar gösterir [53].

### Lobüler karsinoma in situ

LKİS, lobüllerde gelişir ve genellikle çevre meme dokusuna yayılmaz. LKİS'li kadınların yaklaşık %20-25'inin yaşamı boyunca invaziv lobüler veya invaziv duktal karsinom geliştirdiği tahmin edilmektedir [54].

Genel muayenede LKİS'in ayırt edici bir özelliği yoktur ve genellikle tesadüfen meme örneğinde veya başka nedenlerle yapılan biyopside tespit edilir. Olguların yaklaşık %70'inde multisentrik ve yaklaşık %30-40'ında bilateral olan LKİS'i ayırt etmek için iki immünohistokimyasal belirteç vardır: E-kadherin ve  $\beta$ -katenin ekspresyonlarının eksikliği ve yüksek moleküler ağırlıklı keratin ekspresyonu açısından pozitiflik. Duktal veya lobüler meme karsinomlarının her iki türü de LKİS'ten kaynaklanır. Bu nedenle, LKİS tedavi protokolünde önerilen, tamoksifen tedavisi olsun veya olmasın ömür boyu takibidir [53].

### İnvaziv meme karsinomu

Bu histolojik tipte kanser, tanı anında çevre meme dokularını istila etmiştir. Ayrıca in situ karsinomlara benzer şekilde invaziv karsinomlar; invaziv duktal, invaziv lobüler, tübüler, kribiform, müsinöz (kolloid), medüller, papiller, mikropapiller karsinomlar gibi çeşitli histolojik alt tiplere ayrılan bir tümör grubudur [53].

### İnvaziv duktal karsinomu

İnvaziv duktal karsinom (İDK) süt kanallarında gelişen ve kanalın dışındaki memenin yağ dokusuna yayılan invaziv meme karsinomlarının en yaygın olanıdır ve tüm invaziv lezyonların yaklaşık %70-80'ini oluşturur. İDK ayrıca mitotik indeks, nükleer pleomorfizm ve glandüler/tübül oluşumuna göre iyi farklılaşmış, orta derecede farklılaşmış veya zayıf farklılaşmış karsinomlar olarak alt sınıflara ayrılır [53]. İDK'lar, göreceli oranlarının dışında, DKİS varlığında veya yokluğunda stromal invazyon ile birlikte malign duktal proliferasyon gösteren meme kanserleridir. İnvaziv bileşenin görünümü, DKİS tiplerinden veya derecesinden ziyade İDK'nin alt tiplerinden belirlenmelidir. İDK, hücre tipi, salgı miktarı, tipi ve yeri, mimari özellikler de dahil olmak üzere çok çeşitli kriterlere göre birçok histolojik alt tipte sınıflandırılır [55]. İDK'lar, geniş bir morfolojik varyasyon kapsamına sahip heterojen bir gruptur. Bazıları, özel alt tipler olarak sınıflandırılmak için yeterli ayırt edici özelliklere ve

belirli davranışlara sahipken, İDK'nın yaklaşık %75'ini oluşturan çoğunluk, belirli histolojik tipler olarak sınıflandırılmak için yeterli morfolojik özellikler sergilemekte başarısız olur ve genellikle İDK olarak adlandırılır [44].

### İnvaziv Lobüler Karsinom

İnvaziv lobüler karsinom (İLK), İDK dışında biyolojik olarak farklı ikinci büyük invaziv meme kanseridir. İnvaziv meme karsinomunun %5-15'ini oluşturur ve genellikle geleneksel İDK'dan etkilenen daha ileri yaş grubundaki kadınları etkiler [44]. İLK tümör hücreleri tipik olarak yuvarlak, küçük, nispeten üniform, kohezyonsuzdur ve stromanın tek sıralı invazyonu ile karakteristik büyüme paternine sahiptir. İn situ bileşenin yokluğunda bile bu sito-mimari özelliklerin varlığında İLK tanısı konulabilir. Aksine, invaziv bir tümör, LKİS ile ilişkili olduğu için İLK olarak adlandırılmaz; bunun yerine, invaziv bileşenin tipik mikroskobik özelliklerine sahip olmalıdır [55]. Özellikle postmenopozal kadınlarda İLK insidansı daha yüksektir ve bu bulgunun kısmen hormon replasman tedavisi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir [56]. E-kadherinin mutasyon, heterozigosite kaybı veya metilasyon yoluyla inaktivasyonu, İLK'de, özellikle pleomorfik alt tipte karakteristik moleküler değişikliklerdir. İLK'nin beş farklı histolojik varyantı vardır [57].

### Tübüler karsinom

Tübüler karsinom, İDK'nin yaklaşık %2'sini oluşturan, mükemmel prognoza sahip, nadir, iyi farklılaşmış, belirgin, özel bir meme kanseri türüdür. Tübüler karsinom yaşlı kadınlarda daha sık görülür ve lenf nodu metastazı olma olasılığı daha düşüktür. Bazen, DKİS, LKİS ve düz epitel atipi gibi potansiyel olarak premalign epitelyal proliferatif meme lezyonlarının eşzamanlı oluşumu vardır [56]. Mikroskobik olarak, gelişigüzel düzenleme ile açılı, oval veya uzun tübüllerin proliferasyonu ile karakterizedir ve miyoepitelyal hücrenin dış tabakasını ve bazal membranı desteklemeden tek bir epitel tabakası ile kaplı açık lümen, tümörün çevresinde stroma ve yağın multifokal invazyonu ile karakterizedir. Hastaların yaklaşık %10-20'sinde bir veya daha fazla kadranda ayrı odaklar olarak büyüyen çok merkezli tübüler karsinom olduğu bulunmuştur [58]. Multifokalite tübülolobüler karsinomda saf tübüler karsinomdan daha sıktır. Aksiller lenf düğümlerine metastaz vakaların yaklaşık %10'unda meydana gelir; bazen tübüler karsinom ve İDK NST bölgeleri

mevcuttur. Bu karışık tümörlerin prognozu, saf tübüler karsinomdan önemli ölçüde daha kötüdür [55].

#### Kribriform karsinom

İnvaziv kribriform karsinom, uygun bir prognoz ile ilişkili özel, nadir bir meme kanseri türüdür. Meme kanseri hastalarının yaklaşık %0,8-3,5'ini oluşturur ve 53-58 yaş aralığındaki hastalarda görülme olasılığı daha yüksektir [55]. Mikroskopik olarak, kribriform DKİS'de görülene benzer bir kribriform görünüme sahip düşük dereceli atipi ile tek tip tümör hücreleri adaları vardır, ancak net bir stromal invazyon yoktur. Vakaların %25'inde küçük tübüler farklılaşma alanları görülür; eşlik eden DKİS bileşeni genellikle kribriform veya mikropapiller tiptedir. İyi farklılaşmış karışık kribriform-tübüler karsinom, kribriform ve tübüler karsinomun birleşik büyüme paternleri görüldüğünde uygulanabilir [58].

#### Müsinöz karsinom

Müsinöz karsinom meme kanserinin nadir görülen, iyi prognozlu bir alt tipidir. 60 yaş üstünün hastalığıdır ve genellikle postmenopozal kadınlarda görülür. Toplam meme karsinomlarının %2'sini oluşturur [55]. Klasik saf müsinöz karsinomlar, müsinöz olmayan infiltrate edici kanal karsinomu olmayan ancak lezyonun en az %33'ünü oluşturan hücre dışı müsin ve tümör dokusunun en az %90'ını oluşturan müsinöz farklılaşma olan tümörlerdir [44]. Memenin diğer müsin üreten karsinomları, bol hücre dışı ve/veya hücre içi müsin üretimi ile karakterize edilen çeşitli karsinomları içerir. Bunlar arasında müsinöz kistadenokarsinom, kolumnar hücreli müsinöz karsinom ve taşlı yüzük hücreli karsinom bulunur [55].

#### Medüller karsinom

Medüller karsinom, iyi tanımlanmış bir tümör kitlesi ve anaplastik morfoloji ile sunulan nadir, bir meme kanseri alt tipidir; yine de yaygın İDK'den daha iyi bir prognoza ve sonuca sahiptir. Yaklaşık 50 yaşındaki kadınlarda görülür. Özellikle BRCA1 mutasyonlarının taşıyıcılarında yaygın görülmektedir. Çoğu seride meme karsinomlarının %5'inden azını oluşturur, ancak %7'ye varan sıklık da bildirilmiştir [59]. Büyüme paterni dağınıktır; bu arada, glandüler farklılaşma, DKİS lezyonu veya müsin salgısı olmamalıdır. Aksiller lenf nodu metastazları sıktır [55].

### Papiller karsinom

İnvaziv papiller karsinom, klasik İDK'den daha iyi prognoza sahip, çoğunlukla postmenopozal kadınları etkileyen ve beyaz kadınlar arasında daha yaygın olan çok nadir bir meme kanseri alt tipidir. İnvaziv meme kanserlerinin %1-2'sinden daha azını oluşturur [55]. Memenin papiller karsinomlarının çoğu ağırlıklı olarak intraduktal lezyonlardır. İnvaziv papiller karsinom, invaziv bileşende baskın olarak %90'dan az olmayan bir papiller morfolojiye sahiptir. Papiller intraduktal lezyonlarla ilişkili invaziv papiller olmayan karsinom, invaziv papiller karsinom olarak kabul edilmez, invaziv bileşenin tipine göre sınıflandırılır. Meme tümörlerinin son DSÖ sınıflandırmasına göre, malign intraduktal papiller lezyonlar, intraduktal papiller karsinom, kapsüllü papiller karsinom ve katı papiller karsinom gibi üç tipe sahiptir [44]. Mikroskobik olarak, invaziv elementler ağırlıklı olarak papiller mimari gösterir, malign hücreler tarafından oluşturulan papillalar, miyoepitelyal hücrelerden yoksun hassas fibrovasküler çekirdeğe sahip hafif ile orta derecede nükleer atipiyeye sahiptir. Papiller DKİS vakaların %70'inden fazlasında görülebilir [58].

### Mikropapiller karsinom

Memenin invaziv mikropapiller karsinomu, histolojik olarak, dilate anjiyolenfatik damarlara benzeyen belirgin açık stromal boşluklar içinde kohezif tümör hücre kümelerinin büyümesi ile karakterize edilir. Büyüme paterni, sık deri invazyonu ve geniş nodal tutulum ile gösterildiği gibi agresif davranışın bir belirtisi olabilir [60]. Farklı prognostik davranışa sahip özel bir İDK alt tipi olarak invaziv mikropapiller karsinomun tanınması yenidir. Tüm invaziv meme kanserlerinin sadece %2'sini oluşturur; mikropapiller farklılaşma geleneksel İDK'nin yaklaşık %3-6'sında görülür. Geleneksel İDK'ye kıyasla kötü bir klinik seyire ve daha düşük bir sağkalım oranına sahiptir [55]. Lokal nüks insidansı yüksektir, lenf nodu metastazı yaygın bir özelliktir ve vakaların %70'inde görülür [61]. Meme kanseri mikropapiller karsinomunun morfolojik ve mikroskobik özellikleri, endometrium, yumurtalık ve mesanenin mikropapiller karsinomuna çok benzer. Fibrovasküler bir çekirdeğe sahip olmayan psödopapiller yapılarda düzenlenmiş, berrak boş alanlarda serbest yüzen veya lenfovasküler boşluklara benzeyen içi boş küçük epitel kümeleri vardır. Tümör hücreleri, neoplastik hücrelerin apikal kutbunun iç lümen duktal boşluktan ziyade stromal boşluğa baktığı, ters polaritenin karakteristik bir özelliğini gösterir [44].

### 2.2.2. Meme kanseri risk faktörleri

Meme kanserinin patofizyolojisi çok boyutludur ve hala tam olarak anlaşılamamıştır. Meme kanseri gelişme riskini artırabilecek cinsiyet, yaş, östrojen, aile öyküsü, gen mutasyonları ve yaşam tarzı gibi sayısız risk faktörü vardır (Çizelge 2.6.) [34, 35]. En önemli risk faktörleri genetik yatkınlık, uzun süreli endojen ve ekzojen hormon replasman tedavisi (HRT), iyonlaştırıcı radyasyon, fazla meme yoğunluğu ve atipik hiperplazi öyküsüdür. Batı tarzı beslenme, obezite ve alkol tüketimi de meme kanseri insidansının artmasına katkıda bulunmaktadır [40]. İlerleyen yaş ve kadın cinsiyeti en yaygın risk faktörleridir. Genetik mutasyonlar, özellikle BRCA1 ve BRCA2, meme kanserlerinin yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır [62]. Bilinen diğer risk faktörleri arasında DKİS öyküsü, yüksek vücut kitle indeksi (VKİ), ilk doğumu 30 yaşından sonra yapmış olmak veya hiç doğum yapmamış olmak, erken menstrüel döngü başlangıcı, ailede meme veya yumurtalık kanseri öyküsünün bulunması, geç menopoza ve postmenopozal hormon tedavisi bulunmaktadır. Postmenopozal hormon tedavisi alan kadınlar arasında, beyaz ırk, normal VKİ'ne sahip ve yoğun memeye sahip kadınlar yüksek risk altındadır. Ayrıca daha önce meme radyasyonu öyküsü olan kadınlar da artmış bir risk altındadır [63].

Çizelge 2.6. Meme kanserinde risk faktörleri

|                         |                                                                                    |
|-------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Cinsiyet</b>         | Kadınlarda görülme sıklığı erkeklere oranla 100 kat daha fazladır.                 |
| <b>Yaş</b>              | 40 yaş ve üstü kadınlarda daha sık görülmektedir.                                  |
| <b>Östrojen</b>         | Uzun süreli endojen ve ekzojen hormon replasman tedavisi almak.                    |
| <b>Aile öyküsü</b>      | Birinci derece akrabada meme veya yumurtalık kanseri tanısı almış kişilerin olması |
| <b>İlk menarş yaşı</b>  | 12 yaşından önce olması                                                            |
| <b>İlk doğum yaşı</b>   | İlk doğumu 30 yaş ve sonrasında yapmış olmak veya hiç doğum yapmamış olmak         |
| <b>Gen mutasyonları</b> | BRCA1, BRCA2, TP53, PTEN, STK11, CDH1, PALB2, CHEK2, NBN, ATM, NF1                 |
| <b>Yaşam tarzı</b>      | Alkol ve sigara kullanımı, obezite, dengesiz beslenme vb                           |
| <b>Diğerleri</b>        | İyonlaştırıcı radyasyon, yüksek meme yoğunluğu ve atipik hiperplazi vb             |

### Yaş

Cinsiyetin yanı sıra, yaş meme kanserinin en önemli risk faktörlerinden biridir, çünkü meme kanseri insidansı artan yaşla oldukça ilişkilidir. Bu nedenle, 40 yaş ve üstü kadınlarda mamografi taraması yapılması gerekmektedir. Meme kanseri, 60 yaşından önce etkilene riski %49 ile en önde gelen türdür.[64].

### Aile Öyküsü

Meme kanseri vakalarının yaklaşık dörtte biri aile öyküsü ile ilgilidir. Anne veya kız kardeşinde meme kanseri olan kadınlar bu hastalığa daha yatkındır. İngiltere'de 113.000'den fazla kadınla yapılan bir kohort çalışması, birinci derece akrabalarında meme kanseri olan kadınlarda bu hastalığın gelişme riskinin, olmayan kadınlardan 1,75 kat daha yüksek olduğunu gösterilmiştir. Ayrıca, meme kanseri olan iki veya daha fazla birinci derece akrabaları olan kadınlarda risk 2,5 kat ve üzerindedir. Meme kanserine kalıtsal duyarlılık kısmen BRCA1 ve BRCA2 gibi meme kanseri ile ilgili genlerin mutasyonlarına atfedilmektedir [65].

### Reprodüktif öykü

Erken menarş, geç menopoz, geç yaşta ilk gebelik ve düşük parite gibi üreme faktörleri meme kanseri riskini artırabilmektedir. Menopozdaki her 1 yıllık gecikme meme kanseri riskini %3 arttırmaktadır. Menarştaki her 1 yıllık gecikme veya ek doğumlar meme kanseri riskini sırasıyla %5 veya %10 azaltır [66-68]. Yakın zamanda yapılan Norveç kohort çalışması, risk oranının 35 yaş altı geç ilk doğumda ile 20 yaş altı erken doğum arasında 1,54;  $\geq 30$ 'da 1,6 ile  $<25$  yaş arası 1,2 bağıl oranının olduğunu göstermiştir [69]. Üreme faktörleri ER durumu ile güçlü bir korelasyona sahiptir. ER + ile ER- meme kanserinde parite açısından karşılaştırıldığında OR (bağıl oranı):  $\geq 3$  doğum yapmış kişilerde 0,7; çocuksuz olanlarda 0,9 ve ilk doğum yaşı 30'dan büyük olanlarda OR=1,6 iken  $<25$  olan kişilerde 1,2 olarak gözlemlenerek güçlü bir şekilde ilişkili olduğu bildirilmiştir [70].

### Östrojen

Hem endojen hem de ekzojen östrojenler meme kanseri riski ile ilişkilendirilmektedir. Endojen östrojen genellikle menopoz öncesi kadınlarda yumurtalık tarafından üretilmektedir ve yumurtalıkların alınmasının meme kanseri riskini azaltabileceği bildirilmiştir [71]. Ekzojen östrojenin ana kaynakları oral kontraseptifler ve HRT'dir. 1960'lardan beri yaygın olarak kullanılan oral kontraseptiflerin formülasyonları yan etkileri azaltmak için geliştirilmiştir. Ancak bağıl oranı, Afro-Amerikalı ve İran kadınlar için hala 1,5'in üzerindedir [72, 73]. Bununla birlikte, 10 yıldan az süreli oral kontraseptif kullanımı meme kanseri riskini arttırmamaktadır [68]. Birçok çalışmada HRT kullanımının meme kanseri riskini artırabileceği gösterilmiştir. İngiltere'de Milyon Kadın Çalışması, mevcut HRT kullanıcıları ile hiç kullanmayanlar arasında 1,66 göreceli risk olduğunu bildirmiştir [74]. Asya'da 22.929 kadından oluşan kohort çalışmasında, HRT kullanımından sonra sırasıyla 4 ve 8 yıl boyunca 1,48 ve 1,95 risk oranları gösterilmiştir [75]. Bununla birlikte, iki yıl kullanımdan sonra HRT'nin kesilmesinin önemli ölçüde meme kanseri riskini azalttığı gösterilmiştir [76]. HRT tedavisi alan meme kanserli hastalarda nüks oranı da yüksektir ve yeni bir meme tümörü için risk oranı 3,6'dır [77]. 2003 yılında yayınlanan Kadın Sağlığı Girişimi'nin randomize kontrollü çalışmasında HRT'nin olumsuz etkilerinin bildirilmesi ile Amerika'daki meme kanseri insidansı, HRT kullanımındaki azalma nedeniyle yaklaşık %7 düşmüştür [78].

### Yaşam Tarzı

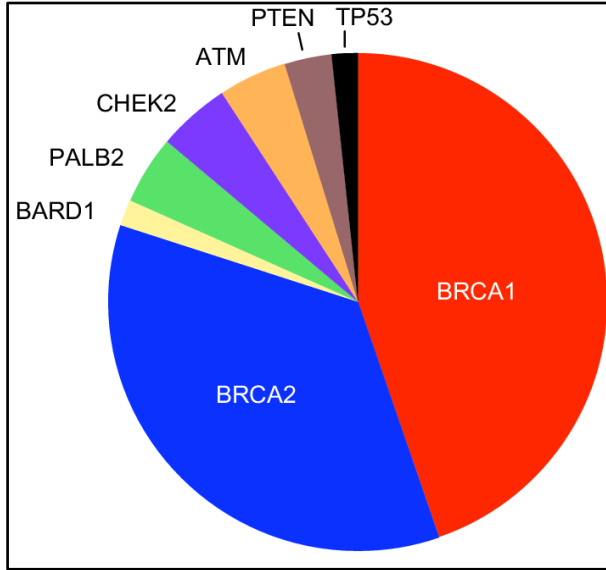
Alkol tüketiminin ve diyet yağ alımının fazla olduğu modern yaşam tarzları meme kanseri riskini artırabilmektedir. Alkol tüketimi, kandaki östrojene bağlı hormonların seviyesini yükselterek östrojen reseptör yollarını tetikleyebilmektedir. 53 adet epidemiyolojik çalışmaya dayanan meta-analiz, günde 35-44 gram alkol alımının, meme kanseri riskini %32 artırabildiğini ve günlük her 10 gram alkol için bağıl riskte %7,1 artış olduğunu göstermiştir [79, 80]. Aşırı doymuş yağ içeren modern batı diyeti meme kanseri hastalarında mortalite (bağıl risk = 1,3) ve kötü prognoz ile ilişkilidir [81]. Sigara ve meme kanseri riski arasındaki ilişki tartışmalı olmakla birlikte, emzirmeyen kadınların meme sıvısında sigara dumanında bulunan mutajenler tespit edilmiştir. Hem sigara kullanan hem de içki içen kadınlarda meme kanseri bağıl riski 1,54 olarak bildirilmektedir [82]. Yapılan araştırmalar erken yaşlarda sigara içmenin meme kanseri için yüksek bir risk taşıdığını göstermektedir [83-86].

### Genetik Mutasyonlar

Kalıtım meme kanseri için en önemli risk faktörüdür. Meme kanserinin yaklaşık %15-20'si ailesel sebeplidir ve kadının bir veya iki birinci/ikinci derece yakınında meme kanserinin görülme riskini önemli ölçüde arttırmaktadır. Oldukça penetrans otozomal dominant yatkınlık genleri olan BRCA1 ve BRCA2'nin keşfinden sonra, orta ile yüksek meme kanseri riski oluşturan birkaç meme kanseri geni daha tanımlanmıştır. Ailesel riskin yaklaşık %20'sini yüksek riskli genler BRCA1, BRCA2, TP53, STK11, CD1 ve PTEN, %5'ini orta riskli genler, %18'ini 180'den fazla düşük riskli lokus oluşturmaktadır [87].

Meme kanserine kalıtsal bir yatkınlık, yüksek riskli kadınlarda tarama ve takip önerilerini önemli ölçüde etkilemekle birlikte, kişisel ve/veya aile öyküsü olan hastalarda %30'un altında yatkınlığa sebep olan gen tanımlanmaktadır. Kalıtsal vakaların %25 kadarı, yaşam boyu %80'e varan meme kanseri riskine neden olduğu tanımlanmış az sayıdaki ve yüksek penetrant BRCA1, BRCA2, PTEN, TP53, CDH1 ve STK11 genlerinden birindeki mutasyondan kaynaklanmaktadır (Şekil 2.3.). Vakaların %2-3'ü, riskin iki kat artışına sebep olan, orta derece penetrant CHEK2, BRIP1, ATM ve PALB2 genlerindeki bir mutasyona bağlıdır. Poligenik olarak meme

kanseri riskine katkıda bulunan yaygın ve düşük penetrant alellerin araştırılması ile tek nükleotid polimorfizmi (SNP'ler) ortaya çıkarmıştır [88].



Şekil 2.3. Gen mutasyonuna sahip bazı genler ve sıklık diyagramı [89]

### *BRCA1 ve BRCA2*

BRCA1 geni, hücre döngüsü kontrol noktası aktivasyonunun yanı sıra transkripsiyonel düzenleme ve apoptoz dahil olmak üzere genomik stabiliteyi korumak için bir dizi hücresel yolda işlev gören çok alanlı bir proteini kodlamaktadır. BRCA1 ve BRCA2 özellikle çift zincirli DNA kırılmalarının homolog rekombinasyonunda DNA onarımı için önemlidir. BRCA1 ve BRCA2 mutasyonları, BRCA1 için %50-80, BRCA2 için %10-25'tir ve yaşam boyu meme kanseri riskini oldukça artırmaktadır. Göreceli meme kanseri riskinin BRCA1 için 11,4 ve BRCA2 için 11,7 olduğu bildirilmektedir. Bu genlerin patojenik varyantları, tüm kodlama dizisinin hemen hemen tamamında yer almaktadır. BRCA1 ile ilişkili meme kanserlerinin çoğu bazal benzeri bir fenotipe sahiptir ve ayrıca ER, PR, HER2'nin (bazal tip) reseptörlerinin aşırı ekspresyonunun olmaması ile karakterizedir. Hem BRCA1 hem de BRCA2 tümörleri yüksek histolojik dereceye sahiptir, BRCA1 tümörleri daha sıklıkla kötü diferansiye iken (derece 3), BRCA2 tümörleri ise orta veya kötü diferansiyedir (derece 2 ve 3) [90, 91].

### *TP53*

En fazla çalışılan tümör baskılayıcı genlerden biri olan tümör proteini 53 (TP53) yabancıl tip TP53 aktivitesinin kaybı birçok farklı tümör tipinde sıklıkla tespit edilmektedir. Bu protein, hücre döngüsünü, apoptozu, hücrel yaşlanma metabolizmasını düzenlemektedir. Kalıtsal TP53 mutasyonları, nadir görülen otozomal dominant bozukluk olan Li-Fraumeni sendromu ile ilişkilidir. Kadın mutasyon taşıyıcılar, erkeklere göre %73 ve yaşam boyu %100 kanser riskine sahiptir. Meme kanseriyle ilişkili TP53 varyantları için artan meme kanseri riskinin 100 katın üzerinde olduğu bildirilmiştir [92, 93].

### *PTEN*

PTEN, PI3K/AKT-mTOR sinyal yolunda rolleri olan çok işlevli bir proteini kodlar. Hastalığa neden olan varyantların taşıyıcıları üzerinde yapılan araştırmalar, erken başlangıç yaşıyla birlikte, yaşam boyu meme kanseri riskinin oldukça yüksek olduğunu göstermektedir. Taşıyıcılar ayrıca, tiroid ve endometriyal kanser başta olmak üzere diğer bazı maligniteler açısından da yüksek risk altındadır [94].

### *STK11*

Tümör baskılayıcı STK11, hücre döngüsü regülasyonu ve apoptoza ilerleyen önemli bir gendir [95]. Ayrıca bu genin 60 yaşına kadar yaşam boyu meme kanseri riskini %32-54 oranında etkilediği bildirilmektedir. STK11 mutasyon taşıyıcıları herhangi bir kanser için %85'e kadar kümülatif yaşam boyu riskine sahiptir [96].

### *CDH1*

CDH1 geni, hücreden hücreye adhezyondan sorumlu bir proteini kodlar ve hücre invazyonu baskılayıcı olarak işlev görür [97]. CDH1 gen varyant taşıyıcılarının, tahmini olarak göreceli meme kanseri riski 6,6'dır. Ailesinde mide kanseri öyküsü olmayan bilateral lobüler meme kanserli kadınlarda CDH1 mutasyonları olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, lobüler meme kanserinin bağımsız bir E-kadherin sendromu olarak yeni CDH1 mutasyonları tanımlanmıştır [98].

### *PALB2*

PALB2 geni, genomik bütünlüğün korunmasında önemli rol oynayan bir proteini kodlamaktadır. Başlangıçta BRCA2 ile etkileşime giren bir protein olarak tanımlanan PALB2'nin, temel BRCA2 tümör baskılayıcı işlevleri için çok önemli olduğu gösterilmiştir [99]. PALB2 ilk olarak 2007'de orta derecede penetrasyona sahip bir risk geni olarak meme kanseri ile ilişkilendirilmiştir. Bir meta-analizde PALB2 mutasyonlarının, patojenik mutasyon taşıyıcılarında 5,3'lük bir kümülatif bağıl risk oluşturduğunu göstermiştir [100].

### *CHEK2*

Aktive edilmiş CHEK2 (Checkpoint kinase 2), tümör baskılayıcı genlerden olan TP53 ve BRCA1'i içeren azalarak düzenlenen substratların fosforilasyonunda önemli bir rol oynar [101]. Bu mutasyonlu gen ilk olarak Li-Fraumeni hastalarında bulunmuştur. c.1100delC'yi kesen mutasyonlardan birinin farklı popülasyonlarda meme kanseri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. CHEK2 1100delC varyantının yanı sıra, del5395 ve IVS2+1G>A varyantları da meme kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir [102]. Meme Kanseri Derneği Konsorsiyumu'ndan (BCAC) elde edilen verileri içeren bir çalışma, CHEK2 1100delC taşıyıcılarında göreceli meme kanseri riskinin 2,26 olduğunu göstermiştir [103]. CHEK2 1100delC ile ilişkili meme kanseri riski, ailesinde meme kanseri öyküsü olan taşıyıcılarda, göreceli riski netlik taşımayanlara göre belirgin şekilde daha yüksek bulunmuştur. CHEK2 1100delC taşıyıcılarının kontralateral meme kanseri gelişme riskinin özellikle ER pozitif meme kanseri için taşıyıcı olmayanlarla karşılaştırıldığında 3,5 kat fazla ve daha kötü bir prognoza sahip olduğu bildirilmiştir [104].

### *NBN*

MRE11A-RAD50-NBN (NBS1), çift zincir kırıklarının tespiti ve erken işlenmesi için önemli olan evrimsel olarak korunmuş bir protein kompleksidir (MRN kompleksi). Heterozigot NBN mutasyonlarının taşıyıcıları, bağıl olasılık oranı 3,1 olan meme kanseri riskine sahiptir [105]. Yedi çalışmayı içeren bir meta-analizde, 2,7'lik göreceli risk ile c.657del5 varyantı ile ilişkili orta derecede artmış meme kanseri riski olduğu gösterilmiştir [106].

## ATM

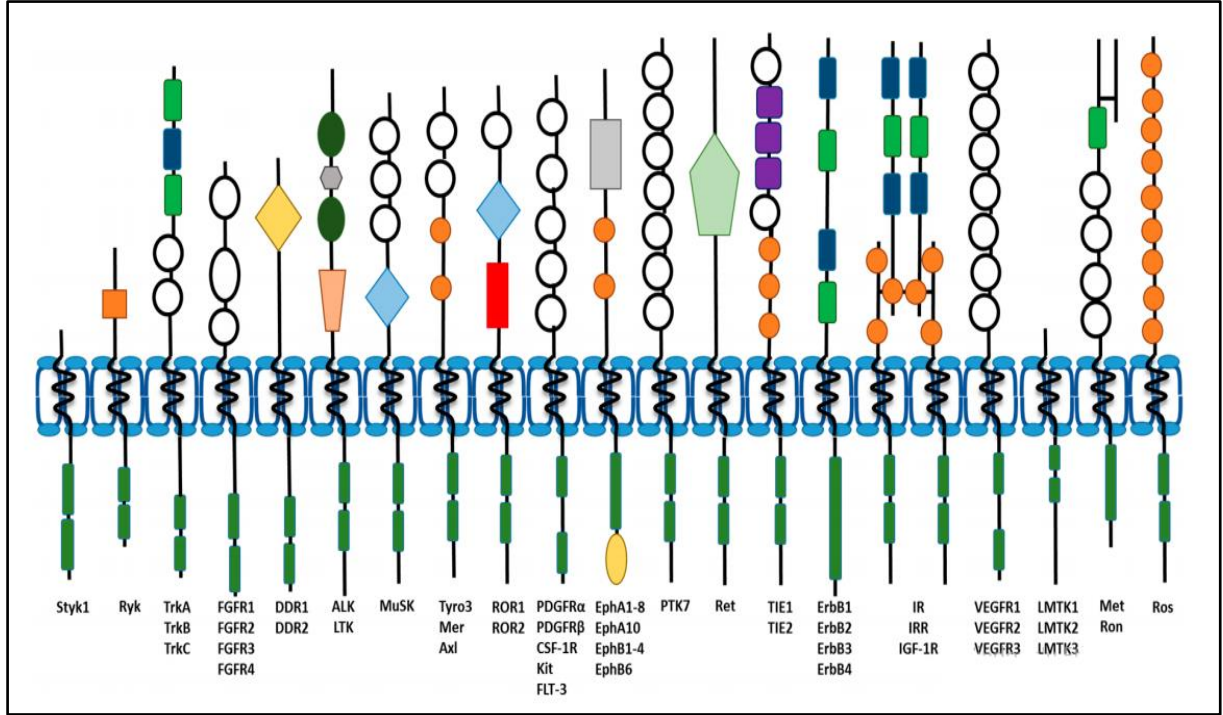
Ataksi-telanjektazi mutasyona uğramış (ATM) gendeki homozigot veya bileşik mutasyonlar, serebellar ataksi, immünolojik yetersizlik, iyonlaştırıcı radyasyona aşırı duyarlılık ve artan kanser riski ile karakterize nörodejeneratif bir bozukluğa neden olur. ATM, hasar yanıt yolundaki TP53, BRCA1 ve CHEK2 proteinleri ile azalarak düzenlenme yoluyla çift zincir kırıklarının DNA onarımında yer alan bir protein kinazı kodlar [107]. Yapılan bir meta-analiz, 2,8'lik bağıl meme kanseri riskinde ATM mutasyonlarının heterozigot taşıyıcılarını bildirmiştir [100]. ATM varyantı p.Val2424Gly (c.7271T>G), diğer varyantlara göre daha yüksek bir riske sahiptir ve baskın-negatif mutasyon örneğini oluşturmaktadır [108].

## NF1

Neurofibromin 1 (NF1) geninin protein ürünü, Ras sinyal iletim yolunun negatif düzenlenmesiyle bir tümör baskılayıcı olarak işlev görür [109]. Fin popülasyonunda yapılan bir kohort çalışmasında, yaşam boyu %59,6 meme kanseri riski bulunmuştur. Aşırı meme kanseri riski orta düzeydeyken 40 yaşın altındaki kadınlarda en yüksek riske sahip oldukları bildirilmiştir [110].

### 2.3. Reseptör Tirozin Kinazlar

RTK'ler, 20 alt aileye bölünmüş 58 proteinle insanlarda örneklenen bütünleşik bir zar protein ailesini temsil etmektedir. Bunlar arasında, RET, ErbB (epidermal büyüme faktörü reseptörü), VEGFR (vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü), PDGFR (trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü) ve IR (insülin benzeri reseptör) gibi reseptör ailelerini içermektedir (Şekil 2.4.) [37]. RTK'ler, hücre dışı uyaranlara yanıt olarak çeşitli hücre içi sinyal kaskadlarını tetiklemek için önemli olan entegre hücre yüzeyi membran reseptörleridir. Çeşitli hücre fenotiplerde, özellikle büyüme, çoğalma, göç, farklılaşma ve hayatta kalmada önemli roller oynarlar [3].



Şekil 2.4. İnsan reseptör protein-tirozin kinazlar. Yer alan reseptörlerin kısaltmaları: EGFR, epidermal büyüme faktörü reseptörü; InsR, insülin reseptörü; PDGFR, trombosit kökenli büyüme faktörü reseptörü; VEGFR; vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü; FGFR, fibroblast büyüme faktörü reseptörü; KLG/CCK, kolon karsinomu kinaz; NGFR, sinir büyüme faktörü reseptörü; HGFR, hepatosit büyüme faktörü reseptörü, EphR, ephrin reseptörü; Axl, bir Tyro3 PTK; TIE, endotel hücrelerinde tirozin kinaz reseptörü; RYK, tirozin kinazlara bağlı reseptör; DDR, diskoidin alan reseptörü; Ret, transfeksiyon sırasında yeniden düzenlenmiş; Bazı epitelyal hücre tiplerinde ROS, RPTK ekspresyonu; LTK, lökosit tirozin kinaz; ROR, reseptör yetim; MuSK, kas spesifik kinaz; LMR, Lemur (11)

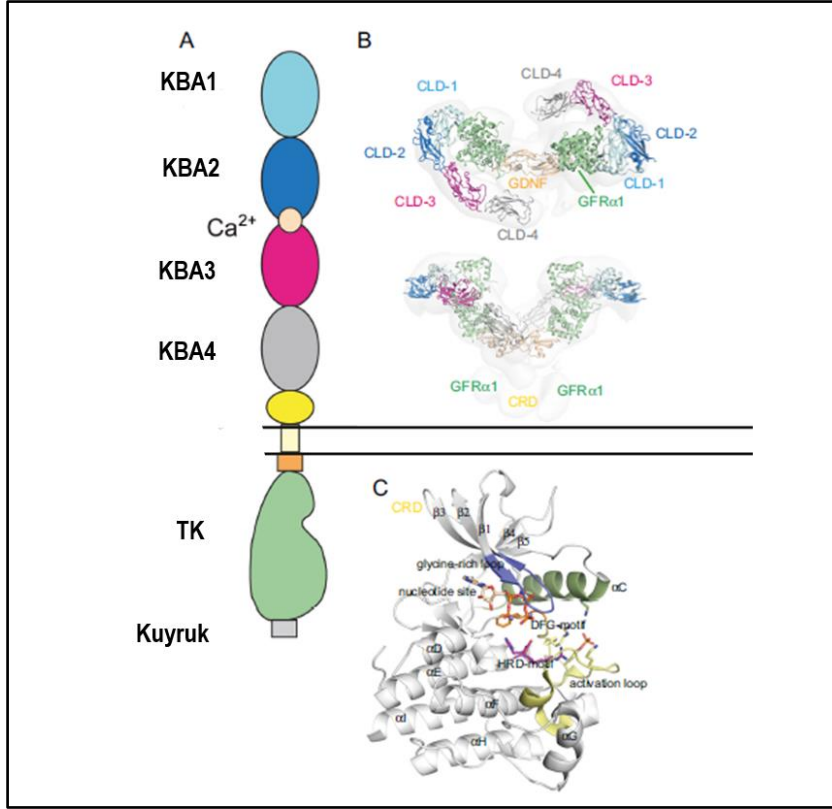
Tüm RTK'ler hücre dışı bir ligand bağlama bölgesi, alfa helikal yapıda tek bir transmembran bölge ve buradan devam eden sitoplazmik bir bölge ile benzer bir alan organizasyonu sergilemektedir. Farklı RTK'lerin benzersiz ligand bağlama özellikleri; fibronektin III benzeri tekrarlar, sistein bakımından zengin motifler, immüoglobulin benzeri bölgeler, lösin ve glisin açısından zengin tekrarlar/motifler gibi hücre dışı alandaki özellikler ile belirlenmektedir [111]. Ligandın RTK monomerlerine bağlanması, hücre içi tirozin kinaz alanlarının aktivasyonuna, tirozin kalıntılarının trans-otofosforilasyonuna ve hücre içi sinyal proteinlerinin aktivasyonuna yol açan dimerizasyon ve konformasyonel değişiklikleri indükler [112]. Ligand bağlanması üzerine monomer RTK'ler, ligand aracılı veya reseptör aracılı bir şekilde yardımcı moleküllerin bir kombinasyonunu içeren mekanizmalar yoluyla homodimerizasyona veya heterodimerizasyona uğramaktadır. Bunu

takiben, tirozin kinaz alanlarının trans-otofosforilasyonu yoluyla aktivasyonu ve azalarak düzenlenen sinyal efektörlerinin aktifleşmesi gerçekleşir. Fosforile tirozin motiflerine bağlanan Src-Homology 2 (SH2) ve Fosfo-tirozin bağlanma alanı içeren proteinler, aktive edilmiş bir RTK'ye ilk yanıt veren sinyal efektörleridir. Efektör alımı için ek fosfotirozin bağlanma bölgeleri sağlayan yerleştirme proteinlerini (GAB1, FRS2, IRS1), adaptör proteinlerini (SHC1, GRB2), ubiquitin ligazlarını (CBL), fosfatazları (SHP2) ve transkripsiyonel faktörleri (STAT3) içerir. RTK'lerin azalarak düzenlenen yolunda, Ras-MAPK, PI3K-AKT, STAT3 ve PLC- $\gamma$ /PKC olmak üzere RTK sinyalleşmesi ile birlikte iyi aydınlatılmış dört sinyal yolağı bulunmaktadır [113]. Proliferasyon ve hayatta kalmadaki doğal rolleri nedeniyle, düzensiz RTK sinyali birçok kanserde rol oynamaktadır. RTK'ler, aşırı ekspresyon, mutasyon/translokasyon ve atipik ligand indüksiyonu tarafından yönlendirilen mekanizmalar yoluyla anormal şekilde aktive edilebilmektedir [114].

## 2.4. RET

RET, 10. kromozomda 10q11.2 üzerinde lokalize edilmiş RET protoonkogen tarafından kodlanan ve beyin normal gelişimi, periferik, sempatik ve parasempatik sinir sistemleri, nöroendokrin tiroid kalsitonin üreten C-hücreleri, tiroid, akciğer ve diğer dokular için gerekli olan bir transmembran RTK'dir [4]. RET'in onkojenik potansiyeli, ilk olarak 1985 yılında, RET kodlama sekansının bir kısmını içeren insan lenfoma DNA'sının ekzojen segmentinin, NIH/3T3 hücrelerinin fibroblastlarını dönüştürmesinin anlaşılması ile tanımlanmıştır [115, 116].

Olgun RET reseptörü, kadherin benzeri tekrarlar içeren büyük bir hücre dışı alanı ve protein yapısı ile ligand etkileşimleri için önemli olan sistein açısından zengin bir bölge ile plazma membranını kapsar. Ekstraselüler bölgesinde kadherin benzeri alanlara sahip tek RTK'dir. Dört kadherin benzeri alan, bir kalsiyum bağlanma bölgesi, sistein bakımından zengin motif, tek bir membran-genişleyen bölge, iki yan düzenleyici bölge, jukstamembran ve C-kuyruğu ile aktif tirozin kinaz bölgesini içeren hücre içi bölgeden meydana gelir. RET reseptör tirozin kinaz üç fonksiyonel bölgeye sahiptir: dört kadherin benzeri alan (KBA 1 ile 4) içeren hücre dışı ve sistein açısından zengin alan (SZA), hidrofobik transmembran bölgesi ve hücre içi ikili tirozin kinaz alanı (TK) (Şekil 2.5.) [117].



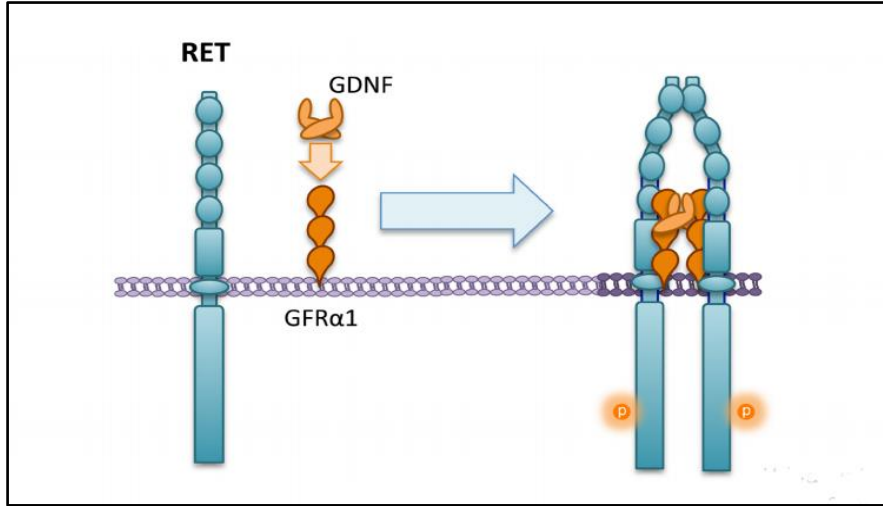
Şekil 2.5. A) RET reseptör tirozin kinazın üç fonksiyonel bölgesi, B ve C) RET reseptör tirozin kinazın üç fonksiyonel bölgesinin 3 boyutlu moleküler görüntüsü [117].

Kadherinler, adezyon özellikleri hücre dışı bölgedeki yaklaşık 110 kalıntının tekrarlanan modüllerine (kadherin alanlarına) bağlı  $Ca^{+2}$  bağlı hücre yapışma proteinleridir. Her bir alan arasında genellikle bir  $Ca^{+2}$  bağlama bölgesi bulunur. Kadherinler geniş bir süper aileden oluşur. RET'in hücre dışı bölgesinin kadherin benzeri alanın dört tekrarını ve  $Ca^{+2}$  iyonlarını bağlama yeteneği, RET'i kadherin süper ailesinin uzak bir üyesi yapar. RET'in bir kadherin bir tirozin kinaz ata genlerinin rekombinasyonu ile ortaya çıkmış olabileceği ileri sürülmektedir. Sistein bakımından zengin bölgedeki 28 sistein kalıntısının yirmi yedi tanesi, doğru intramoleküler disülfid bağlarının oluşumunda kritik bir rol oynamaktadır. Molekülün hücre dışı alanı birkaç glikozilasyon bölgesi içerir. Tam glikozile olan 170 kDa RET proteini, hücre zarındaki reseptörün olgun formudur. 150 kDa formu ise glikozilasyona sahip olmayan ve sadece endoplazmik retikulumda bulunan olgunlaşma ürünüdür [117].

RET' in üç izoformu vardır. Uzun, orta ve kısa RET izoformları sırasıyla RET51, RET43 ve RET9 olarak adlandırılır. İki ana izoform olan RET51 ve RET9, çok çeşitli

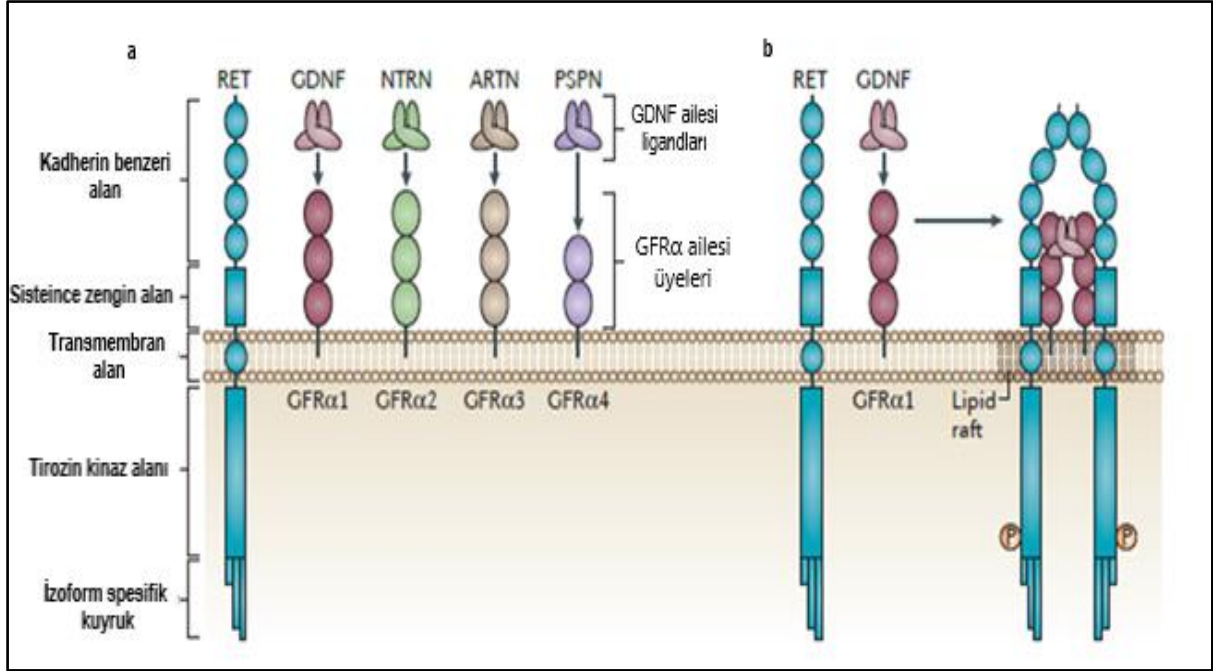
türlerde yüksek oranda korunmuştur. RET51 ve RET9 ile ilişkili sinyal kompleksleri belirgin bir şekilde farklıdır, bu da farklı izoformların RET'in çeşitli fizyolojik işlevlerini yerine getirdiğini düşündürmektedir [117].

RET, nörotrofik faktörlerden olan GDNF ailesinin büyüme faktörlerini bağlayan çok moleküllü bir kompleksin sinyal reseptörüdür. RET sinyalizasyonuna aynı zamanda NRTN, ARTN ve PSPN de dahil olmak üzere, GFL'lerin çözünabilir proteinlerinin bağlanması aracılık etmektedir. GDNF' nin yanı sıra bu ailede bulunan diğer GFL'ler, GFR $\alpha$  proteinleri ile birleşir ve ardından RET'e bağlanarak aktive edilir (Şekil 2.6.).



Şekil 2.6. GDNF- GFR $\alpha$ 1'in RET reseptörüne bağlanması [118]

GFR $\alpha$ , hücre içi veya transmembran bölgeleri olmayan ve hücre yüzeyine glikozilfosfatidil inositol (GPI) bağlantısı ile bağlanan ligand bağlayıcı koreseptörlerdir. GDNF esas olarak GFR $\alpha$ 1 ile birleşir, NRTN, ARTN ve PSPN ise sırasıyla GFR $\alpha$ 2, GFR $\alpha$ 3 ve GFR $\alpha$ 4 ile birlikte RET'e bağlanır (Şekil 2.4.; a) [119]. Çoğu RTK'den farklı olarak RET, ligandlarını doğrudan bağlamaz. RET tirozin kinaz aktivitesini ekstraselüler ortamda gerçekleştirmek için GFL'lelerin GPI ile ilişkilendirilmiş koreseptörleri GFR $\alpha$  ailesi (GFR $\alpha$ 1–4) ile kompleksin bir araya gelmeleri gerekir, daha sonra GFL-GFR $\alpha$  kompleksi RET ile heterodimerleri oluşturur (Şekil 2.7.; b) [120].



Şekil 2.7. a) GDNF, NRTN, ARTN ve PSPN'in GFR $\alpha$  ailesi reseptörlerine bağlanması, b) RET-GFL-GFR $\alpha$  kompleksi

İlgili GFR $\alpha$  koreseptörüne bağlanan ligand, hücreSEL hayatta kalma, farklılaşma, proliferasyon, migrasyon ve kemotaksiyi düzenlemede önemli bir role sahip olan, farklı hücre içi sinyal kaskad yollarının aktivasyonuna yol açan hücre içi tirozinlerin RET dimerizasyonunu ve trans fosforilasyonunu stimüle eder [121]. Ligand bağlanmasından sonra RET'in aktivasyonu, tirozin kinazın aktivasyonu ile sonuçlanır ve çeşitli hücre içi tirozin kalıntıların otofosforilasyonuna yol açar. Bu olayın iki sonucu vardır: esas olarak Tyr900 ve Tyr905'in aracılık ettiği aktif kinaz konformasyonunun korunması ve sinyal iletim proteinleri için yerleşim yerlerinin oluşturulmasıdır. Ligand bağlanmasıyla RET, RAS/hücre dışı sinyal ayarlı protein kinaz 1 ve 2 (ERK1/2), fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K/AKT), c-Jun amino-terminal kinaz (JNK), p38 mitojenle aktive edilen protein kinaz (p38MAPK), sinyal transdüseri ve transkripsiyon aktivatörü 1/3 (STAT1/3) ve fosfolipaz C- $\gamma$  (PLC $\gamma$ ) dahil olmak üzere çok sayıda sinyal yolunu aktive eder [122].

#### 2.4.1. Meme kanserinde RET

RET aktivasyonunun çeşitli kanser tiplerinde proliferasyonu, ilerlemeyi ve metastazı arttırdığı gösterilmiştir [123]. Birçok meme tümörü gen büyümesi ve HER2, EGFR, IGFR ve FGFR gibi RTK'lerin tümör büyümesine katkıda bulunan aşırı ekspresyonu ile karakterizedir [124-126]. Bir proto-onkogen olarak tanımlanan RET'teki

değişiklikler ilk kez 1990'da tiroid kanserinde ve yirmi yıldan fazla bir süre sonra akciğer kanserlerinde tanımlanmıştır [115, 127-129]. Pankreatik duktal adenokarsinomlu hastaların %40-65'inde ve prostat kanserlerinin %20-75'inde RET ekspresyonunda artış olduğu saptanmıştır ve bu durum kötü prognozun bir göstergesi olarak düşünülmektedir [130, 131]. Ayrıca melanom, gliom, nöroblastom, renal hücre karsinomları, endometriyal, baş ve boyun kanserleri dahil olmak üzere birçok kanser türünde yüksek RET ekspresyonu gösterilmiştir [132]. Aktif onkojenik RET oluşumuna yol açan mutasyonların, nöroendokrin organları etkileyen dominant kalıtsal bir kanser sendromu olan MEN2'ye neden olduğu bulunmuştur. RET'in onkojenik mutasyonlarına sMTK'lerinin yaklaşık %50'sinde rastlanmaktadır [133].

Meme kanserinde RET'teki genomik değişiklikler yeni tanımlanmış olmakla birlikte, bağımsız çalışmalardan elde edilen sonuçlar RET ekspresyonundaki artışın meme kanseri patojenezinde ve tedaviye yanıtta anahtar bir işleve sahip olduğunu düşündürmektedir [6, 134, 8, 135, 136]. RET geni, meme kanserinde önemli bir transkripsiyon faktörü olan ER  $\alpha$  için doğrudan bir hedeftir ve meme kanseri ile ilişkili RET ekspresyonu ilk olarak esas olarak ER+ meme tümöründe bildirilmiştir [137, 133]. Bununla birlikte yapılan birçok çalışmada ER-, üçlü negatif (ÜN) ve HER2 meme kanseri alt gruplarında yüksek RET seviyelerinin bulunması RET aşırı ekspresyonunun ER+ alt grubuyla sınırlı olmadığı gösterilmiştir [134, 138-140]. RET, invaziv meme kanserlerinin %30-70'inde eksprese edilmektedir ve ekspresyon ER pozitif tümörlerinde nispeten daha sık görülmektedir. Otokrin aktivasyonuna yol açan RET ve GFL'lerin birlikte ekspresyonu bazı meme tümörlerde saptanmış olup metastaz, nüks ve azalmış sağkalım ile ilişkilidir [133, 134, 141, 135].

Tekrarlayan meme kanserinde tümörlü doku hem normal hem de primer tümörlü dokularla karşılaştırıldığında RET protein ekspresyon seviyelerinin önemli ölçüde arttığı görülmüştür. Ayrıca artmış RET ekspresyonunun, daha büyük tümör boyutu, daha ileri tümör evresi, düşük metastazsız sağkalım ve daha düşük genel sağkalım ile ilişkili olduğu bildirilmektedir [137, 133-135, 142]. Meme tümörlerinde in vivo artan RET ekspresyon seviyelerinin selektif östrojen modülatörleri (tamoksifen gibi), östrojen biyosentezini bloke eden ajanlar (aromataz inhibitörleri gibi) ve ER antagonistlerini (fulvestrant gibi) içeren endokrin tedavilere karşı direnç ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [134, 143, 135]. Östrojeni hedef alan tedaviler, hormon reseptörü

pozitif meme tümörü olan kadınlar için önemli bir adjuvan seçeneğini oluşturmaktadır. Ancak edinilmiş veya içsel endokrin direnci olarak adlandırılan bu tedavilere direnç, uzun süreli kullanımlarını ciddi bir şekilde sınırlandırmaktadır. Tamoksifen veya aromataz inhibitörleri ile tedavi edilen hastaların primer tümörlerinde RET ekspresyonundaki artmış insidansın direnç geliştiren hastalar için yeni bir prediktif gösterge olabileceğini düşündürmektedir [143, 135]. Klinik öncesi çalışmalarda meme kanserinde RET'in hedeflenmesinin hem tümör büyümesini bloke etmek hem de endokrin tedavilere yanıtı arttırmak için destek sağlayabileceğini göstermektedir [6, 138, 144].

#### **2.4.2. Kanserde RET'in tek nükleotid polimorfizmleri**

Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler), ortalama insan genomunun yaklaşık 1/1.000'ini içeren, insanlarda en yaygın görülen genetik varyasyon şeklidir. Geleneksel olarak, SNP'lerin bialelik olduğu varsayılan pozisyonda dört ortak nükleotitten sadece ikisi bulunur ve popülasyonun %1'inden daha fazlasında görülen en az yaygın nükleotide sahiptir. SNP'lerin dağılımı ve işlevi mevcut araştırmaların önemli bir alanını oluşturmaktadır. Bu araştırmalar SNP'lerin protein yapısını nasıl etkilediğini, genetik çalışmalarda SNP'lerin kullanımını ve aday genlerdeki fonksiyonel varyantların tanımlanmasını kapsamaktadır [145]. SNP'ler, bir popülasyonda doğal varyasyonu gösteren genomdaki bireysel baz pozisyonlarını ifade etmektedir. İnsanlarda en çok bulunan genetik çeşitliliği temsil ederler ve birbiriyle ilişkisiz bireyler arasındaki tüm farklılıkların %90'ından fazlasını oluştururlar. SNP kalıplarının birçok insan fenotipini etkilemesi muhtemel olduğu için SNP genotiplemesine dayanan büyük ölçekli çalışmaların karmaşık hastalıkları, ilaçlara verilen yanıtları veya çevresel kimyasallara verilen tepkileri etkileyen genleri belirlemesine yardımcı olması beklenmektedir. SNP'ler hedef tanımlamadan klinik çalışmalara kadar ilaç geliştirme sürecinin tüm aşamalarında önemli bir rol oynamaktadır [146].

İlk olarak tiroid kanserinde onkogenik bir gen olarak tanımlanan RET, çeşitli tipteki ailesel ve sporadik tümörlerde tanı, prognoz ve hastalık yönetiminde rol oynamaktadır. MEN2, feokromositoma, medüller sünger böbrek, hiperparatiroidi, Hirschsprung hastalığı, PTK, SMTK, desmoplastik melanom, akciğer kanseri, pankreas kanseri gibi çeşitli kanserlerde RET'in birçok SNP'si (rs1799939,

rs1800861, rs1800862, rs1800863, rs2435357, rs1800858, rs2435357, rs2565206) bildirilmiştir [147-149, 10, 150, 11, 151, 152, 12, 153-157, 13-15]. Meme kanserinde RET'in rs2435357 SNP'sini içeren bir çalışma bulunmaktadır [158]. Meme kanserinde hem in vitro hem de in vivo olarak yapılan bu çalışmada ER+ meme kanserli hastalarda azalmış RET ekspresyonu ve RET geni rs2435357 SNP'si olan taşıyıcılarda artmış sağkalım olduğu bildirilmiştir [142]. RET kişiselleştirilmiş tedavi için artan önemi olan yeni bir terapötik hedeftir [9].

Lebeault ve diğerleri RET genindeki SNP'lerin, MEN2, medüller tiroid kanseri ve/veya feokromositoma gelişimi ve ilerlemesindeki potansiyel rollerini araştırmak üzere Fransa'da yaptıkları retrospektif kohort çalışmasında 10 yıllık sürede 5109 vaka ve 2214 akrabada RET protoonkojen analizini yapmışlardır. RET SNP varyantları- G691S (rs1799939), L769L (rs1800861), S836S (rs1800862) ve S904S (rs1800863) karakterize edilmiş, G691S SNP'nin veya SNP kombinasyonunun feokromositoma görülme riskini arttırdığı, fakat medüller tiroid kanseri ile ilişkisi bulunmadığı bildirilmiştir [153]. Medüller sünger böbrek ve hiperparatiroidi tanısı almış Çinli kadın hastada RET G691S/S904S polimorfizmleri bulunmuştur [152]. Yapılan bir meta-analiz çalışmasında farklı etnik kökenlerde RET protoonkojenindeki rs2435357 ve rs1800858 polimorfizmlerinin Hirschsprung hastalığına duyarlılık ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür [147].

Bir enterik nöropati çeşidi olan Hirschsprung hastalığı duyarlılığında RET c.73×9277T>C (rs2435357) ve c.135G> A (rs1800858) polimorfizmlerinin rolü ile alakalı yapılan diğer bir meta-analiz çalışmasında Asya, Kafkas ve Çin popülasyonlarında c.73×9277T>C ve c.135G>A polimorfizmlerinin etnik kökene göre artmış Hirschsprung hastalığı riski ile önemli ölçüde ilişkili olduğu gösterilmiştir [148].

MEN2 hastalarında RET varyantlarının feokromositoma penetrasyonu üzerindeki etkisinin araştırıldığı çalışmada, feokromositoması olan ve olmayan hastalarda RET varyantlarından L769L, S836S ve G691S/S904S frekansları karşılaştırılmıştır. L769L, S836S veya S904S/G691S varyantlarının frekansları ile feokromositoma gelişimi arasında herhangi bir ilişki bulunmamış, iki RET genetik varyantı barındıran bireylerde, yaşa bağlı olarak feokromositoma gelişme riskinin 2,6 kat arttığı bildirilmiştir. MEN2 ile ilişkili feokromositomada RET risk alellerinin duyarlılık ve yaşa bağlı penetrans üzerinde sinerjik bir etkisi olduğu sonucuna varılmıştır [156].

## 2.5. Nörotrofik Faktörler

Nörotrofik faktörler, nörit büyümesini, nöronal hücre farklılaşmasını ve in vivo/in vitro hayatta kalmayı destekleyici salgılanan proteinlerdir [159]. Nörotrofik faktörler, spesifik hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanarak ve aktive ederek eylemlerini gerçekleştiren polipeptidlerdir. Nörotrofik faktörler, hem merkezi hem de periferik sinir sistemlerinde nöronların büyümesi, gelişimi ve sürdürülmesinde önemli bir role sahiptir [16]. Bunlar klasik nörotrofinler, glial türevli nörotrofik faktör ligandları ve nöroprotektif sitokinler olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadır (Çizelge 2.7.) [160].

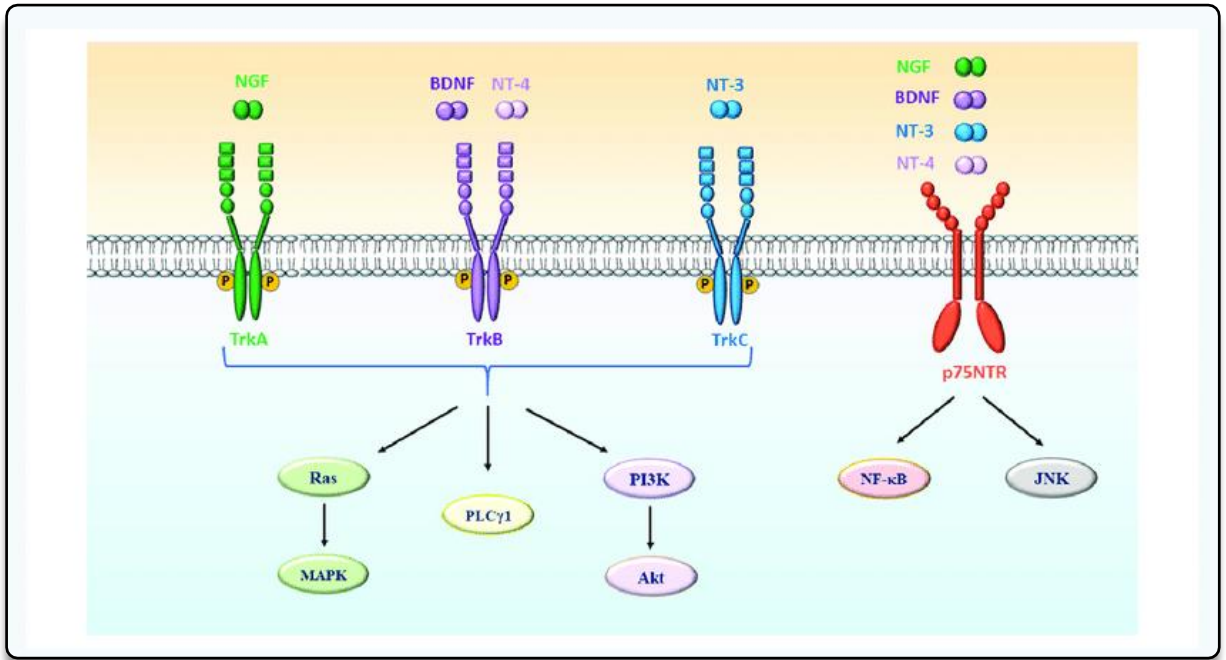
Çizelge 2.7. Nörotrofik faktörlerin sınıflandırılması [160] NGF, sinir büyüme faktörü; BDNF, beyin kaynaklı nörotrofik faktör; NT-3, nörotrofin-3; NT-4, nörotrofin-4; GDNF, glial kaynaklı nörotrofik faktör; NTN, neurturin; ARTN, artemin; PSPN, persephin; EGF, epidermal büyüme faktörü; IGF-1, insülin benzeri büyüme faktörü; FGF, fibroblast büyüme faktörü; HGF, hepatosit büyüme faktörü; EPO, eritropoietin; VEGF, vasküler endotelial büyüme faktörü; CNTF, siliyer nörotrofik faktör; TNF, tümör nekroz faktörü.

| «Klasik»<br>Nörotrofinler                                                                       | Glial Türevli<br>Nörotrofik<br>Faktörlerin Ligandları                                            | Nöroprotektif<br>Sitokinler                                                                                                                        |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>NGF</li> <li>BDNF</li> <li>NT-3</li> <li>NT-4</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>GDNF</li> <li>ARTN</li> <li>PSPN</li> <li>NRTN</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>EGF</li> <li>IGF</li> <li>FGF</li> <li>HGF</li> <li>EPO</li> <li>VEGF</li> <li>CNTF</li> <li>TNF</li> </ul> |

### 2.5.1. Klasik nörotrofinler

Klasik nörotrofinler merkezi ve periferik sinir sisteminde nöronal hayatta kalma, gelişme, fonksiyon ve plastisiteyi düzenleyen büyüme faktörleri ailesidir. Klasik dört nörotrofin vardır: sinir büyüme faktörü (NGF), BDNF, nörotrofin-3 (NT-3) ve nörotrofin-4 (NT-4). BDNF beyindeki yüksek ekspresyonu nedeniyle üzerinde en çok çalışılan nörotrofindir. Nörotrofinlerin aktifleşmesi, PI3K/Akt, Ras-Raf-MAPK, PLC $\gamma$  yolu ve EGFR'nin transaktivasyonu dahil olmak üzere bir dizi aşağı akış

yolunu uyarır. Bu sinyal yollarının aktivasyonu, kanser hücre büyümesini, proliferasyonu, hayatta kalmayı, migrasyonu ve epitelden mezenkimale geçişi artırarak ve anoikis, relaps ve kemoterapötik duyarlılığı azaltarak onkojenik etkilere neden olur. Nörotrofinler p75 nörotrofin reseptörü ve tropomiyozin reseptör kinazları (Trk) olmak üzere iki tip reseptöre sahiptir. P75, dört nörotrofinin tümü için reseptördür. NGF, TrkA'yı, BDNF ve NT-4, TrkB'yi ve NT-3 TrkC'yi bağlar (Şekil 2.8.) [18, 161].



Şekil 2.8. Klasik nörotrofinler ve reseptörleri [18]

Bu nörotrofinler ve reseptörlerinin sadece sinir sisteminde eksprese edildiği düşünülürken yapılan çalışmalar ile makrofajlar, endokrin hücreler, bağışıklık hücreleri, düz ve çizgili kas lifleri tarafından da eksprese edildiğini gösterilmiştir. Nörotrofinlerin ve Trk reseptörlerinin, özellikle BDNF ve TrkB'nin yüksek düzeyde düzenlendiği ve meme, akciğer, kolon-rektum, pankreas, prostat, karaciğer, miyelomlar ve lenfoid tümörler dahil olmak üzere çeşitli kanserlerde önemli rol oynadığı bulunmuştur. Trk reseptörlerini hedefleyen ilaçlar, kanser tedavisi için klinik çalışmalara dahil edilmiş ve ılımlı yan etkilerle ümit verici sonuçlar elde edilmiştir [161].

## BDNF

BDNF tirozin kinaz reseptörü olan TrkB için spesifik bir liganddır ve BDNF'nin bağlanması ile birlikte PI3K yolu dahil olmak üzere çeşitli yolları etkin hale getirir. BDNF-TrkB sinyalinin, kemoterapide dirence ve neoplastik hücrelerin büyümesine aracılık ettiği, bunun da primer tümör hücrelerinde otokrin sinyal yoluyla yoluyla gerçekleştiği öne sürülmüştür. Otokrin BDNF-TrkB sinyal transdüksiyonu ile uyumlu olarak hücre proliferasyonu, farklılaşması, hayatta kalma ve invazyonu ile ilişkilidir. Bununla birlikte metastatik Her2+ meme kanserinde beyin mikroçevresinde BDNF tarafından TrkB aktivasyonunun olası parakrin rolünün daha fazla aydınlatılması gereklidir [162].

BDNF/TrkB sinyalinin onkojenik sonuçları evrensel olarak kabul görmüştür. BDNF/TrkB'nin meme kanseri, karsinoid, servikal, kolorektal, gliom, karaciğer, akciğer gibi sayısız kanser türünde artarak regüle edildiği bulunmuştur. Yapılan çalışmalar BDNF'nin çeşitli kanserler için önemli bir prognostik faktör olabileceğini ortaya koymuştur. BDNF/TrkB yolağının artarak düzenlenen büyüme faktörü reseptörü olan EGFR'yi transaktive ettiği gösterilmiştir. Bu transaktivasyon, embriyonik kortikal nöronların, akciğer ve yumurtalık kanseri hücrelerinin çoğalması ve migrasyonu için önem taşımaktadır.

BDNF uygulanması, kolon kanserinde EGFR inhibisyonunun onkolitik etkisini önlemektedir. Ayrıca BDNF ve EGFR yollarının birlikte inhibisyonu kolon kanseri hücre çoğalmasını baskılamada birbirini kompanse ediyor görünmektedir. BDNF/TrkB kanser hücrelerinin kemoterapiye duyarlılığını da azaltabilmektedir. BDNF'nin nöroblastom hücrelerinin sisplatin, etoposid ve vinblastin ile doza bağımlı bir şekilde sağkalımı arttırdığı bildirilmiştir. BDNF'ye karşı antikorlarla tedavi fareleri meme kanseri, rahim sarkomu ve nöroblastom modellerinde kemoterapiye daha duyarlı hale getirmiştir. BDNF uygulamasının baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomunda kemoterapötik dirence neden olduğu gösterilmiştir. Kemoterapide BDNF'nin bu koruyucu rolü, muhtemelen kanser hücrelerinin çoğalmasını ve hayatta kalmasını desteklemesinden kaynaklanmaktadır [161]. Meme kanseri dokusunda BDNF'nin fazla eksprese edildiği bildirilmiştir [163]. BDNF TrkB aracılığıyla apoptoza direncin uyarılması sonucunda kanser hücrelerinin hayatta

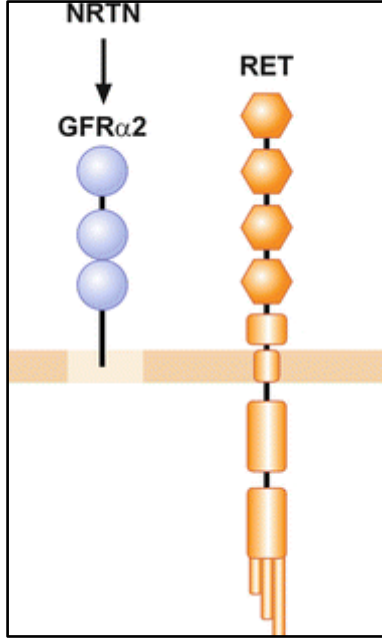
kalmasına katkıda bulunmaktadır. BDNF/TrkB'nin hedeflenmesi ile tümör büyümesinin engellenebileceği öne sürülmektedir [164].

### 2.5.2. GDNF ligandları

GDNF ailesi beta benzeri büyüme faktörlerini dönüştüren ligandlar olarak hem sempatik, parasempatik, duyuşsal ve enterik nöronları içeren periferik, hem de orta beyin dopamin nöronları ve motor nöronları içeren merkezi sinir sisteminde nöronların geliştirilmesi ve sürdürülmesinde rol oynamaktadır. GDNF ailesi bu sebeple parkinson hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklarla mücadelede terapötik ilgi odağı olmuştur. Sinir sisteminin dışında bu faktörler böbrek morfojenezi gibi diğer birçok sürece de aracılık etmektedir [165]. GFL'ler GDNF, Neurturin, Artemin ve Persephin olmak üzere dört proteinden oluşmaktadır [156].

#### Neurturin (NRTN)

NRTN, nörotrofik faktörlerin bir alt sınıfı olan GDNF ailesi ligandlarının üyesidir [166]. NRTN'nin koreseptörü GFR $\alpha$ 2'ye bağlanmasıyla oluşan protein kompleksi transmembran reseptörleri olan RET veya nöral hücre adezyon molekülünü aktive eder (Şekil 2.9.) [154]. Böylece hücre sağkalımı, farklılaşması ve büyümesine yol açan hücreşel yanıtlar tetiklenmektedir. NRTN, GDNF ve ARTN'nin GFR $\alpha$  reseptörlerine bağlanmalarının yanı sıra, sülfatlanmış polisakkarit heparini ve ilgili molekül heparan sülfatı (HS) bağladığı gösterilmiştir. Dallenmamış HS, çeşitli HS bağlayan moleküllerin lokal konsantrasyonlarının artışının olduğu hücre yüzeylerinde ve ESM ifade edilen glikoproteinler tarafından sağlanmaktadır [167].



Şekil 2.9. Neurturin, koreseptörü GFR $\alpha$ 2 ve reseptörü [168]

GFL'ler, aksonların büyümesini stimüle etmek için hedef dokular tarafından serbest bırakılmaktadır ve hem in vitro hem de hayvan modellerinde hasar görmüş nöronları yeniden çoğaltabildikleri gösterilmiştir [169]. Bu nedenle NRTN ve diğer GFL'ler bir dizi nörodejeneratif hastalık için protein yapıları terapötikler olarak gösterilmiştir. NRTN, Parkinson hastalığının tedavisi için klinik çalışmalarda yer bulmuştur [170]. Nöral krest hücrelerinin yetmezliğiyle gelişen Hirschsprung hastalığında Neurturin polimorfik varyantları olan IVSI-663 (rs1379868), c.\*592 (rs10775589) araştırılmıştır [20]. NRTN'nin dahil olduğu GFL'ler, RET üzerinden birkaç sinyal iletim yolunu aktive ederek hücrelerin hayatta kalması, çoğalması, farklılaşması, göçü ve onkojenik etkileri yaymaktadır [17]. RET'in aktivasyonu NRTN'in ile etkileşimini gerektirdiğinden, NRTN'i kodlayan genlerin, çeşitli kanser tiplerinin patojenezinde rol oynadığı düşünülmektedir. Pankreas kanserinde doku ve hücrelerde artmış NRTN ekspresyonu olduğu, invazyon ve proliferasyonu arttırdığı gösterilmiştir [171]. sMTK hastalığında Neurturin IVSI-663 (rs1379868), STOP+711bp (rs778811) SNP'leri değerlendirilmiştir [19, 20].

### 2.5.3. Nöroprotektif sitokinler

Büyüme faktörleri, hücreden hücreye iletişimde yer alan hücre dışı sinyal proteinleridir. Çoğu büyüme faktörü, spesifik yüksek afiniteli plazma membran reseptörlerine bağlanarak komşu hedef hücreler üzerinde etki etmektedir. Spesifik

reseptörlere bağlanan büyüme faktörleri hücre içinde efektör mekanizmaların aktivasyonuna yol açan sinyal iletim yollarını indüklemektedir. Büyüme faktörleri, çok hücreli organizmalarda hücreden hücreye iletişimi gerçekleştirmek için evrimleşmiştir. Hedef hücredeki hücresel yanıt, büyüme ve hücre proliferasyonu ile ilişkilidir. Bununla birlikte, hücre farklılaşması, transformasyonu, sentezi, salgılanması, hücre ölümü ve hareketliliği gibi kimyasal sinyallerle bir dizi hücresel yanıt ortaya çıkarılabilmektedir [172, 173]. Büyüme faktörlerinden nöroprotektif sitokinler ailesinde epidermal büyüme faktörü (EGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1), fibroblast büyüme faktörü (FGF), hepatosit büyüme faktörü (HGF), eritropoietin (EPO), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), siliyer nörotrofik faktör (CNTF), tümör nekroz faktörü (TNF) bulunmaktadır.

## **2.6. Matriks Metaloproteinazlar (MMP'ler)**

FAK sinyali hücre göçü ve hayatta kalma gibi hücresel fonksiyonların yanında MMP'ler üretiminde kritik bir rol oynamaktadır [174]. Matriksinler olarak da bilinen MMP'ler çinkoya bağlı enzimlerdir. Temel etki mekanizmaları toplu olarak kollajen, jelatin, fibronektin, vitronektin ve laminin gibi ESM'nin hemen hemen her bileşeninin degradasyonunu içermektedir. 17'si çözünebilir salgılanan ve 6'sı membran tipi enzim olmak üzere 23 tip insan MMP'si vardır. MMP'ler spesifik yapıya, substratlarına ve ekspresyon modellerine sahip olan enzimler olarak tanımlanmıştır. MMP'ler ESM içinde tercih ettikleri substratlara göre alt gruplara ayrılırlar: kollajenazlar (MMP-1, -8, -13), jelatinazlar (MMP-2, -9), stromelisinler (MMP-3, -10, -11), matrilisin (MMP-7) ve membran ilişkili MMP'ler (MT1-MMP / MMP-14, -15, -16, -17, -24, -25) [175].

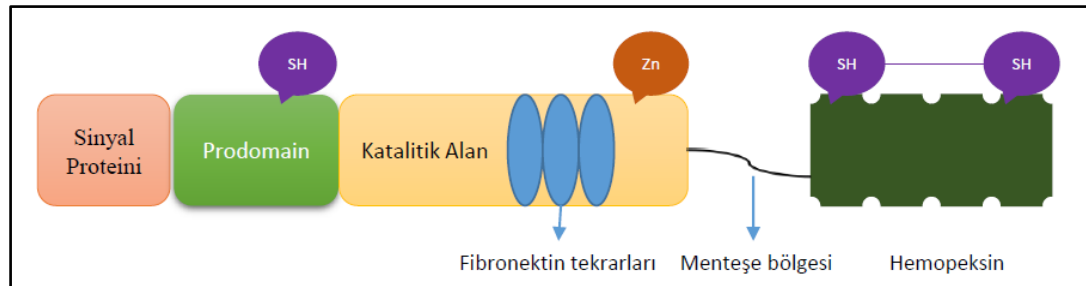
MMP ailesinin tüm üyeleri arasında iki yapısal unsur ortaktır. İlki, proteinin katalitik bölgesinde bulunan ve eylemi için gerekli olan çinko iyonudur; ikinci ise bir sistein kalıntısı içeren propeptittir. Bu proteazlar, genellikle hücre dışı boşlukta aktive olan ve pro-MMP olarak adlandırılan zimojen şeklinde salgılanırlar. MMP'lerin faaliyeti, transkripsiyon, salgılama ve proteolitik bölünme yoluyla aktivasyonun yanı sıra metalloproteinaz endojen doku inhibitörleri (TIMP'lerinin) ile inhibisyonunu içeren birkaç adımda düzenlenir [176].

MMP'ler, tümör invazyonu ve metastazında rol oynarlar. Tümör hücrelerinden gelen sinyaller, hücre dışı membranı bozan/sindiren MMP'lerin üretimini aktive eder, böylece anjiyojenez/hücre göçüne yardımcı olur. Bu süreç, hematolojik invazyon/metastaz için aşamayı belirler. Doku MMP'si kan dolaşımına sızabildiğinden ve dolaşım seviyelerini artırabildiğinden, kandaki MMP profilinin hastalığın başlangıcı, ilerlemesi veya izlenmesi için biyolojik belirteçler olarak düşünülmektedir [177]. MMP'ler, ESM'nin çeşitli bileşenlerini seçici olarak bozarlar ve ESM'de bulunan büyüme faktörlerini ve sitokinleri serbest bırakırlar. MMP'ler ayrıca çeşitli büyüme faktörlerini, sitokinleri, kemokinleri aktive edebilirler ve sitokin reseptörleri, hücre yapışma molekülleri, ürokinaz reseptörü, vb. hücre yüzeyi proteinlerini ayırabilirler. MMP'ler proteolitik aktiviteleri sayesinde invazyon ve metastazda önemli roller oynarlar ve anjiyojenez de dahil olmak üzere hücresel olayları kontrol eden sinyal yollarını düzenlerler [178].

### 2.6.1. Matriks metaloproteinaz-2 (MMP-2)

Jelatinazlardan olan MMP-2, inaktif zimojen olarak salgılanır (proMMP-2:72 kDa) ve yapısındaki prodomainin ayrılması ile aktif formuna (MMP-2:65 kDa) dönüşür (Şekil 2.10.). Aktivasyon sürecini çeşitli mekanizmalar harekete geçirmektedir. ProMMP-2'nin hücre yüzeyinde aktivasyonu için ana yol, MT1-MMP ve TIMP-2 içeren moleküler kompleks oluşması ile gerçekleşir. Bu hücre yüzeyi etkileşimi, proMMP-2'nin TIMP'siz, aktif MT1-MMP'nin yakınında kümelenmesine yol açar ve bu da proMMP-2'nin aktivasyonunu başlatır [178].

MMP-2 (jelatinaz A), tip IV kollajenolitik aktiviteye sahiptir ve endotel hücreler, osteoblastlar, fibroblastlar ve miyoblastlar tarafından ifade edilir [179].



Şekil 2.10. MMP-2'nin yapısı [180]

MMP-2 tümörü çevreleyen dokuyu ayıran bazal membranın temel bileşenlerinden biri olan tip-IV kollajeni yıkarak meme tümörü istilasında ve metastazında kritik bir rol oynar. MMP-2 ayrıca büyüme faktörlerinin ve inflamatuvar belirteçlerini aktifleştirir ve anjiyogenezin uyarılması yoluyla tümör gelişimini kolaylaştırmaktadır [181]. Tümör metastazının erken evresinde önemli bir adım olan invazyon, kanser hücrelerinin primer bölgeden kaçmak için bazal membranları ve tümörü çevreleyen ESM'yi bozmasıyla meydana gelir. MMP-2, kolajen tip I/IV, fibronektin, entaktin ve elastini parçalayabilen proteinazlardandır ve bu nedenle tümör hücrelerinin uzak metastazı ve invazyonu dahil olmak üzere kanser ilerlemesinde önemli rol oynamaktadır. MMP-2'nin artan regülasyonu, meme kanseri de dahil olmak üzere çeşitli kanserlerde kötü prognoz ile yakından ilişkilidir [182].

## 2.7. Fokal Adezyon Kinaz (FAK)

Kanser hücreleri ve tümör mikroçevresi arasındaki etkileşimden kaynaklanan sinyaller tümör gelişimi için kritik bir öneme sahiptir. İntegrinler, plazma zarının iç ve dış bölgesi arasındaki fiziksel bağlantının sağlanmasında ve sinyal iletiminin düzenlenmesinde çift yönlü vericilerdir. ESM'lerde birleşen integrinler, adaptör proteinler (örn., P130 Cas ve Crk), reseptör olmayan tirozin kinaz (Src ailesi kinaz ve fokal adezyon kinaz), küçük GTPazlar (örn. Rho, Rac ve Cdc42) ve sitoskeletal proteinler (örn. talin, vinculin ve paxillin), fokal adezyonlar olarak adlandırılan hücre içi özelleşmiş kompleksler ve yapılar oluşturarak aktivasyonu sağlamak için plazma membranı üzerinde bir araya gelirler [183].

FAK, moleküler ağırlığı 125 kDa olan ve hücreler arası iletişimde, farklı hücreler arası fonksiyonların regülasyonunda ESM için önemli bir hücre yüzeyi reseptörleri ailesi olan integrinler tarafından hücre içi sinyalinin anahtar aracı olarak tanımlanan sitoplazmik bir tirozin kinazdır. FAK oto-inhibitör mekanizmasının bozulmasıyla integrinlerin aktivasyonu üzerinden otofosforilasyona uğramaktadır ve kinaz aktivitesi azalarak sinyallemeyi tetiklemek için Src ve diğer hücreler arası proteinler ile kompleks oluşturmaktadır [184, 185]. FAK integrinler, sitokinler, büyüme faktörleri ve G proteini bağlı reseptörler dahil olmak üzere hücre yüzeyi transmembran reseptörlerinden gelen farklı hücre dışı sinyalleri aldıktan sonra çeşitli hücreler arası fonksiyonlar için sinyal yollarını tetiklemektedir [186, 187].

Çeşitli kanserlerde FAK'ın potansiyel rolünün araştırıldığı çok sayıda çalışmada, kanserin gelişimine ve ilerlemesine katkıda bulunduğunu gösteren biyolojik mekanizmalar ortaya koyulmuştur [188]. FAK, tümör mikroçevresinde hücre sinyalizasyonunun çok fonksiyonlu bir düzenleyicisidir ve invaziv hücre fenotiplerini teşvik eder. FAK integrin veya büyüme faktörü reseptörleri aracılığıyla sinyalleri kanser hücrelerine entegre eden ve dönüştüren çok fonksiyonlu bir proteindir [189, 190]. Pek çok kanser türünde artan FAK mRNA düzeyleri gözlemlenmiştir ve kötü hasta sağkalımı ile ilişkili bulunmuştur. [191, 192]. FAK'ın hücre göçünden, sağkalımdan, proliferasyondan ve adezyondan sorumlu çoklu kanser hücrelerinde aşırı eksprese edildiği ve/veya aşırı fosforile olduğu bulunmuştur [193-196]. FAK, tümör anjiyojenezinde vasküler fonksiyonların korunmasını sağlamaktadır. Sitokinler FAK sinyal yolu ile vasküler büyüme faktörü ekspresyonunu indüklemektedir [197].

MCF7 hücrelerinde FAK/RET kompleksi tanımlanmıştır ve FAK'ın RET'in aşağı akış sinyalinde bulunduğu gösterilmiştir. Fare modelinde bir RET inhibitörü olan NVP-AST487 ile muamele edilen J110 tümörlerde FAK ve STAT3 aktivitesi azalmıştır ve FAK aktivasyonunun RET-STAT3 sinyal etkileşiminin bir aracısı olduğu gösterilmiştir [134]. İnsan tümör dokuları ve tümörden elde edilen hücre dizileri ile yapılan çalışmalar, FAK ekspresyonunun malignitede yükseldiğini göstermektedir. Meme, kolon ve tiroid karsinomlarında dokuda yüksek FAK düzeyleri bulunmuştur ve bu artan FAK ekspresyonun tümör invazyonu ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür [198, 199]. Meme kanseri hücrelerinde FAK'ın karboksil-terminal alanının (FAK-CD) adenoviral gen transdüksiyonu ile adezyon kaybı, fosforile FAK'ın yıkımı ve uyarılmış apoptoz görülmüştür [200]. Primer meme kanserli dokuda FAK ekspresyonunun normal meme dokusuna kıyasla artarak regüle olduğu bildirilmiştir [201].

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

- ✓ Otomatik Pipet seti (Brand)
- ✓ Termal döngü cihazı (Himedia Prima-96 Plus)
- ✓ Nanodrop (ND-1000 Spectrophotometer)
- ✓ Hassas terazi (Shimadzu AW320)
- ✓ Mikrodalga fırın (Arçelik)
- ✓ ELISA okuyucu (Versemex),
- ✓ Derin Dondurucu -80° C (Jouan WX 530),
- ✓ Derin Dondurucu -20° C (Arçelik)
- ✓ Santrifüj (Jouan MR 18 22),
- ✓ Vorteks (Firlabo 1640),
- ✓ Yatay jel elektroforez tankı (Cleaver Scientific)
- ✓ Güç kaynağı (Cleaver Scientific nanoPAC-300P)
- ✓ ELISA okuyucu (Versemex i3x)
- ✓ Jel Görüntüleme Cihazı (Syngene Ingenius Bio Imaging)
- ✓ Spin Cihazı (Star Lab)
- ✓ Kuru Blok Isıtıcı (Biosan Bio TDB-100)

#### 3.2. Kullanılan Kimyasallar

- ✓ Distile su
- ✓ Agaroz
- ✓ SNP primerleri (rs1799939, rs1800861, rs1800863, rs1379868)
- ✓ Restriksiyon enzimleri (TaqI (Thermo Fischer), BanI (Thermo Fischer), RsaI (EurX))
- ✓ %96 EtOH
- ✓ %70 EtOH
- ✓ RNAase (EurX)
- ✓ Proteinkinaz K (EurX)
- ✓ Master mix (Solis BioDyne)
- ✓ DNA Ladder (100-1000 bp) (Solis BioDyne)
- ✓ 6x Jel yükleme çözeltisi (New Bioscience)

- ✓ 10x TBE Tampon Çözeltisi
- ✓ Etidiyum Bromür alternatifi güvenilir boya (A.B.T. Gel Safer)

### 3.3. Kullanılan Ticari Kitler

- ✓ DNA İzolasyon Kiti (EURx, GeneMATRIX Quick Blood DNA Purification Kit, Poland),
- ✓ BDNF Human Elisa Kit (Elabscience Biotechnology Inc, United States),
- ✓ Neurturin Human Elisa Kit (SunRed Biotechnology Company, United States),
- ✓ MMP-2 Human Elisa Kit (Elabscience Biotechnology Inc., United States),
- ✓ FAK Human Elisa Kit (Elabscience Biotechnology Inc., United States).

### 3.4. Etik Onay ve Çalışma Grubu

Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Kurulu'ndan 10.12.2018 tarihinde 912 sayılı onay (EK 1) alınmıştır. Bunu takiben Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nden izin alınmıştır (EK 2).

Aralık 2018-Temmuz 2020 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Genel Cerrahi Polikliniği ve Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Polikliniği'ne başvuran, meme kanseri teşhisi konulmuş 110 hasta ve herhangi bir sistemik hastalığı olmayan 110 sağlıklı kadın çalışma grubunu oluşturmuştur. Gönüllüler çalışma hakkında bilgilendirildikten sonra anket (EK 3) uygulanmış ve bilgilendirilmiş gönüllü olur formunu imzalamışlardır.

#### 3.4.1. Çalışma grubunun işleme ve dışlama kriterleri

Çalışma grubunun işleme kriterleri aşağıdaki gibidir:

- Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Genel Cerrahi ABD Polikliniği'ne ve Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Polikliniği' ne başvuran yeni teşhis almış ve tedaviye başlanmamış meme kanseri hastaları
- Sağlıklı kadınlar (kontrol grubu)
- 18 yaşın üstünde, 88 yaşın altında olmak

Çalışma grubunun dışlama kriterleri aşağıdaki gibidir:

- Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Genel Cerrahi ABD Polikliniği'ne ve Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Polikliniği' ne başvuran kemoterapi tedavisi almış meme kanseri hastaları
- Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Genel Cerrahi ABD Polikliniği'ne ve Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Polikliniği' ne başvuran radyoterapi tedavisi almış meme kanseri hastaları
- Daha önce herhangi bir malignite sebebiyle kemoterapi almış kadınlar
- Endokrin ilaç tedavisi alan hastalar
- 18 yaşın altında, 88 yaşın üstünde olmak
- Hirschsprung hastaları
- Medüller sünger böbrek hastaları
- Pankreas kanser hastaları
- MEN 2A hastaları
- Hiperparatiroidizm hastaları
- Sporadik ve Kalıtsal Medüller Tiroid Karsinomlu hastalar

### 3.5. Kan Numunelerinin Toplanması

Hasta ve kontrollerden EDTA'lı ve kırmızı kapaklı tüplere alınan kan örnekleri Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya ABD araştırma laboratuvarında 4000 rpm' de 15 dk santrifüj edilerek serum elde edilmiştir ve ependorf tüplere konularak ölçümler yapılana kadar derin dondurucuda -80°C'de muhafaza edilmiştir. Hasta ve kontrollerden mor kapaklı (K<sub>3</sub>EDTA'lı) tüplere alınan kan örnekleri DNA izolasyonu yapılana kadar -20°C' de saklanmıştır.

### 3.6. Meme Kanseri Prognostik Faktörlerin Sınıflandırılması

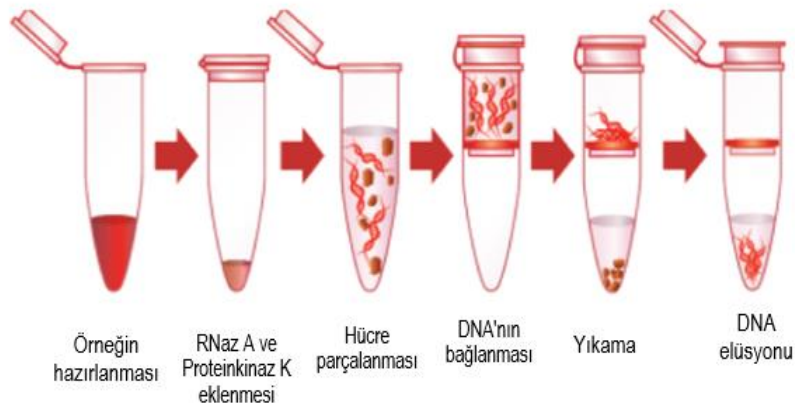
Çalışmamız kapsamında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde ve Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde toplanan hasta grubunda moleküler ve histolojik alt tipi, tümör derecesi, tümör boyutu, östrojen,

progesteron ve Her2 reseptör durumları ve Ki67 proliferasyonu değerlendirilmiştir. Tümör dereceleri Modifiye Bloom Richardson Skorumuna göre yapılmıştır.

Moleküler sınıflandırma Luminal A, Luminal B, Her2 ve Bazal tip olmak üzere 4 grup; histolojik sınıflandırma, Duktal Karsinoma İn Situ, İnvaziv Duktal Karsinom, İnvaziv Lobüler Karsinom, Miks tip ve diğer olmak üzere 5 grup altında değerlendirilmiştir. Miks tip herhangi iki meme karsinomunu kapsamaktadır. Tümör derecesi 1, 2, 3; tümör boyutu 2 cm'den küçük ve büyük; Ki67 proliferasyonu %20'den küçük ve büyük; östrojen, progesteron, cerbB2 reseptör durumları pozitif ve negatif olarak sınıflandırılmıştır.

### 3.7. Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu

Çalışma grubunda RET geninde G691S (rs1799939), L769L (rs1800861), S904S (rs1800863) bölgeleri ve Neurturin geninde IVSI-663 (rs1379868) bölgesine ait gen polimorfizmlerinin belirlenmesi amacıyla DNA izolasyonu yapılmıştır. K<sub>3</sub>EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinden DNA izolasyonu EURx, GeneMATRIX Quick Blood DNA İzolasyon kiti kullanılarak yapılmıştır. İzolasyon şeması Şekil 3.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Örneklerden DNA izolasyonu

Kit protokolü şu şekildedir:

- 40 µL aktivasyon QB tamponu kolona konularak ve oda ısısında lizati aktarana kadar tutulmuştur.
- 1,5 mL'lik ependorflara 200 µL kan örneği konulmuştur. Üzerine 2 µL RNaz A eklenerek karıştırılmıştır.

- 10 µL proteinkinaz K ve 200 µL QB çözeltisi eklenerek karıştırılmış ve 10 dk 70°C' de inkübe edilmiştir.
- 200 µL %96'lık etanol eklenerek karıştırılmış ve 12000 rpm'de 1 dk santrifüj edilmiştir.
- Lizat kolona aktararak 12000 rpm' de 2 dk santrifüj edilmiştir.
- Santrifüj sonrasında kolonun altında süzülerek birikmiş olan sıvı atılarak kolon tüpü tekrar yerleştirilmiştir.
- 500 µL yıkama QBX1 tamponu kolona eklenmiş ve 12000 rpm'de 1 dk santrifüj edilmiştir.
- Santrifüj sonrasında kolondan süzülerek birikmiş sıvı atılarak kolon tüpü tekrar yerleştirilmiştir.
- 500 µL yıkama QBX2 tamponu kolona eklenmiş ve 12000 rpm'de 2 dk santrifüj edilmiştir.
- Kolon yeni ependorf tüpe (1,5–2 ml) yerleştirilmiş ve bağlı DNA'yı ayrıştırmak için 50 µL Elüsyon tamponu eklenmiştir. 3 dk oda sıcaklığında bekletilmiştir.
- 12000 rpm'de 1 dk santrifüj edilmiş ve takiben elüsyon basamağı bir kez daha tekrar edilmiştir.
- Kolon çıkarıldıktan sonra ependorf kapatılarak elde edilen DNA -20°C'de muhafaza edilmiştir.

### 3.7.1. DNA derişiminin ölçümü

Elde edilen DNA'nın derişiminin ölçülmesi nanodrop cihazında aşağıdaki protokole göre yapılmıştır:

- 1 µL distile su ile ilk ölçüm yapılmıştır.
- 1 µL elüsyon tamponu ile ikinci ölçüm yapılmıştır.
- 1 µL örnek ile üçüncü ölçüm yapılmıştır.
- Sonuçlar değerlendirilmiştir.

Safsızlık tayini için DNA örneklerinin 230 nm, 260 nm ve 280 nm dalga boylarında absorbansı ölçülmüştür. 260 nm ve 280 nm dalga boylarında ölçülen absorbansların oranı (260/280) ile saflık derecesi belirlenmiştir. Saflık derecesi 1,8'e kadar yeterli kabul edilmiştir. 260 nm ve 230nm dalga boylarındaki absorbansların oranı

(260/230) ile de kontaminasyon durumu tespit edilmiştir. 260/230 oranında 1,8-2,2 kabul edilebilir değerdir.

### 3.8. PZR-RFUP ile Dizi Analizi

RET geni G691S (rs1799939), L769L (rs1800861), S904S (rs1800863) ve Neurturin geni IVSI-663 (rs1379868) bölgelerine ait SNP'leri tayin etmek için literatür taraması yapılarak uygun primerler belirlenmiştir. Primerler Çizelge 3.1.'de yer almaktadır.

Çizelge 3.1. Çalışılan her bir SNP için gen bölgesi adları ve kullanılan primer dizileri

| Gen Bölgesi                                   | Primerler (Forward-Reverse)                                   |
|-----------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| <b>RET Ekzon 11 G691S</b><br><b>rs1799939</b> | F-5'-CAGGCATACGCAGCCTGTAC-3'<br>R-5'-GCCTCGTCTGCCCAGGCGTTG-3' |
| <b>RET Ekzon 13 L769L</b><br><b>rs1800861</b> | F-5'-CCTGTCCACTGATCCCAAAG-3'<br>R-5'-CACTCAGCCCGTGGACTC-3'    |
| <b>RET Ekzon 15 S904S</b><br><b>rs1800863</b> | F-5'-GGTCTCACCAGGCCGCTAC-3'<br>R-5'-TCGGTATCTTTCCTAGGCTTC-3'  |
| <b>Neurturin IVSI-663</b><br><b>rs1379868</b> | F-5'-GGTCCGTTTTGTCACCTGTC-3'<br>R-5'-CCATTGCTGCTCCATTCTCC-3'  |

Belirtilen SNP'ler için uygulanan PZR reaksiyon protokolü Çizelge 3.2.'de verilmiştir. Stoktan hazırlanan reaksiyon çözeltisi PZR grade su ile 35 µl'ye tamamlanmıştır.

Çizelge 3.2. PZR reaksiyon protokolü

| Bileşen                  | Stok Konsantrasyonu | Reaksiyon Konsantrasyonu |
|--------------------------|---------------------|--------------------------|
| <b>PZR Tamponu</b>       | 10X                 | 1X                       |
| <b>MgCl<sub>2</sub></b>  | 25mM                | 1,5 mM                   |
| <b>dNTP miks</b>         | 20 mM               | 0,2 mM                   |
| <b>Forward Primer</b>    | 10 µM               | 0,3 µM                   |
| <b>Reverse Primer</b>    | 10 µM               | 0,3 µM                   |
| <b>Taq DNA Polimeraz</b> | 5U/ µL              | 2 U                      |
| <b>DNA</b>               | 20-150 ng           |                          |

Elde edilen reaksiyon çözeltisi için termal döngü cihazında aşağıdaki PZR programı uygulanmıştır:

- 95°C'de 5 dk
- 35 döngü:
  - 95°C'de 45 sn

- 57°C'de 45 sn
- 72°C'de 30 sn
- 72°C'de 5 dk

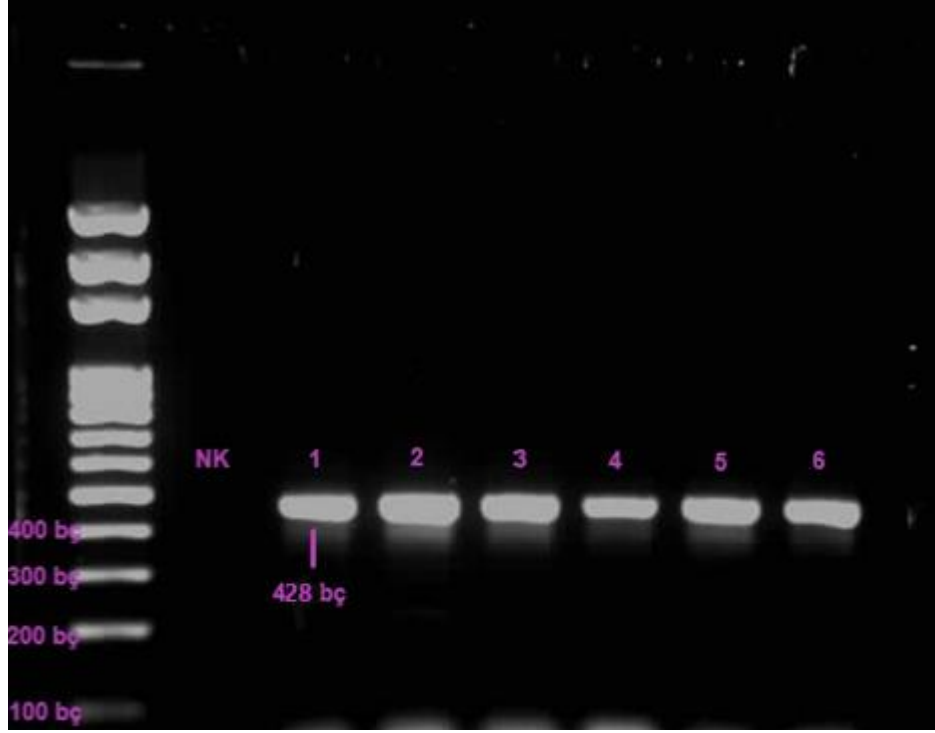
PZR ürünleri elde edildikten sonra %2'lik agaroz jelde yürütülerek bant profilleri tespit edilmiştir. Aynı jelde 100 bç'lik DNA ladder yardımıyla PZR ürünlerinin doğru bç'ye karşılık gelip gelmediği kontrol edilmiştir. PZR ürünlerinin bant oluşturduğu bç'ler Çizelge 3.3.'te yer almaktadır.

Çizelge 3.3. Her bir SNP için PZR ürün uzunluğu ve T<sub>m</sub> sıcaklıkları

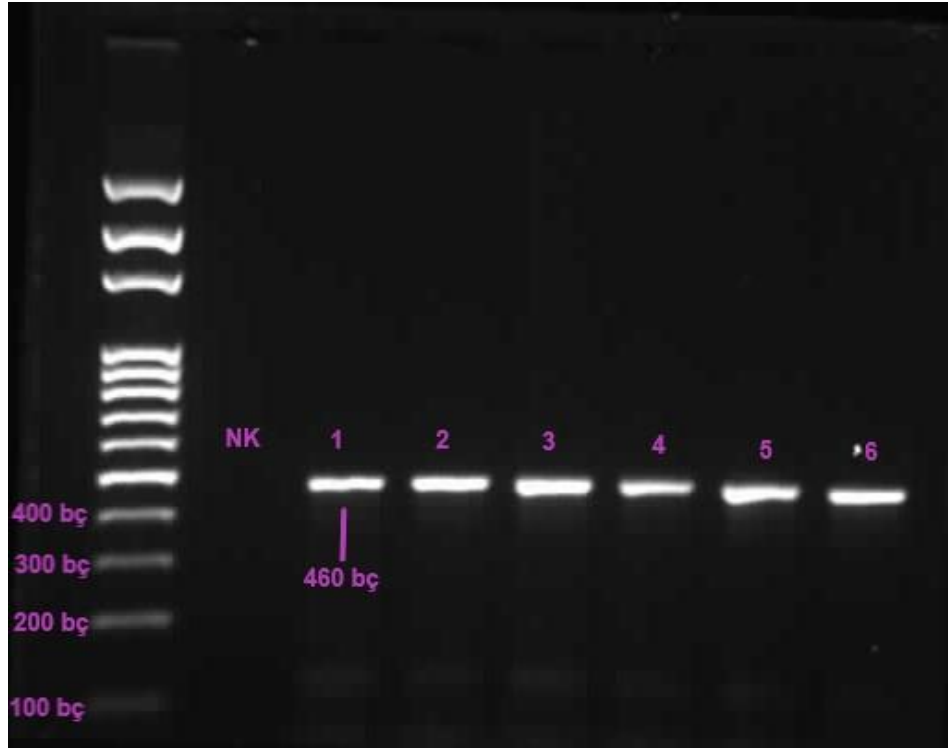
| Gen Bölgesi        | PZR Ürünü Uzunluğu<br>(bç) | T <sub>m</sub> (°C) |
|--------------------|----------------------------|---------------------|
| RET G691S          | 428                        | 60                  |
| RET L769L          | 460                        | 64                  |
| RET S904S          | 332                        | 62                  |
| Neurturin IVSI-663 | 419                        | 59                  |

### 3.8.1. Agaroz jel hazırlanışı, örneklerin jelde yürütülmesi ve görüntüleme

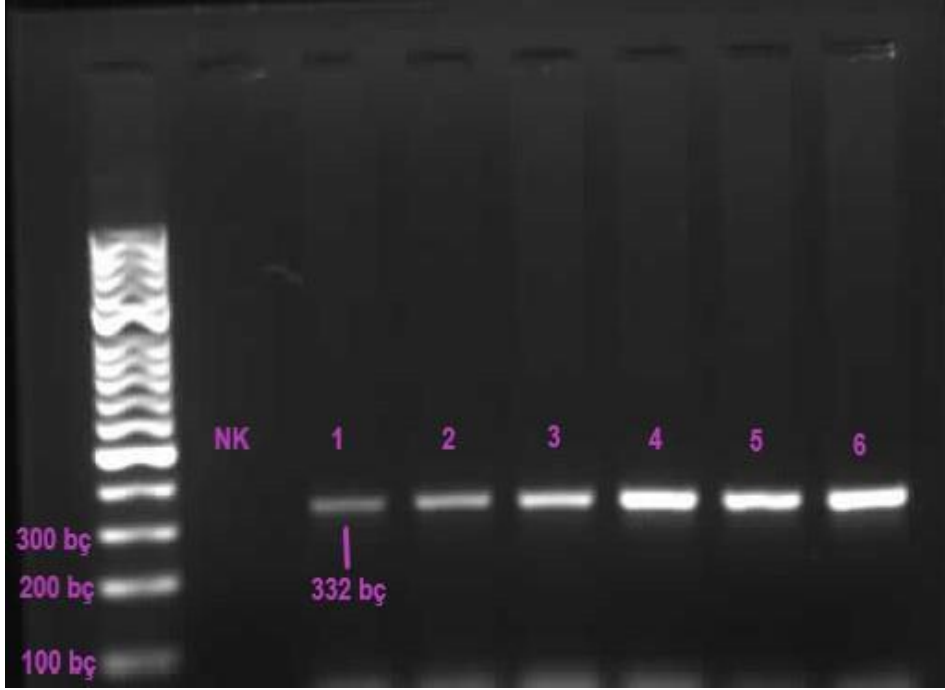
%1'lik jel için 1 g agaroz ve %2'lik jel için 2 g agaroz 100 mL TBE tamponuna eklenerek elde edilen karışımlar mikrodalga fırında eritilmiştir. Erimiş jel su altında soğutulduktan sonra etidiyum bromür alternatifi güvenilir boyadan 6 damla eklenerek karıştırılmıştır. Ardından çözelti jel kalıbına dökülerek donması beklenmiştir. Jel donduktan sonra jel tanka yerleştirilip 1xTBE tamponu eklenmiştir. Her bir kuyucuğa 2 µL örnek ve 10 µL 6x yükleme çözeltisi pipetleme ile karıştırılarak 10 µL hacimde yüklenmiştir. Güç kaynağı 80-120 volta ayarlanarak jeldeki örnekler 60-90 dk yürütülmüştür. Jel görüntüleme sisteminde elde edilen hasta ve kontrollere ait örnek PZR ürün görüntüleri RET SNP'leri G691S, L769L, S904S ve Neurturin IVSI-663 SNP'si için aşağıda yer almaktadır (Sırasıyla, Resim 3.1., Resim 3.2., Resim 3.3., Resim 3.4.).



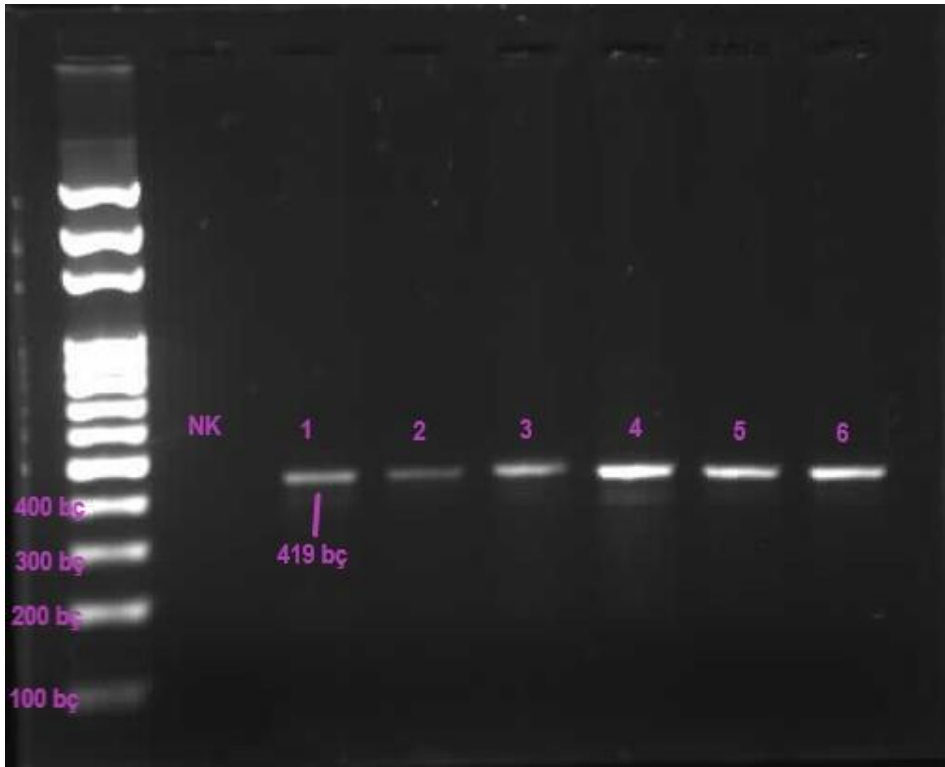
Resim 3.1. Hasta ve kontrollere ait rastgele seçilmiş örnek RET G691S PZR ürün jel görüntüsü (NK:Negatif Kontrol; 1:H1; 2:H127; 3:H63; 4:K99; 5:K75; 6:K6)



Resim 3.2. Hasta ve kontrollere ait rastgele seçilmiş örnek RET L769L PZR ürün jel görüntüsü (NK:Negatif Kontrol; 1:H110; 2:H121; 3:H129; 4:K16; 5:K42; 6:K78)



Resim 3.3. Hasta ve kontrollere ait rastgele seçilmiş örnek RET S904S PZR ürün jel görüntüsü (NK:Negatif Kontrol; 1:H110; 2:H119; 3:H122; 4:K18; 5:K56; 6:K96)



Resim 3.4. Hasta ve kontrollere ait rastgele seçilmiş örnek Neurturin IVSI-663 PZR ürün jel görüntüsü (NK:Negatif Kontrol; 1:H68; 2:H70; 3:H72; 4:K39; 5:K41; 6:K43)

### 3.8.2. PZR ürünlerine kesim enzimi uygulanması

RET geni için 3 bölgeye uygulanan kesim enzim protokolleri aşağıda sunulmuştur.

#### RET G691S bölgesi BanI kesim enzimi uygulaması

Kesim reaksiyonuna ait protokol aşağıda verilmiştir:

- PZR ürünü..... 10 µL
- Nükleaz free moleküler su..... 18 µL
- 10x Buffer O.....2 µL
- Ban I.....1-2 U

Karışıma en son enzim eklendikten sonra pipetleme ile nazikçe karıştırılmış ve sonra 37° C'de 16 sa inkübe edilmiştir.

#### RET L769L bölgesi TaqI kesim enzimi uygulaması

Kesim reaksiyonuna ait protokol aşağıda verilmiştir:

- PZR ürünü..... 10 µL
- Nükleaz free moleküler su..... 18 µL
- 10x Buffer TaqI.....2 µL
- TaqI..... 1-2 U

Karışıma en son enzim eklendikten sonra pipetleme ile nazikçe karıştırılmış ve sonra 65° C'de 16 sa inkübe edilmiştir.

#### RET S904S bölgesi RsaI kesim enzimi uygulaması

Kesim reaksiyonuna ait protokol aşağıda verilmiştir:

- PZR ürünü..... 10 µL
- 10x ONE Tamponu..... 2 µL
- 100x BSA..... 0,5 µL
- RsaI.....1-2 U

Karışım Nükleaz free moleküler su ile 50 uL'ye tamamlanmıştır. Pipetleme ile nazikçe karıştırıldıktan sonra 37° C'de 2 sa inkübe edilmiştir.

Kesim enzimlerinin uygulanmasını takiben ürünler %1'lik agaroz jelde yürütülerek bantlar görüntülenmiştir. Kesim enzimi reaksiyonu için her bölgede kullanılan enzimler, ürün bant sayıları, uzunlukları ve adları Çizelge 3.4.'te verilmiştir.

Çizelge 3.4. RET G691S, L769L ve S904S SNP'leri için uygulanan kesim enzimleri ve kesim sonrası bant bilgileri

| Gen Bölgesi                    | Kesim Enzimi | Kesim Enzimi Sonrası Görülen Bant Uzunlukları ve Adları |                                  |                                           |
|--------------------------------|--------------|---------------------------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------------|
|                                |              | Yabanıl Tip                                             | Homozigot                        | Heterozigot                               |
| <b>RET G691S</b><br><b>A/G</b> | BanI         | GG, Tek bant<br>428 bç                                  | AA, İki bant<br>237 bç<br>191 bç | GA, Üç bant<br>428 bç<br>237 bç<br>191 bç |
| <b>RET L769L</b><br><b>T/G</b> | TaqI         | TT, Tek bant<br>460 bç                                  | GG, İki bant<br>270 bç<br>190 bç | TG, Üç bant<br>460 bç<br>270 bç<br>190 bç |
| <b>RET S904S</b><br><b>C/G</b> | RsaI         | CC, Tek bant<br>332 bç                                  | GG, İki bant<br>224 bç<br>108 bç | GC, Üç bant<br>332 bç<br>224 bç<br>108 bç |

### 3.9. Sekanslama ile Dizi Analizi

Neurturin IVSI-663 (rs1379868) bölgesi için kesim enziminin halihazırda üretilmemesi sebebiyle bu SNP'i tayin etmek için elde edilen PZR ürünlerinde sekanslama işlemi gerçekleştirilmiştir. PZR ürünü saflaştırma aşamasında, elde edilen tek bant örnekler için MAGBIO "HighPrep™ PCR Clean-up System" (AC-60005) saflaştırma kiti kullanılarak kit prosedürüne göre saflaştırılmıştır. Kit protokolü aşağıda verilmiştir:

- HighPrep™ PCR reaktifi iyice çalkalayarak manyetik boncuklar süspanse edilmiştir.
- PCR ürünleri 96 kuyucuklu plakaya aktararak 50µL'lik reaksiyon için steril su, HighPrep™ PCR reaktifi eklenmiştir.
- HighPrep™ PCR reaktifi ve PCR ürünlerini 6-8 kez pipetlenerek iyice karıştırılmıştır ve karışım oda sıcaklığında PCR temizleme sisteminde 5 dakika inkübe edilmiştir.
- Plaka manyetik ayırma cihazının üzerinde 3 dakika tutulmuştur ve ardından mıknatıs üzerinde pipetleme ile süpernatantı çıkarılarak atılmıştır.

- Plakanın her bir kuyucuğuna 200 µl %80 etanol eklenerek oda sıcaklığında 30 saniye inkübe edildikten sonra süpernatant pipetleme ile atılmıştır. Etanol ile yıkama işlemi 2 kez tekrar edilmiştir.
- Plakayı manyetik ayırma cihazı üzerindeyken oda sıcaklığında 10-15 dakika inkübe edilerek boncukları kurutulmuştur.
- Plaka manyetik ayırma cihazından çıkarılarak her kuyucuğa 40µl elüsyon tamponu, su ve TE tamponu eklenmiştir. 5 kez çekilip bırakılarak pipetlenip iyice karıştırılmıştır.
- Oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edildikten sonra plaka manyetik ayırma cihazında 3 dakika bekletilmiştir. Temizlenmiş süpernatant sonraki uygulamalar için yeni bir plakaya aktarılmıştır.

Saflaştırma işleminin ardından Sanger Dizileme örnekleri için ABI 3730XL Sanger dizileme cihazı (Applied Biosystems, Foster City, CA) ve BigDye Terminator v3.1 Cycle Dizileme Kiti (Applied Biosystems, Foster City, CA) kullanılmıştır. Elde edilen pikler Finch TV programında görüntülenerek sonuçlar değerlendirilmiştir.

### **3.10. ELISA Ölçümleri**

#### **3.10.1. Serum BDNF ölçümü**

Hasta ve kontrol gruplarından alınan serum örneklerinde BDNF ölçümü Elabscience markalı ELISA kit (Katalog No: E-EL-H0010) ile yapılmıştır. Kit protokolü aşağıda verilmiştir:

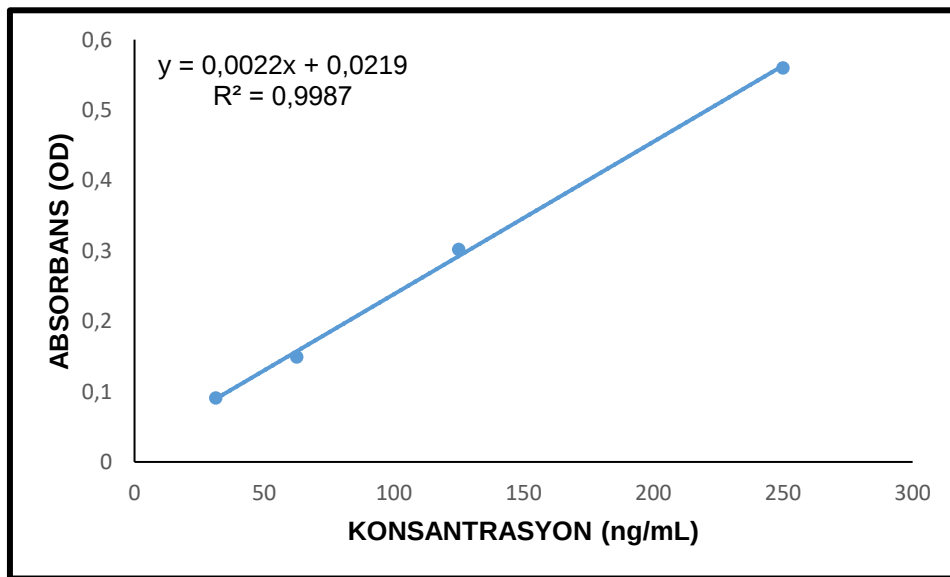
- Kör ve standart çalışma çözeltileri ile serum örneklerinden 100 µL alınarak plaka kuyucuklarına eklenmiştir. İşlem sonrasında plaka sızdırmazlık örtüsü ile kapatılarak 37° C'de 90 dk inkübe edilmiştir.
- İnkübasyon sonrası kuyucuklarda bulunan çözelti uzaklaştırılmıştır. Ardından her kuyucuğa 100 µL Biotinile Detection Ab çalışma solüsyonu eklenmiştir. Plaka çalkalayıcıda yavaşça karıştırılmıştır ve 37°C'de 1 saat inkübe edilmiştir.
- Solüsyon aspire edildikten sonra her kuyucuktan 350 µL yıkama tamponu eklenmiştir. 1-2 dakika bekletilip kuyucuklardan solüsyon aspire edilerek temiz bir havlu kağıda doğru kurulanmıştır. Bu yıkama adımı 3 kez tekrarlanmıştır.

- Her kuyucuğa 100 µL HRP Konjugat çalışma solüsyonu eklenmiştir. Plaka sızdırmazlık örtüsü ile kaplanarak 37°C'de 30 dk inkübe edilmiştir.
- Çözelti her kuyucuktan aspire edilip 350 µL yıkama tamponu eklenmiştir. 1-2 dakika bekletilip her kuyucuktan solüsyon aspire edilmiştir. Bu yıkama adımı 5 kez tekrarlanmıştır.
- Her kuyucuğa 90 µL Substrat Reaktifi eklenmiştir. Yeni bir plaka örtüsü ile kaplanarak ışıktan uzak bir ortamda 37°C'de yaklaşık 15 dk inkübe edilmiştir.
- Her kuyucuğa 50 µL Stop Solüsyonu eklenmiştir.
- Plaka 450 nm'ye ayarlanmış mikro-plaka okuyucuya yerleştirilerek her kuyucuğun absorbansı ölçülmüştür.

Standart konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerlerinden kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur (Çizelge 3.5.) (Şekil 3.2.).

Çizelge 3.5. BDNF standart konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerleri

| Konsantrasyon (ng/mL) | Absorbans |
|-----------------------|-----------|
| 250                   | 0,560     |
| 125                   | 0,302     |
| 62                    | 0,149     |
| 31                    | 0,091     |



Şekil 3.2. Standart BDNF kalibrasyon grafiği

### Gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik

BDNF yöntem kesinliğinin belirlenmesi için gün içi ve günler arası 3 örnek seçilerek ölçümleri yapılmıştır (Sırasıyla Çizelge 3.6. ve Çizelge 3.7.).

Çizelge 3.6. Serum BDNF değerleri gün içi tekrarlanabilirlik

|                     | Örnek 1 | Örnek 2 | Örnek 3 |
|---------------------|---------|---------|---------|
| 1.ölçüm (ng/mL)     | 9,85    | 12,74   | 12,47   |
| 2.ölçüm (ng/mL)     | 10,75   | 14,25   | 12,76   |
| 3.ölçüm (ng/mL)     | 10,32   | 11,42   | 13,79   |
| Ortalama değer      | 10,09   | 12,08   | 13,13   |
| Standart sapma      | 0,33    | 0,93    | 0,93    |
| Varyasyon katsayısı | 3,30    | 7,73    | 7,11    |

Çizelge 3.7. Serum BDNF değerleri günler arası tekrarlanabilirlik

|                     | Örnek 1 | Örnek 2 | Örnek 3 |
|---------------------|---------|---------|---------|
| 1.ölçüm (ng/mL)     | 5,49    | 18,97   | 17,19   |
| 2.ölçüm (ng/mL)     | 5,17    | 17,82   | 16,88   |
| 3.ölçüm (ng/mL)     | 5,72    | 19,22   | 17,61   |
| Ortalama değer      | 5,61    | 19,10   | 17,40   |
| Standart sapma      | 0,16    | 0,18    | 0,30    |
| Varyasyon katsayısı | 2,90    | 0,93    | 1,71    |

### **3.10.2. Serum NRTN ölçümü**

Hasta ve kontrol gruplarından alınan serum örneklerinde Neurturin ölçümü SunRed Biotechnology Company ELISA kiti (201-12-4385) ile yapılmıştır. Kit protokolü aşağıda verilmiştir:

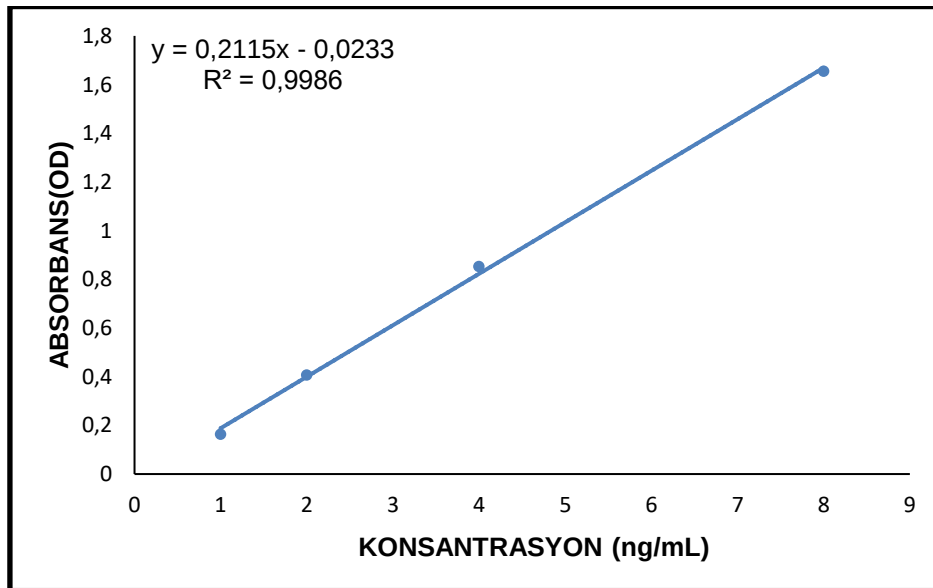
- Standart çalışma ve kör çözeltilerinden 50 µL, serum örneklerinden 40 µL alınarak plaka kuyucuklarına eklenmiştir.
- Ardından her kuyucuğa 10 µL NRTN antibody solüsyonu ve 50 µL Streptavidin-HRP eklenmiştir.
- İşlem sonrasında plaka sızdırmazlık örtüsü ile kapatılarak 37°C'de 60 dk inkübe edilmiştir.

- Kuyucuklardan solüsyon aspire edildikten sonra her kuyucuğa 350 µL yıkama tamponu eklenmiştir. 1-2 dakika bekletilip kuyucuklardan solüsyon aspire edilmiştir. Bu yıkama adımı 5 kez tekrarlanmıştır.
- Her kuyucuğa 50 µL Kromojen A solüsyonu ve 50 µL Kromojen B solüsyonu eklenmiştir. Yeni bir plaka örtüsü ile kaplanarak ışıktan uzak bir ortamda 37°C'de 10 dk inkübe edilmiştir.
- Kuyucuklara 50 µL Stop Solüsyonu eklenmiştir.
- Plaka 450 nm'ye ayarlanmış mikro-plaka okuyucuya yerleştirilerek her kuyucuktaki çözeltinin absorbansı ölçülmüştür.

Standart konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerlerinden kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur (Çizelge 3.8.) (Şekil 3.3.).

Çizelge 3.8. Neurturin standart konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerleri

| Konsantrasyon<br>(ng/mL) | Absorbans |
|--------------------------|-----------|
| 8                        | 1,655     |
| 4                        | 0,853     |
| 2                        | 0,408     |
| 1                        | 0,164     |



Şekil 3.3. Standart Neurturin kalibrasyon grafiği

### Gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik

Neurturin yöntem kesinliğinin belirlenmesi için gün içi ve günler arası 3 örnek seçilerek ölçümleri yapılmıştır (Sırasıyla Çizelge 3.9. ve Çizelge 3.10.).

Çizelge 3.9. Serum Neurturin değerleri gün içi tekrarlanabilirlik

|                     | Örnek 1 | Örnek 2 | Örnek 3 |
|---------------------|---------|---------|---------|
| 1.ölçüm (ng/mL)     | 0,53    | 0,65    | 0,71    |
| 2.ölçüm (ng/mL)     | 0,47    | 0,63    | 0,76    |
| 3.ölçüm (ng/mL)     | 0,49    | 0,71    | 0,72    |
| Ortalama değer      | 0,50    | 0,68    | 0,72    |
| Standart sapma      | 0,03    | 0,04    | 0,01    |
| Varyasyon katsayısı | 6,15    | 6,24    | 0,99    |

Çizelge 3.10. Serum Neurturin değerleri günler arası tekrarlanabilirlik

|                     | Örnek 1 | Örnek 2 | Örnek 3 |
|---------------------|---------|---------|---------|
| 1.ölçüm (ng/mL)     | 9,82    | 1,37    | 0,62    |
| 2.ölçüm (ng/mL)     | 10,68   | 1,32    | 0,66    |
| 3.ölçüm (ng/mL)     | 10,25   | 1,33    | 0,69    |
| Ortalama değer      | 10,04   | 1,34    | 0,66    |
| Standart sapma      | 0,30    | 0,03    | 0,04    |
| Varyasyon katsayısı | 3,03    | 1,97    | 5,35    |

### **3.10.3. Serum MMP-2 ölçümü**

Hasta ve kontrol gruplarından alınan serum örneklerinde MMP-2 ölçümü Elabscience markalı ELISA kit (Katalog No: E-EL-H1445) ile yapılmıştır. Kit protokolü aşağıda verilmiştir:

- Kör ve standart çalışma çözeltileri ile serum örneklerinden 100 µL alınarak plaka kuyucuklarına eklenmiştir. İşlem sonrasında plakayı kitte verilen sızdırmazlık örtüsü ile kapatılarak 37° C'de 90 dk inkübe edilmiştir.
- İnkübasyon sonrası kuyucuklarda bulunan çözelti uzaklaştırılmıştır. Ardından her kuyucuğa 100 µL Biotinile Detection Ab çalışma solüsyonu eklenmiştir.

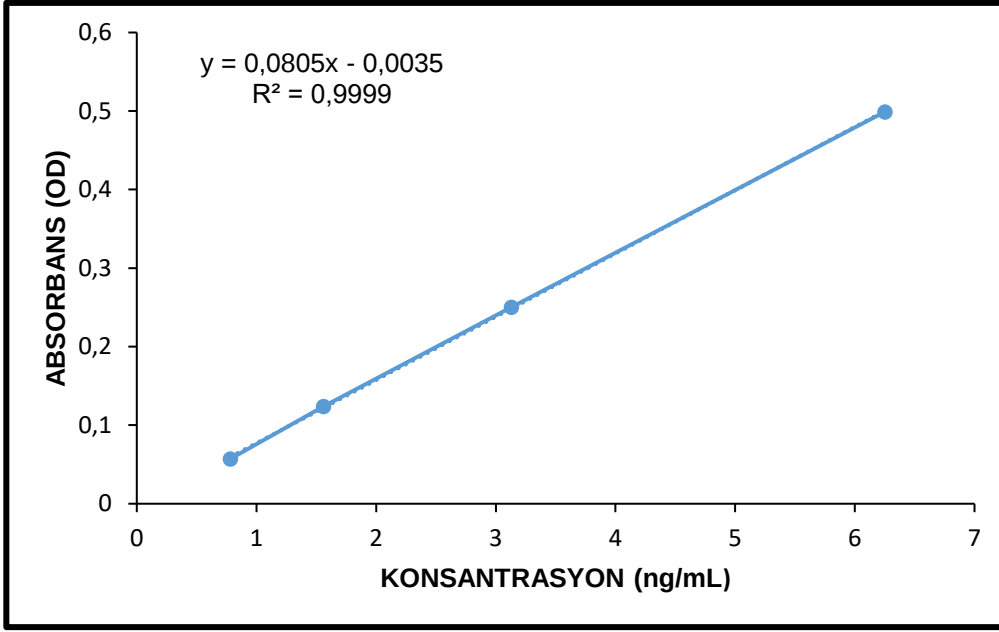
Plaka çalkalayıcıda yavaşça karıştırılmıştır ve 37°C'de 1 saat inkübe edilmiştir.

- Solüsyon aspire edildikten sonra her kuyucuktan 350 µL yıkama tamponu eklenmiştir. 1-2 dakika bekletilip kuyucuklardan solüsyon aspire edilerek temiz bir havlu kağıda doğru kurulanmıştır. Bu yıkama adımı 3 kez tekrarlanmıştır.
- Her kuyucuğa 100 µL HRP Konjugat çalışma solüsyonu eklenmiştir. Plaka sızdırmazlık örtüsü ile kaplanarak 37°C'de 30 dk inkübe edilmiştir.
- Çözelti her kuyucuktan aspire edilip 350 µL yıkama tamponu eklenmiştir. 1-2 dakika bekletilip her kuyucuktan solüsyon aspire edilmiştir. Bu yıkama adımı 5 kez tekrarlanmıştır.
- Her kuyucuğa 90 µL Substrat Reaktifi eklenmiştir. Yeni bir plaka örtüsü ile kaplanarak ışıktan uzak bir ortamda 37°C'de yaklaşık 15 dk inkübe edilmiştir.
- Her kuyucuğa 50 µL Stop Solüsyonu eklenmiştir.
- Plaka 450 nm'ye ayarlanmış mikro-plaka okuyucuya yerleştirilerek her kuyucuğun absorbanı ölçülmüştür.

Standart konsantrasyonlara karşılık gelen absorban değerlerinden kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur (Çizelge 3.11.) (Şekil 3.4.).

Çizelge 3.11. MMP-2 standart konsantrasyonlarına karşılık gelen absorban değerleri

| Konsantrasyon<br>(ng/mL) | Absorbans |
|--------------------------|-----------|
| 6,25                     | 0,499     |
| 3,13                     | 0,250     |
| 1,56                     | 0,124     |
| 0,78                     | 0,057     |



Şekil 3.4. Standart MMP-2 kalibrasyon grafiği

#### Gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik

MMP-2 yöntem kesinliğinin belirlenmesi için gün içi ve günler arası 3 örnek seçilerek ölçümleri yapılmıştır (Sırasıyla Çizelge 3.12. ve Çizelge 3.13.).

Çizelge 3.12. Serum MMP-2 değerleri gün içi tekrarlanabilirlik

|                     | Örnek 1 | Örnek 2 | Örnek 3 |
|---------------------|---------|---------|---------|
| 1.ölçüm (ng/mL)     | 141,13  | 83,39   | 106,22  |
| 2.ölçüm (ng/mL)     | 144,74  | 86,85   | 115,57  |
| 3.ölçüm (ng/mL)     | 146,8   | 84,83   | 107,03  |
| Ortalama değer      | 143,97  | 84,11   | 106,63  |
| Standart sapma      | 4,01    | 1,02    | 0,57    |
| Varyasyon katsayısı | 2,78    | 1,21    | 0,54    |

Çizelge 3.13. Serum MMP-2 değerleri günler arası tekrarlanabilirlik

|                     | Örnek 1 | Örnek 2 | Örnek 3 |
|---------------------|---------|---------|---------|
| 1.ölçüm (ng/mL)     | 113,44  | 112,23  | 80,74   |
| 2.ölçüm (ng/mL)     | 117,71  | 115,76  | 82,07   |
| 3.ölçüm (ng/mL)     | 116,17  | 110,42  | 81,48   |
| Ortalama değer      | 114,81  | 111,33  | 81,11   |
| Standart sapma      | 1,93    | 1,28    | 0,52    |
| Varyasyon katsayısı | 1,68    | 1,15    | 0,65    |

#### 3.10.4. Serum FAK ölçümü

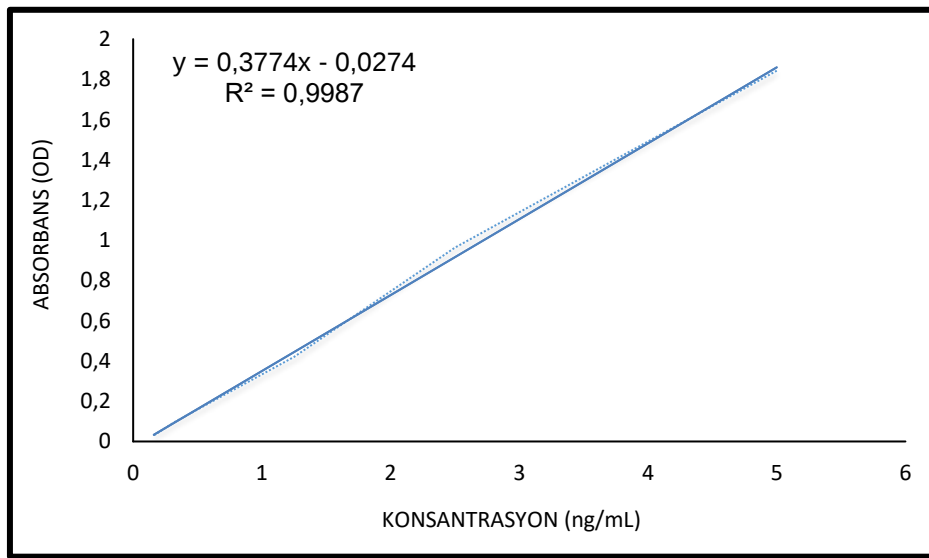
Hasta ve kontrol gruplarından alınan serum örneklerinde FAK ölçümü Elabscience markalı ELISA kit (Katalog No: E-EL-H1771) ile yapılmıştır. Kit protokolü aşağıda verilmiştir:

- Kör ve standart çalışma çözeltileri ile serum örneklerinden 100 µL alınarak plaka kuyucuklarına eklenmiştir. İşlem sonrasında plaka sızdırmazlık örtüsü ile kapatılarak 37°C'de 90 dk inkübe edilmiştir.
- İnkübasyon sonrası kuyucuklarda bulunan çözelti uzaklaştırılmıştır. Ardından her kuyucuğa 100 µL Biotinile Detection Ab çalışma solüsyonu eklenmiştir. Plaka çalkalayıcıda yavaşça karıştırılmıştır ve 37°C'de 1 saat inkübe edilmiştir.
- Solüsyon aspire edildikten sonra her kuyucuktan 350 µL yıkama tamponu eklenmiştir. 1-2 dakika bekletilip kuyucuklardan solüsyon aspire edilerek temiz bir havlu kağıda doğru kurulanmıştır. Bu yıkama adımı 3 kez tekrarlanmıştır.
- Her kuyucuğa 100 µL HRP Konjugat çalışma solüsyonu eklenmiştir. Plaka sızdırmazlık örtüsü ile kaplanarak 37°C'de 30 dk inkübe edilmiştir.
- Çözelti her kuyucuktan aspire edilip 350 µL yıkama tamponu eklenmiştir. 1-2 dakika bekletilip her kuyucuktan solüsyon aspire edilmiştir. Bu yıkama adımı 5 kez tekrarlanmıştır.
- Her kuyucuğa 90 µL Substrat Reaktifi eklenmiştir. Yeni bir plaka örtüsü ile kaplanarak ışıktan uzak bir ortamda 37°C'de yaklaşık 15 dk inkübe edilmiştir.
- Her kuyucuğa 50 µL Stop Solüsyonu eklenmiştir.
- Plaka 450 nm'ye ayarlanmış mikro-plaka okuyucuya yerleştirilerek her kuyucuğun absorbansı ölçülmüştür.

Standart konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerlerinden kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur (Çizelge 3.14.) (Şekil 3.5.).

Çizelge 3.14. FAK standart konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerleri

| Konsantrasyon (ng/mL) | Absorbans |
|-----------------------|-----------|
| 5                     | 1,843     |
| 2,5                   | 0,963     |
| 1,25                  | 0,42      |
| 0,63                  | 0,205     |
| 0,32                  | 0,096     |
| 0,16                  | 0,026     |



Şekil 3.5. Standart FAK kalibrasyon grafiği

Gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik

FAK yöntem kesinliğinin belirlenmesi için gün içi ve günler arası 3 örnek seçilerek ölçümleri yapılmıştır (Sırasıyla Çizelge 3.15. ve Çizelge 3.16.).

Çizelge 3.15. Serum FAK değerleri gün içi tekrarlanabilirlik

|                     | Örnek 1 | Örnek 2 | Örnek 3 |
|---------------------|---------|---------|---------|
| 1.ölçüm (ng/mL)     | 0,33    | 0,28    | 0,29    |
| 2.ölçüm (ng/mL)     | 0,32    | 0,27    | 0,27    |
| 3.ölçüm (ng/mL)     | 0,37    | 0,31    | 0,3     |
| Ortalama değer      | 0,35    | 0,30    | 0,30    |
| Standart sapma      | 0,03    | 0,02    | 0,01    |
| Varyasyon katsayısı | 8,08    | 7,19    | 2,40    |

Çizelge 3.16. Serum FAK değerleri günler arası tekrarlanabilirlik

|                     | Örnek 1 | Örnek 2 | Örnek 3 |
|---------------------|---------|---------|---------|
| 1.ölçüm (ng/mL)     | 0,68    | 1,51    | 0,35    |
| 2.ölçüm (ng/mL)     | 0,73    | 1,5     | 0,29    |
| 3.ölçüm (ng/mL)     | 0,78    | 1,33    | 0,33    |
| Ortalama değer      | 0,73    | 1,42    | 0,34    |
| Standart sapma      | 0,07    | 0,13    | 0,01    |
| Varyasyon katsayısı | 9,69    | 8,96    | 4,16    |

### 3.11. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen verilerin analizinde SPSS versiyon 26 istatistik paket programı kullanılmıştır. Varsayım kontrolleri için Kolmogorov-Smirnov testi, Q-Q plot ve Levene's testi uygulanmıştır. Tanımlayıcı istatistiklerde ortalama±standart hata değerleri verilmiştir. Kantitatif değişkenlere ait ortalamaların ikili gruplara göre (kontrol-hasta, menapoz öncesi-sonrası, yaş <40 ve ≥40, ER- PR- CerbB2 pozitif-negatif, tümör çapı, homozigot, yabanıl ve heterozigot genotipi, ailede meme kanseri durumu vb.) karşılaştırılmasında bağımsız örneklem t testi (student's t test), varsayımların sağlanmadığı durumlarda Mann-Whitney U ya da Welch's T testi kullanılmıştır. Grup sayısının ikiden fazla olduğu durumlarda tek yönlü varyans analizi (One Way ANOVA), alternatif olarak Kruskal-Wallis testi uygulanmış ve anlamlı farklılığın bulunduğu durumlarda Tukey testi veya Dunn's Post Hoc testi kullanılmıştır. Kalitatif değişkenlerde sıklık karşılaştırmaları ile genotip ve alel frekanslarına göre kontrol-hasta dağılımlarının karşılaştırılmasında Pearson's ki-kare analizi ve gerekli durumlarda Fisher's Exact testi yapılmıştır. Dört farklı SNP bölgesindeki genotip farklılıklar ve alelik durumlarının hastalık durumu üzerindeki meme kanseri risk ilişkisinin incelenmesinde lojistik regresyon analizi kullanılmıştır. Serum biyokimya parametrelerinin birbirleri ile olan ilişkilerinin incelenmesinde kontrol ve hasta gruplarında ayrı olacak şekilde pearson korelasyon katsayısı esas alınmıştır ve anlamlı ilişkinin görüldüğü durumlar için parametreler arasında saçılım grafiği ile gösterim sağlanmıştır. Kullanılan tüm testler çift yönlü hipotez kabul edilerek uygulanmış olup  $p < 0,05$  kriteri esas alınarak anlamlılık değerlendirilmiştir.



#### 4. BULGULAR

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Genel Cerrahi polikliniği ve Dr. Abdurrahman Yurtaslan Genel Cerrahi polikliniği olmak üzere iki merkezli yürütülen çalışmada Aralık 2018-Temmuz 2020 tarihleri arasında merkezlere başvuran 110 meme kanserli hasta ve 110 sağlıklı kadın yer almaktadır. Hasta ve kontrol grubunun karakteristik özellikleri Çizelge 4.1.'de verilmiştir. Hasta ve kontrol grubu yaş, VKİ, menopoz yaşı, ilk menarş yaşı, ailede meme kanseri bulunma durumu, fiziksel aktivite, sigara ve alkol kullanımı açısından karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

Çizelge 4.1. Hasta ve kontrol grubunun karakteristik özellikleri

|                                      |                 | Hasta (n=110) | Kontrol (n=110) |
|--------------------------------------|-----------------|---------------|-----------------|
| <b>Yaş (yıl) (X±SH)</b>              |                 | 53,2±1,21     | 51,94±1,28      |
| <b>Yaş grupları (X±SH)</b>           | <50             | 46 (%41,8)    | 49 (%44,5)      |
|                                      | ≥50             | 64 (%58,2)    | 61 (%55,5)      |
| <b>VKİ (kg/m<sup>2</sup>) (X±SH)</b> |                 | 27,58±0,44    | 27,77±0,46      |
| <b>VKİ grupları</b>                  | ≤25             | 1 (%0,9)      | 3 (%2,7)        |
|                                      | 25< ve ≤40      | 17 (%15,5)    | 20 (%18,2)      |
|                                      | >40             | 92 (%83,6)    | 87 (%79,1)      |
| <b>Menopoz yaşı (yıl) (X±SH)</b>     |                 | 46,12±1,43    | 47,31±1,36      |
| <b>Menopoz durumu</b>                | Menopoz Öncesi  | 48            | 57              |
|                                      | Menopoz Sonrası | 62            | 53              |
| <b>İlk menarş yaşı (X±SH)</b>        |                 | 13,05±0,13    | 12,99±0,14      |
| <b>İlk menarş yaşı grupları</b>      | <12             | 13            | 12              |
|                                      | ≥12             | 97            | 98              |
| <b>Ailede meme kanseri öyküsü</b>    | Var             | 26            | -               |
|                                      | Yok             | 64            | -               |
| <b>Sigara kullanımı</b>              | Var             | 19 (%17,3)    | 21 (%19,1)      |
|                                      | Yok             | 91 (%82,7)    | 89 (%80,9)      |
| <b>Alkol kullanımı</b>               | Var             | 4 (%3,6)      | 4 (%3,6)        |
|                                      | Yok             | 106 (%96,4)   | 106 (%96,4)     |
| <b>Fiziksel Aktivite</b>             | Hafif           | 27 (%35,06)   | -               |
|                                      | Orta            | 39 (%50,65)   | -               |
|                                      | Ağır            | 11 (%14,29)   | -               |

Hasta grubu dağılımı moleküler alt tip, histolojik alt tip, reseptör durumları, tümör boyutu 2 cm'den küçük ve 2 cm'den büyük; tümör derecesi 1, 2, 3 ve Ki67 proliferasyonuna göre yapılmıştır (Çizelge 4.2.).

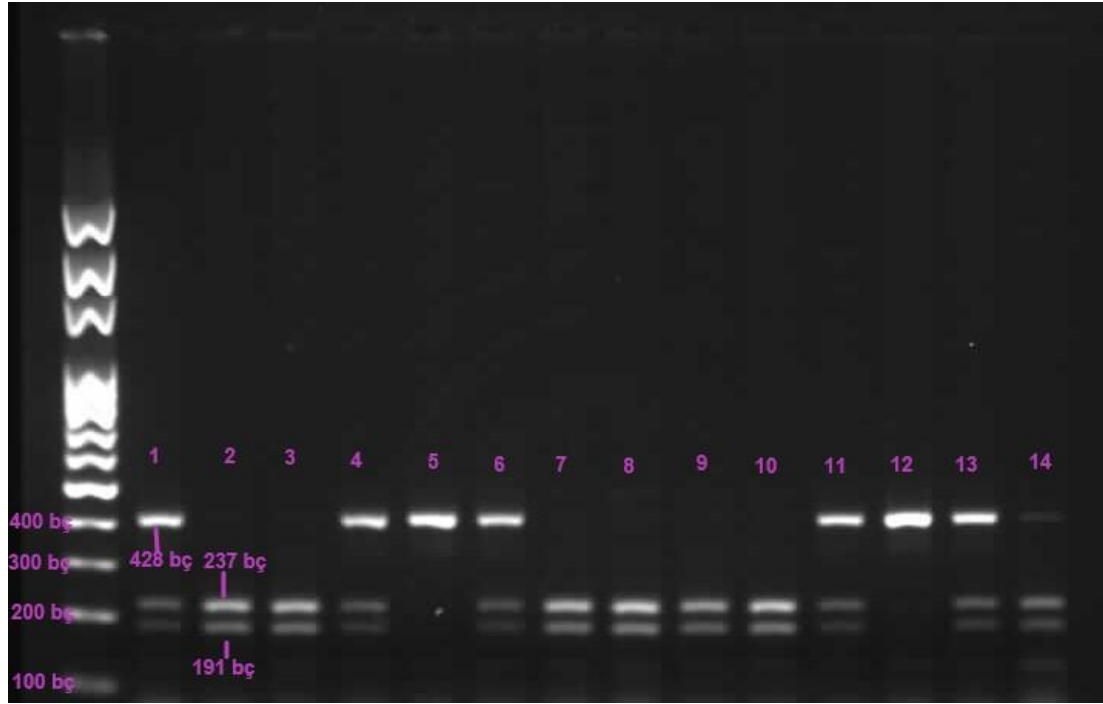
Çizelge 4.2. Hasta grubu dağılımı

|                       |                          | n  | %    |
|-----------------------|--------------------------|----|------|
| <b>Histolojik</b>     | Duktal Karsinoma İn situ | 15 | 13,6 |
|                       | İnvaziv Duktal Karsinom  | 72 | 65,5 |
|                       | İnvaziv Lobüler Karsinom | 8  | 7,2  |
|                       | Miks Tip                 | 9  | 8,2  |
|                       | Diğer                    | 6  | 5,5  |
| <b>Moleküler</b>      | Luminal A                | 24 | 25   |
|                       | Luminal B                | 59 | 61,5 |
|                       | Her2                     | 6  | 6,2  |
|                       | Bazal Tip                | 7  | 7,3  |
| <b>ER durumu</b>      | Pozitif                  | 85 | 86,7 |
|                       | Negatif                  | 13 | 13,3 |
| <b>PR durumu</b>      | Pozitif                  | 78 | 81,2 |
|                       | Negatif                  | 18 | 18,8 |
| <b>HER2 durumu</b>    | Pozitif                  | 28 | 30,1 |
|                       | Negatif                  | 65 | 69,9 |
| <b>Tümör Boyutu</b>   | ≤2 cm                    | 40 | 36,4 |
|                       | >2 cm                    | 36 | 32,7 |
|                       | Bilinmeyen               | 34 | 30,9 |
| <b>Tümör Derecesi</b> | 1                        | 17 | 15,5 |
|                       | 2                        | 41 | 37,3 |
|                       | 3                        | 36 | 32,7 |
|                       | Bilinmeyen               | 16 | 14,5 |
| <b>Ki-67</b>          | <20                      | 43 | 39,1 |
|                       | 20≤                      | 47 | 42,7 |
|                       | Bilinmeyen               | 20 | 18,2 |

#### 4.1. Polimorfizmler

##### 4.1.1. RET G691S polimorfizmi (rs1799939)

Hasta ve kontrol gruplarında RET geni ekzon 11'de bulunan G691S bölgesinin analizi yapılmıştır. Çalışma grubunun DNA örneklerinden PZR ürünlerinin elde edilmesini takiben BanI kesim enzimi uygulanmıştır. %1'lik jelde elektroforez işlemi sonucunda kesim ürünlerine ait bantlar elde edilmiştir. 428 bç'de yabancı tip olan GG genotipi tek bant, 237 bç ve 191 bç'de homozigot AA genotipi iki bant, 428 bç, 237 bç ve 191 bç'de heterozigot GA genotipi üç bant halinde tespit edilmiştir. Kesim işlemi sonrasında elde edilen örnek jel görüntüsü Resim 4.1.'de verilmiştir.



Resim 4.1. RET G691S polimorfizmi kesim sonrası jel görüntüleri (H:Hasta, K:Kontrol) (1:H15, 2:H81, 3:H92, 4:H90, 5:H75, 6:H53, 7:H23, 8:K55, 9:K22, 10:K105, 11:K3, 12:K80, 13:K69, 14:K49)

G691S genotip dağılımı hasta grubunda %7,3 AA, %34,5 GA, %58,2 GG ve kontrol grubunda %5,5 AA, %32,7 GA, %61,8 GG olarak bulunmuştur. Alel frekansı dağılımı hasta grubunda %75,5 G, %24,5 A ve kontrol grubunda %78,2 G, %21,8 A'dır. RET G691S polimorfizmi ile meme kanseri riski arasındaki ilişki incelendiğinde, heterozigot GA genotipine göre AA ve GG genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Alel frekansı ile hastalık riski ilişkisi açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.3.).

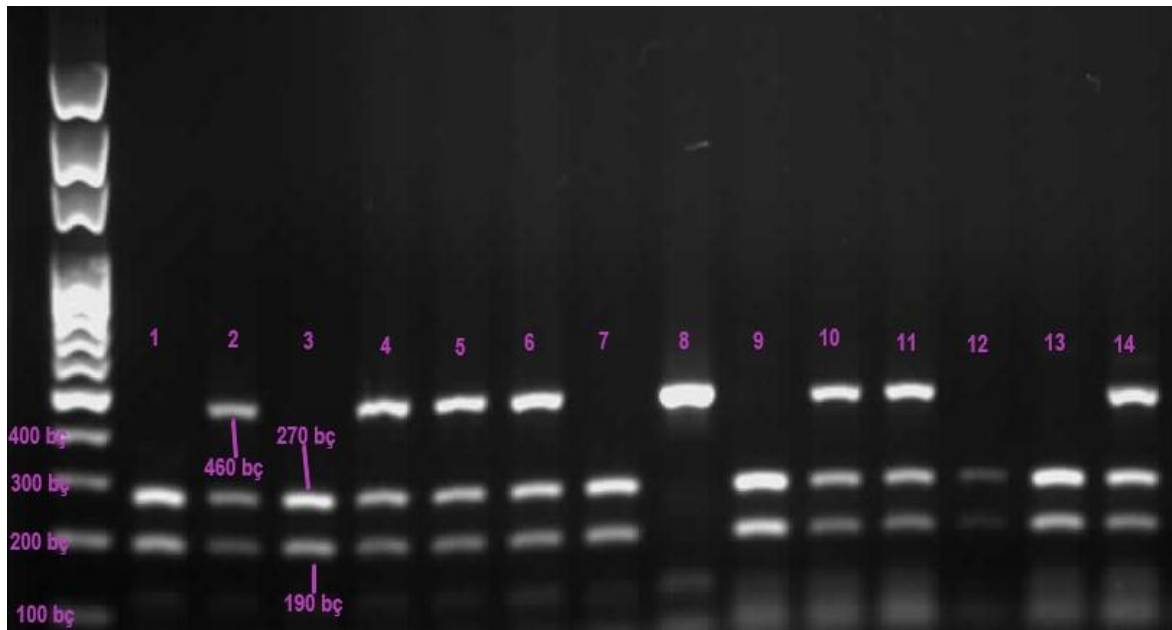
Çizelge 4.3. Çalışma gruplarına ait G691S genotip ve alel dağılımları

|                             |    | Kontrol<br>Grubu<br>(n=110) | Hasta<br>Grubu<br>(n=110) | x <sup>2</sup> Testi           | OR (95% GA)           | p     |
|-----------------------------|----|-----------------------------|---------------------------|--------------------------------|-----------------------|-------|
| <b>Alel<br/>Frekansı</b>    | G  | 172 (%78,2)                 | 166 (%75,5)               | x <sup>2</sup> =0,49<br>p>0,05 | 1 (referans)          | -     |
|                             | A  | 48 (%21,8)                  | 54 (%24,5)                |                                | 1,166<br>(0,748-1,82) | >0,05 |
| <b>Genotip<br/>Dağılımı</b> | AA | 6 (%5,5)                    | 8 (%7,3)                  | x <sup>2</sup> =0,79<br>p>0,05 | 1,263<br>(0,399-4)    | >0,05 |
|                             | GA | 36 (%32,7)                  | 38 (%34,5)                |                                | 1 (referans)          | -     |
|                             | GG | 68 (%61,8)                  | 64 (%58,2)                |                                | 0,892<br>(0,050-1,58) | >0,05 |

OR: Olasılıklar oranı, GA: Güven Aralığı

#### 4.1.2. RET L769L polimorfizmi (rs1800861)

Hasta ve kontrol gruplarında RET geni ekzon 13'te bulunan L769L bölgesinin analizi yapılmıştır. Çalışma grubunun DNA örneklerinden PZR ürünlerinin elde edilmesini takiben TaqI kesim enzimi uygulanmıştır. %1'lik jelde elektroforez işlemi sonucunda kesim ürünlerine ait bantlar elde edilmiştir. 460 bç'de yabancı tip olan TT genotipi tek bant, 270 bç ve 190 bç'de homozigot GG genotipi iki bant, 460 bç, 270 bç ve 190 bç'de heterozigot TG genotipi üç bant halinde tespit edilmiştir. Kesim işlemi sonrasında elde edilen örnek jel görüntüsü Resim 4.2.'de verilmiştir.



Resim 4.2. RET L769L polimorfizmi kesim sonrası jel görüntüleri (H:Hasta, K:Kontrol) (1:H9, 2:H34, 3:H60, 4:H53, 5:H84, 6:H104, 7:H68, 8:K24, 9:K8, 10:K49, 11:K69, 12:K88, 13:K103, 14:K95)

L769L genotip dağılımı hasta grubunda %8,2 GG, %44,5 TG, %47,3 TT ve kontrol grubunda %13,6 GG, %39,1 TG, %47,3 TT olarak bulunmuştur. Alel frekansı dağılımı hasta grubunda %30,5 G, %69,5 T ve kontrol grubunda %33,2 G, %66,8 T 'dir. RET L769L polimorfizmi ile meme kanseri riski arasındaki ilişki incelendiğinde, heterozigot TG genotipine göre GG ve TT genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Alel frekansı ile meme kanseri riski arasındaki ilişki açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.4.).

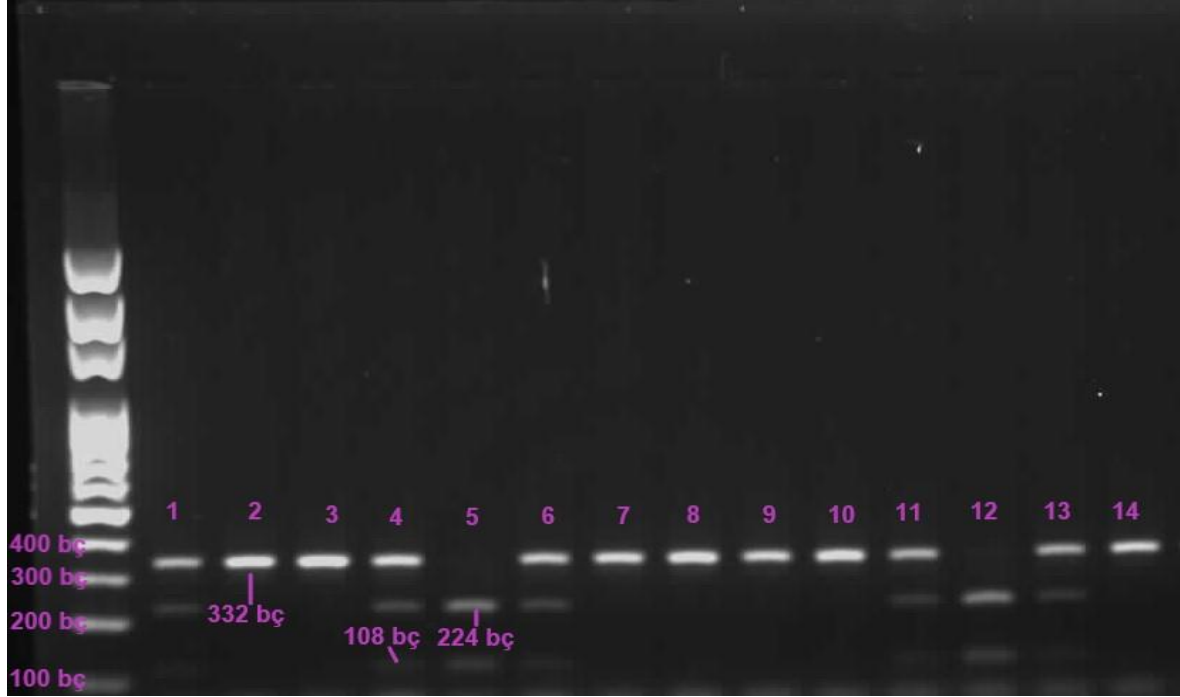
Çizelge 4.4. Çalışma gruplarına ait L769L genotip ve alel dağılımları

|                     |    | Kontrol<br>Grubu<br>(n=110) | Hasta<br>Grubu<br>(n=110) | $\chi^2$ Testi             | OR (95% GA)           | p     |
|---------------------|----|-----------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------|-------|
| Alel<br>Frekansı    | T  | 147 (%66,8)                 | 153 (%69,5)               | $\chi^2= 0,54$<br>$p>0,05$ | 0,882<br>(0,59-1,32)  | >0,05 |
|                     | G  | 73 (%33,2)                  | 67 (%30,5)                |                            | 1 (referans)          |       |
| Genotip<br>Dağılımı | GG | 15 (%13,6)                  | 9 (%8,2)                  | $\chi^2=0,39$<br>$p>0,05$  | 0,527<br>(0,209-1,32) | >0,05 |
|                     | TG | 43 (%39,1)                  | 49 (%44,5)                |                            | 1 (referans)          |       |
|                     | TT | 52 (%47,3)                  | 52 (%47,3)                |                            | 0,878<br>(0,500-1,54) |       |

OR: Olasılıklar oranı, GA: Güven Aralığı

#### 4.1.3. RET S904S polimorfizmi (rs1800863)

Hasta ve kontrol gruplarında RET geni ekzon 15'te bulunan S904S bölgesinin analizi yapılmıştır. Çalışma grubunun DNA örneklerinden PZR ürünlerinin elde edilmesini takiben RsaI kesim enzimi uygulanmıştır. %1'lik jelde elektroforez işlemi sonucunda kesim ürünlerine ait bantlar elde edilmiştir. 332 bç'de yabancı tip olan CC genotipi tek bant, 224 bç ve 108 bç'de homozigot GG genotipi iki bant, 332 bç, 224 bç ve 108 bç'de heterozigot GC genotipi üç bant halinde tespit edilmiştir. Kesim işlemi sonrasında elde edilen örnek jel görüntüsü Resim 4.3.'de verilmiştir.



Resim 4.3. RET S904S polimorfizmi kesim sonrası jel görüntüleri (H:Hasta, K:Kontrol) (1:H24, 2:H11, 3:H40, 4:H58, 5:H69, 6:H100, 7:H108, 8:K16, 9:K22, 10:K22, 11:K43, 12:K46, 13:K92, 14:K100)

S904S genotip dağılımı hasta grubunda %8,2 GG, %33,6 GC, %58,2 CC ve kontrol grubunda %7,3 GG, %31,8 GC, %60,9 CC olarak bulunmuştur. Alel frekansı dağılımı hasta grubunda %75 C, %25 G ve kontrol grubunda %76,8 C, %33,2 G 'dir. RET S904S polimorfizmi ile meme kanseri riski arasındaki ilişki incelendiğinde, heterozigot GC genotipine göre GG ve CC genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Alel frekansı ile meme kanseri riski arasındaki ilişki açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.5.).

Çizelge 4.5. Çalışma gruplarına ait S904S genotip ve alel dağılımları

|                             |    | <b>Kontrol<br/>Grubu<br/>(n=110)</b> | <b>Hasta<br/>Grubu<br/>(n=110)</b> | <b>x<sup>2</sup> Testi</b>      | <b>OR (95% GA)</b>    | <b>p</b> |
|-----------------------------|----|--------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|-----------------------|----------|
| <b>Alel<br/>Frekansı</b>    | C  | 169 (%76,8)                          | 165 (%75)                          | x <sup>2</sup> =0,656<br>p>0,05 | 1 (referans)          | -        |
|                             | G  | 51 (%33,2)                           | 55 (%25)                           |                                 | 1,105<br>(0,713-1,71) | >0,05    |
| <b>Genotip<br/>Dağılımı</b> | GG | 8 (%7,3)                             | 9 (%8,2)                           | x <sup>2</sup> =0,913<br>p>0,05 | 1,064<br>(0,369-3,07) | >0,05    |
|                             | GC | 35 (%31,8)                           | 37 (%33,6)                         |                                 | 1 (referans)          | -        |
|                             | CC | 67 (%60,9)                           | 64 (%58,2)                         |                                 | 0,904<br>(0,508-1,61) | >0,05    |

OR: Olasılıklar oranı, GA: Güven Aralığı

#### 4.1.4 Neurturin IVSI-663 polimorfizmi (rs1379868)

Neurturin IVSI-663 polimorfizminin analizi için kesim enziminin üretilmemesi sebebiyle PZR ürünleri elde edilmiş ve ardından genotip ve alel tayini amacıyla sekanslama işlemi yapılmıştır. Belirlenen DNA dizileri Finch TV programında görüntülenerek değerlendirilmiştir.

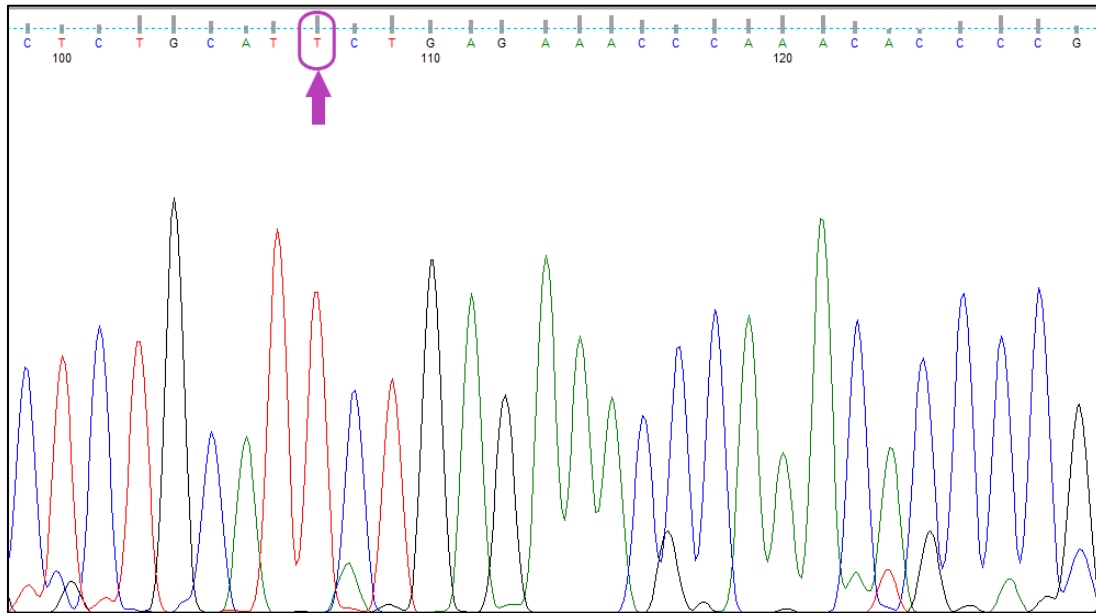
IVSI-663 genotip dağılımı hasta grubunda %20 GG, %19,1 GA, %60,9 AA ve kontrol grubunda %16,4 GG, %10 GA, %73,6 AA olarak bulunmuştur. Alel frekansı dağılımı hasta grubunda %70,5 A, %29,5 G ve kontrol grubunda %78,6 A, %21,4 G'dir. Neurturin IVSI-663 polimorfizmi ile meme kanseri riski arasındaki ilişki alel frekansı açısından incelendiğinde, A aleli referansında G alelinde istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmuştur. Bu farklılık G alelinin meme kanseri riskini arttırdığını göstermektedir (p<0,05, OR:1,544, GA:1,001-2,38). Genotip dağılımı yönünden yapılan değerlendirmede heterozigot GA genotipi referansında AA genotipinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ve bu farklılık meme kanseri riskinin azaldığını göstermektedir (p<0,05, OR: 0,433, GA:0,195-0,962). Referans genotip ile GG genotipi arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p>0,05) (Çizelge 4.6.).

Çizelge 4.6. Çalışma gruplarına ait IVSI-663 genotip ve alel dağılımları

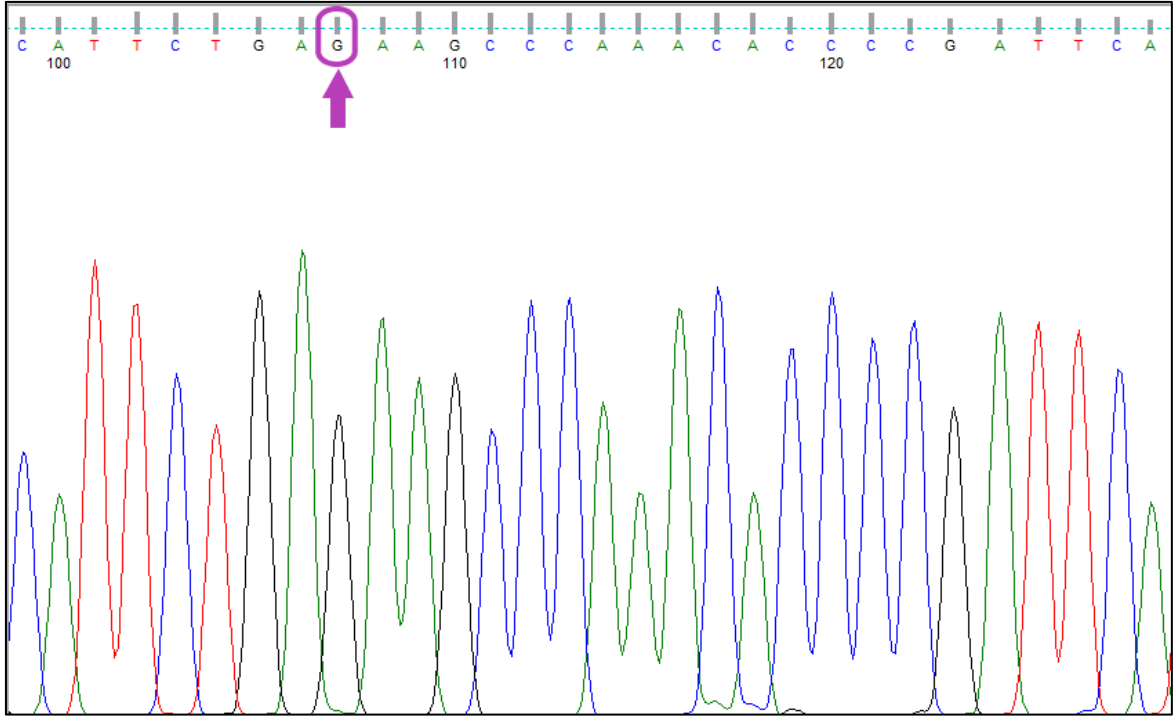
|                             |    | Kontrol<br>Grubu<br>(n=110) | Hasta<br>Grubu<br>(n=110) | $\chi^2$ Testi             | OR (95% GA)            | p     |
|-----------------------------|----|-----------------------------|---------------------------|----------------------------|------------------------|-------|
| <b>Alel<br/>Frekansı</b>    | A  | 173 (%78,6)                 | 155 (%70,5)               | $\chi^2=0,049$<br>$p<0,05$ | 1 (referans)           | -     |
|                             | G  | 47 (%21,4)                  | 65 (%29,5)                |                            | 1,544<br>(1,001-2,38)  | <0,05 |
| <b>Genotip<br/>Dağılımı</b> | GG | 18 (%16,4)                  | 22 (%20)                  | $\chi^2=0,089$<br>$p>0,05$ | 0,640<br>(0,245-1,671) | >0,05 |
|                             | GA | 11 (%10)                    | 21 (%19,1)                |                            | 1 (referans)           | -     |
|                             | AA | 81 (%73,6)                  | 67 (%60,9)                |                            | 0,433<br>(0,195-0,962) | <0,05 |

OR: Olasılıklar oranı, GA: Güven Aralığı

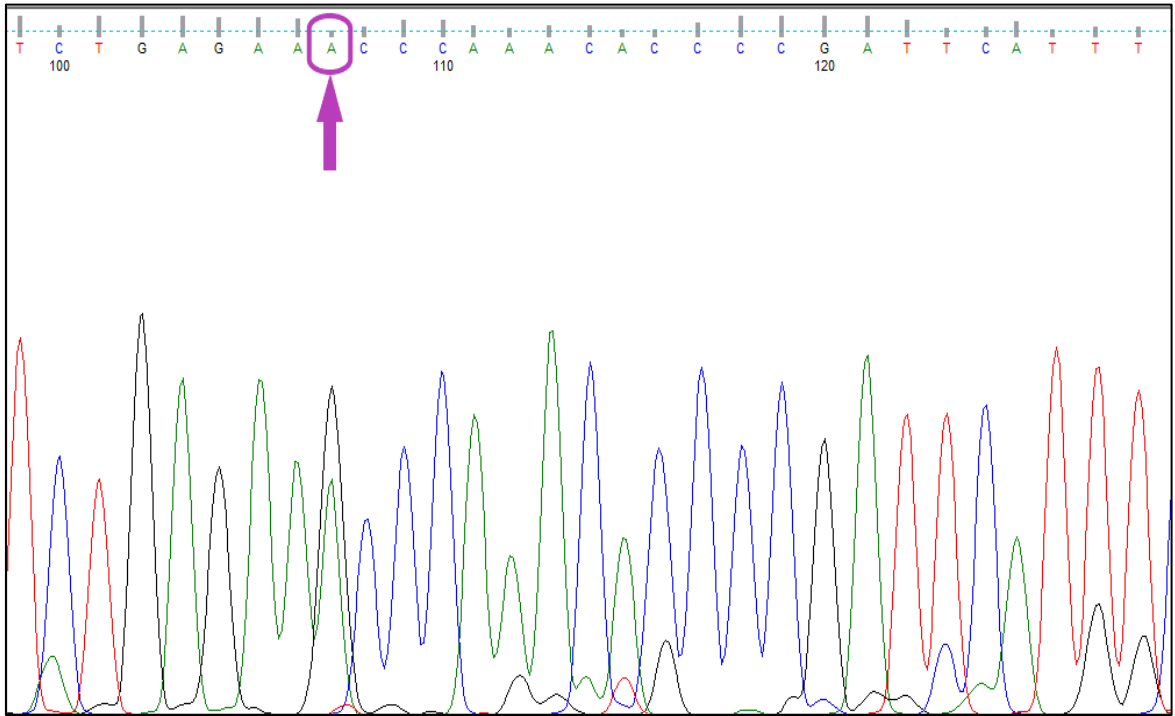
Sekanslama işleminin ardından Finch TV programında değerlendirilen DNA dizilerine ait IVSI-663 polimorfizmi yabanıl tip, homozigot ve heterozigot kromatogram görüntüleri sırasıyla Şekil 4.1., 4.2. ve 4.3.'te verilmiştir.



Şekil 4.1. Neurturin IVSI-663 polimorfizmi yabanıl tip kromatogram görüntüsü

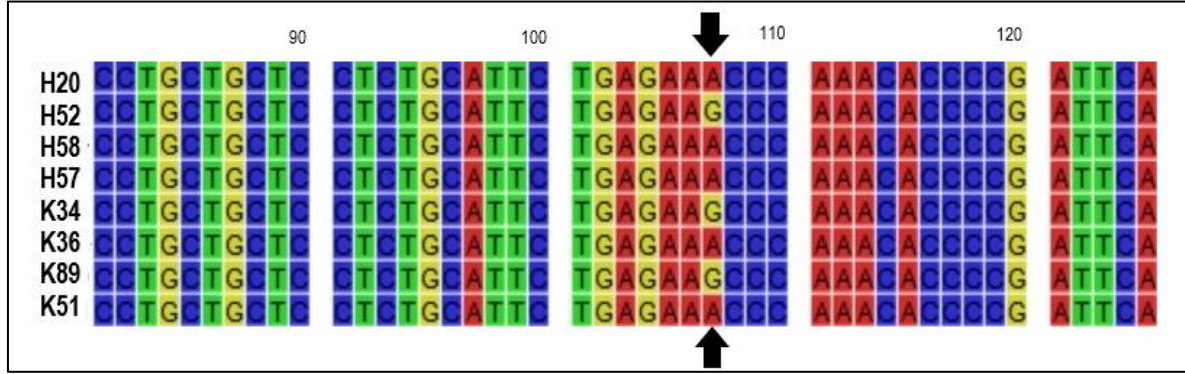


Şekil 4.2. Neurturin IVSI-663 polimorfizmi homozigot kromatogram görüntüsü



Şekil 4.3. Neurturin IVSI-663 polimorfizmi heterozigot kromatogram görüntüsü

DNA dizilerindeki Neurturin geni IVSI-663 pozisyonundaki alel farklılıkları rastgele seçilmiş hasta ve kontrol örnekleri için CLC Sequence Viewer 8.0 programı ile üst üste getirilerek belirlenmiştir (Şekil 4.4.).



Şekil 4.4. Hasta ve kontrol örneklerinde IVSI-663 pozisyonundaki alel farklılıkları

#### Epistazi analizi

Birden fazla genetik değişim arasındaki bağlantının incelenmesi amacıyla epistazi analizi yapılmıştır. Kompleks hastalıkların prognozu ve ilerlemesinde SNP'ler arası etkileşimlerin rol oynayabileceği düşünülmektedir. Bu bağlamda yapılan çalışmada RET geni G691S, L769L ve S904S SNP'leri arasındaki etkileşim sonuçları 2'li ve 3'lü kombinasyonlar halinde Çizelge 4.7., Çizelge 4.8., Çizelge 4.9. ve Çizelge 4.10. verilmiştir [202].

G691S ve L791S SNP'leri arasındaki olası etkileşim ilişkisi incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.7.).

Çizelge 4.7. G691S ve L769L SNP'lerinin epistazi analizi

|                                 | Kontrol | Hasta | $\chi^2$ Testi | OR (%95 GA)       | p       |
|---------------------------------|---------|-------|----------------|-------------------|---------|
| <b>En fazla bir Heterozigot</b> | 98      | 94    | $\chi^2=0,418$ | 1 (referans)      | $>0,05$ |
| <b>İkisi de Heterozigot</b>     | 12      | 16    |                | 1,39 (0,624-3,09) |         |

OR: Olasılıklar oranı, GA: Güven Aralığı

G691S ve S904S SNP'leri arasındaki olası etkileşim ilişkisi incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.8.).

Çizelge 4.8. G691S ve S904S SNP'lerinin epistazi analizi

|                                 | Kontrol | Hasta | $\chi^2$ Testi | OR (%95 G.A.)     | p     |
|---------------------------------|---------|-------|----------------|-------------------|-------|
| <b>En fazla bir Heterozigot</b> | 76      | 74    | $\chi^2=0,772$ | 1 (referans)      | >0,05 |
| <b>İkisi de Heterozigot</b>     | 34      | 36    |                | 1,09 (0,616-1,92) |       |

OR: Olasılıklar oranı, GA: Güven Aralığı

L769L ve S904S SNP'leri arasındaki olası etkileşim ilişkisi incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.9.).

Çizelge 4.9. L769L ve S904S SNP'lerinin epistazi analizi

|                                 | Kontrol | Hasta | $\chi^2$ Testi | OR (%95 GA)       | p     |
|---------------------------------|---------|-------|----------------|-------------------|-------|
| <b>En fazla bir Heterozigot</b> | 97      | 94    | $\chi^2=0,55$  | 1 (referans)      | >0,05 |
| <b>İkisi de Heterozigot</b>     | 13      | 16    |                | 1,27 (0,579-2,78) |       |

OR: Olasılıklar oranı, GA: Güven Aralığı

G691S, L769L ve S904S SNP'leri arasındaki olası etkileşim ilişkisi incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.10.).

Çizelge 4.10. G691S, L769L ve S904S SNP'lerinin epistazi analizi

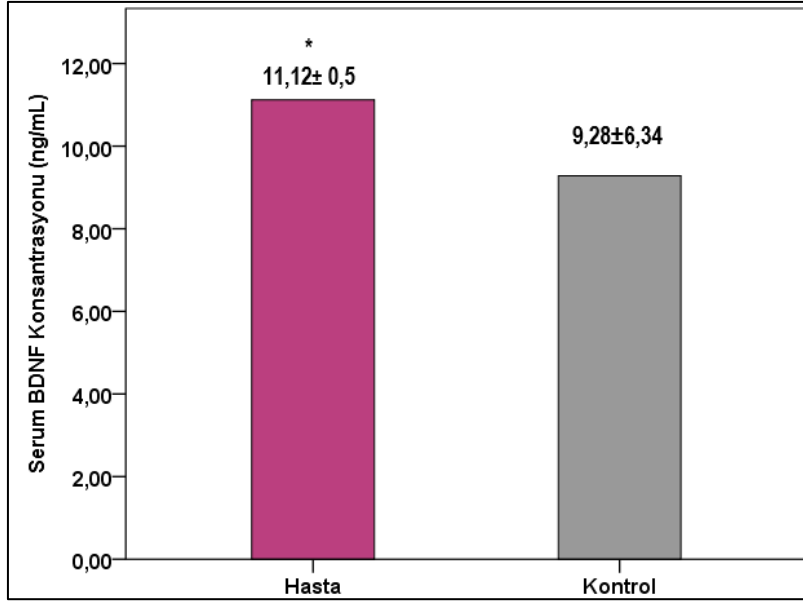
|                                 | Kontrol | Hasta | $\chi^2$ Testi | OR (%95 GA)       | p     |
|---------------------------------|---------|-------|----------------|-------------------|-------|
| <b>En fazla iki Heterozigot</b> | 98      | 94    | $\chi^2=0,418$ | 1 (referans)      | >0,05 |
| <b>Üçü de Heterozigot</b>       | 12      | 16    |                | 1,39 (0,624-3,09) |       |

OR: Olasılıklar oranı, GA: Güven Aralığı

## 4.2. Serum Düzeyleri

### 4.2.1. BDNF

Çalışma grubunda hasta ve kontrol serum BDNF düzeyleri karşılaştırıldığında hasta grubunun BDNF düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.5.).

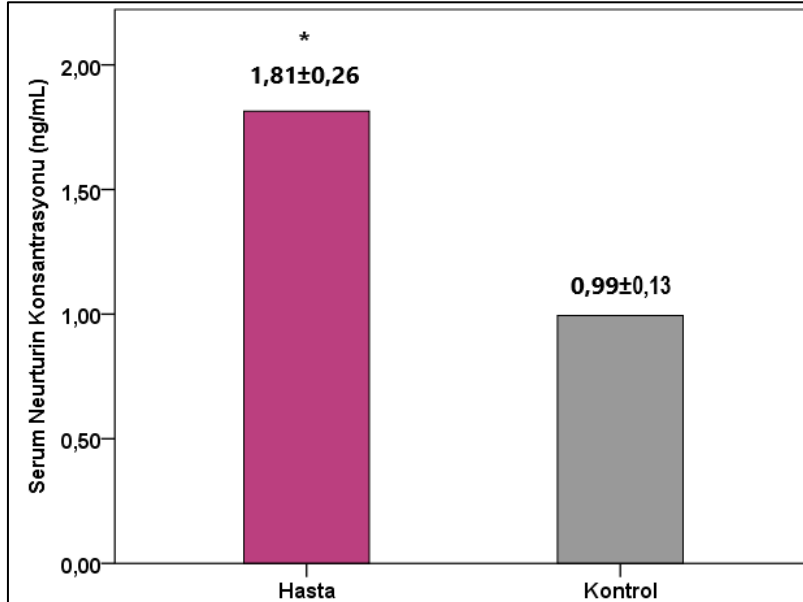


\* Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık,  $p < 0,05$

Şekil 4.5. Hasta ve kontrol gruplarında serum BDNF düzeyleri

#### 4.2.2. NRTN

Çalışma grubunda serum NRTN düzeyleri karşılaştırıldığında hasta grubunda NRTN düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p < 0,05$ ) (Şekil 4.6.).

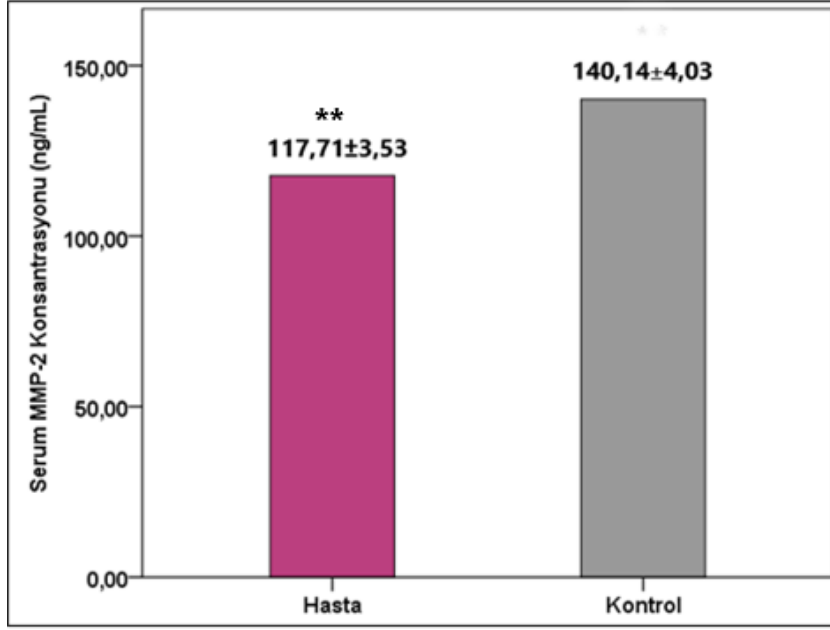


Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık,  $p < 0,05$

Şekil 4.6. Hasta ve kontrol gruplarında serum Neurturin düzeyleri

#### 4.2.3. MMP-2

Çalışma grubunda serum MMP-2 düzeyleri karşılaştırıldığında hasta grubunda MMP-2 düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p<0,01$ ) (Şekil 4.7.).

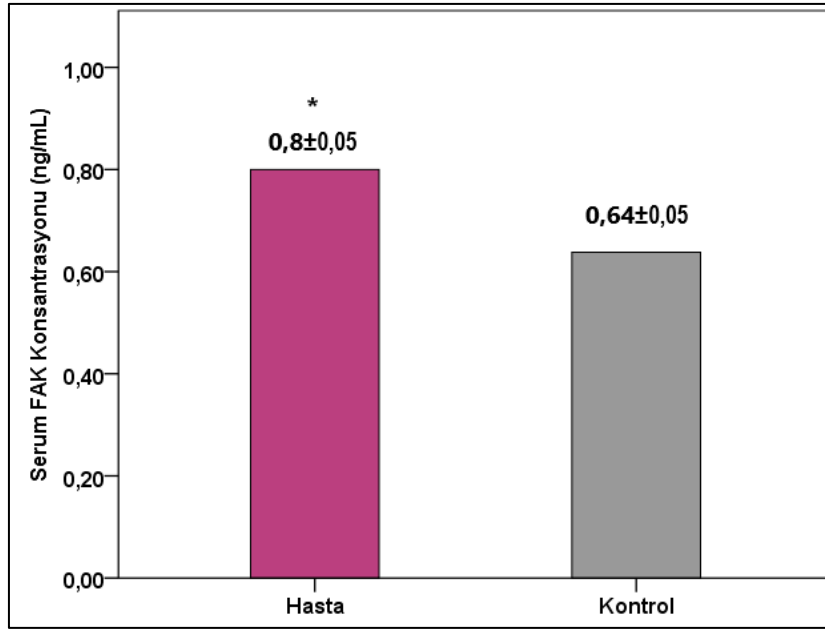


\*\* Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık,  $p<0,01$

Şekil 4.7. Hasta ve kontrol gruplarında serum MMP-2 düzeyleri

#### 4.2.4. FAK

Çalışma grubunda serum FAK düzeyleri karşılaştırıldığında hasta grubunda FAK düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.8.).



\* Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık,  $p < 0,05$   
 Şekil 4.8. Hasta ve kontrol gruplarında serum FAK düzeyleri

Hasta grubunda RET geni G691S polimorfizminde GA, GG ve AA genotiplerinde serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ) (Çizelge 4.11.).

Çizelge 4.11. Hasta grubunda G691S genotiplerinde serum parametrelerinin değerlendirilmesi

| G691S | n  | NRTN<br>(ng/mL) | BDNF<br>(ng/mL) | FAK<br>(ng/mL) | MMP-2<br>(ng/mL) | p     |
|-------|----|-----------------|-----------------|----------------|------------------|-------|
| GA    | 38 | 1,61±0,41       | 11,88±0,74      | 0,88±0,11      | 126,68±6,63      | >0,05 |
| GG    | 64 | 1,78±0,32       | 10,68±0,71      | 0,74±0,06      | 113,58±4,39      |       |
| AA    | 8  | 3,11±1,48       | 11,04±1,54      | 0,87±0,22      | 108,23±9,07      |       |

Hasta grubunda G691S homozigot ve heterozigot genotiplerinde serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ) (Çizelge 4.12.).

Çizelge 4.12. Hasta grubunda G691S homozigot ve heterozigot genotiplerinde serum parametrelerinin değerlendirilmesi

| G691S | n  | NRTN<br>(ng/mL) | BDNF<br>(ng/mL) | FAK<br>(ng/mL) | MMP-2<br>(ng/mL) | p     |
|-------|----|-----------------|-----------------|----------------|------------------|-------|
| GG+AA | 72 | 1,92±0,33       | 10,72±0,65      | 0,76±0,06      | 112,98±4,02      | >0,05 |
| GA    | 38 | 1,61±0,41       | 11,88±0,74      | 0,88±0,11      | 126,68±6,63      |       |

Kontrol grubunda RET geni G691S polimorfizminde GA, GG ve AA genotiplerinde serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.13.).

Çizelge 4.13. Kontrol grubunda G691S genotiplerinde serum parametrelerinin değerlendirilmesi

| G691S | n  | NRTN<br>(ng/mL) | BDNF<br>(ng/mL) | FAK<br>(ng/mL) | MMP-2<br>(ng/mL) | p     |
|-------|----|-----------------|-----------------|----------------|------------------|-------|
| GA    | 36 | 1,21±0,28       | 10,15±1,09      | 0,68±0,094     | 132,56±6,77      | >0,05 |
| GG    | 68 | 0,91±0,15       | 8,85±0,79       | 0,59±0,06      | 141,44±5,14      |       |
| AA    | 6  | 0,64±0,06       | 8,96±3,58       | 0,85±0,26      | 170,89±17,32     |       |

Kontrol grubunda G691S homozigot ve heterozigot genotiplerinde serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.14.).

Çizelge 4.14. Kontrol grubunda G691S homozigot ve heterozigot genotiplerinde serum parametrelerinin değerlendirilmesi

| G691S | n  | NRTN<br>(ng/mL) | BDNF<br>(ng/mL) | FAK<br>(ng/mL) | MMP-2<br>(ng/mL) | p     |
|-------|----|-----------------|-----------------|----------------|------------------|-------|
| GG+AA | 74 | 0,89±0,14       | 8,86±0,78       | 0,62±0,06      | 143,82±4,98      | >0,05 |
| GA    | 36 | 1,21±0,28       | 10,15±1,09      | 0,68±0,09      | 132,56±6,77      |       |

Hasta grubunda RET geni L769L polimorfizminde TT, TG ve GG genotiplerinde serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.15.).

Çizelge 4.15. Hasta grubunda L769L genotiplerinde serum parametrelerinin değerlendirilmesi

| L769L | n  | NRTN<br>(ng/mL) | BDNF<br>(ng/mL) | FAK<br>(ng/mL) | MMP-2<br>(ng/mL) | p     |
|-------|----|-----------------|-----------------|----------------|------------------|-------|
| TT    | 52 | 1,54±0,30       | 11,10±0,59      | 0,89±0,09      | 114,91±5,03      | >0,05 |
| TG    | 49 | 2,33±0,46       | 10,54±0,84      | 0,73±0,06      | 120,12±5,68      |       |
| GG    | 9  | 0,59±0,06       | 14,39±1,83      | 0,65±0,14      | 120,76±8,45      |       |

Hasta grubunda L769L homozigot ve heterozigot genotiplerinde serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.16.).

Çizelge 4.16. Hasta grubunda L769L homozigot ve heterozigot genotiplerinde serum parametrelerinin değerlendirilmesi

| L769L | n  | NRTN<br>(ng/mL) | BDNF<br>(ng/mL) | FAK<br>(ng/mL) | MMP-2<br>(ng/mL) | p     |
|-------|----|-----------------|-----------------|----------------|------------------|-------|
| GG+TT | 61 | 1,39±0,26       | 11,59±0,59      | 0,86±0,08      | 115,78±4,45      | >0,05 |
| TG    | 49 | 2,33±0,46       | 10,54±0,84      | 0,73±0,06      | 120,12±5,68      |       |

Kontrol grubunda RET geni L769L polimorfizminde TT, TG ve GG genotiplerinde serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.17.).

Çizelge 4.17. Kontrol grubunda L769L genotiplerinde serum parametrelerinin değerlendirilmesi

| L769L | n  | NRTN<br>(ng/mL) | BDNF<br>(ng/mL) | FAK<br>(ng/mL) | MMP-2<br>(ng/mL) | p     |
|-------|----|-----------------|-----------------|----------------|------------------|-------|
| TT    | 52 | 0,87±0,13       | 9,91±0,97       | 0,66±0,08      | 142,11±6,21      | >0,05 |
| TG    | 43 | 1,06±0,22       | 8,09±0,99       | 0,59±0,08      | 139,69±5,77      |       |
| GG    | 15 | 1,26±0,58       | 10,49±1,51      | 0,68±0,13      | 134,56±12,35     |       |

Kontrol grubunda L769L homozigot ve heterozigot genotiplerinde serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.18.).

Çizelge 4.18. Kontrol grubunda L769L homozigot ve heterozigot genotiplerinde serum parametrelerinin değerlendirilmesi

| L769L | n  | NRTN<br>(ng/mL) | BDNF<br>(ng/mL) | FAK<br>(ng/mL) | MMP-2<br>(ng/mL) | p     |
|-------|----|-----------------|-----------------|----------------|------------------|-------|
| GG+TT | 67 | 0,96±0,16       | 10,04±0,82      | 0,67±0,07      | 140,42±5,52      | >0,05 |
| TG    | 43 | 1,06±0,22       | 8,09±0,99       | 0,59±0,08      | 139,69±5,77      |       |

Hasta grubunda RET geni S904S polimorfizminde GC, CC ve GG genotiplerinde serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.19.).

Çizelge 4.19. Hasta grubunda S904S genotiplerinde serum parametrelerinin değerlendirilmesi

| S904S | n  | NRTN<br>(ng/mL) | BDNF<br>(ng/mL) | FAK<br>(ng/mL) | MMP-2<br>(ng/mL) | p     |
|-------|----|-----------------|-----------------|----------------|------------------|-------|
| GC    | 37 | 1,65±0,42       | 11,82±0,77      | 0,87±0,12      | 124,70±6,55      | >0,05 |
| CC    | 64 | 1,76±0,32       | 10,73±0,70      | 0,74±0,06      | 113,66±4,39      |       |
| GG    | 9  | 2,89±1,32       | 11,00±1,36      | 0,90±0,19      | 117,81±12,49     |       |

Hasta grubunda S904S homozigot ve heterozigot genotiplerinde serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.20.).

Çizelge 4.20. Hasta grubunda L769L homozigot ve heterozigot genotiplerinde serum parametrelerinin değerlendirilmesi

| S904S | n  | NRTN<br>(ng/mL) | BDNF<br>(ng/mL) | FAK<br>(ng/mL) | MMP-2<br>(ng/mL) | p     |
|-------|----|-----------------|-----------------|----------------|------------------|-------|
| GG+CC | 73 | 1,89±0,32       | 10,77±0,64      | 0,76±0,06      | 114,17±4,12      | >0,05 |
| GC    | 37 | 1,65±0,43       | 11,82±0,77      | 0,87±0,12      | 124,70±6,55      |       |

Kontrol grubunda RET geni S904S polimorfizminde GC, CC ve GG genotiplerinde serum NRTN, BDNF ve FAK düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). GC genotipine sahip kişilerle karşılaştırıldığında GG genotipine sahip sağlıklı kişilerde MMP-2 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Çizelge 4.21.).

Çizelge 4.21. Kontrol grubunda S904S genotiplerinde serum parametrelerinin değerlendirilmesi

| S904S | n  | NRTN<br>(ng/mL) | BDNF<br>(ng/mL) | FAK<br>(ng/mL) | MMP-2<br>(ng/mL) | p     |
|-------|----|-----------------|-----------------|----------------|------------------|-------|
| GC    | 35 | 1,22±0,29       | 10,22±1,09      | 0,67±0,09      | 130,03±6,14      | >0,05 |
| CC    | 67 | 0,92±0,15       | 8,84±0,81       | 0,60±0,07      | 141,27±5,21      |       |
| GG    | 8  | 0,68±0,05       | 8,86±2,96       | 0,78±0,22      | 174,92±17,19*    |       |

\*GC genotipine göre anlamlı farklılık

Kontrol grubunda S904S homozigot ve heterozigot genotiplerinde serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.22.).

Çizelge 4.22. Kontrol grubunda S904S homozigot ve heterozigot genotiplerinde serum parametrelerinin değerlendirilmesi

| S904S | n  | NRTN<br>(ng/mL) | BDNF<br>(ng/mL) | FAK<br>(ng/mL) | MMP-2<br>(ng/mL) | p     |
|-------|----|-----------------|-----------------|----------------|------------------|-------|
| GG+CC | 67 | 0,89±0,14       | 8,84±0,78       | 0,62±0,06      | 144,86±5,11      | >0,05 |
| GC    | 43 | 1,22±0,29       | 10,22±1,09      | 0,67±0,09      | 130,03±6,14      |       |

Hasta grubunda NRTN geni IVSI-663 polimorfizminde GA, GG ve AA genotiplerinde serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.23.).

Çizelge 4.23. Hasta grubunda Neurturin IVSI-663 genotiplerinde serum parametrelerinin değerlendirilmesi

| Neurturin | n  | NRTN<br>(ng/mL) | BDNF<br>(ng/mL) | FAK<br>(ng/mL) | MMP-2<br>(ng/mL) | p     |
|-----------|----|-----------------|-----------------|----------------|------------------|-------|
| GG        | 22 | 1,74±0,62       | 10,86±0,85      | 0,84±0,13      | 109,47±9,72      | >0,05 |
| AA        | 67 | 1,91±0,34       | 10,70±0,60      | 0,81±0,07      | 120,55±4,29      |       |
| GA        | 21 | 1,58±0,49       | 12,72±1,49      | 0,72±0,08      | 117,29±7,19      |       |

Hasta grubunda NRTN geni IVSI-663 homozigot ve heterozigot genotiplerinde serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.24.).

Çizelge 4.24. Hasta grubunda NRTN geni IVSI-663 homozigot ve heterozigot genotiplerinde serum parametrelerinin değerlendirilmesi

| Neurturin | n  | NRTN<br>(ng/mL) | BDNF<br>(ng/mL) | FAK<br>(ng/mL) | MMP-2<br>(ng/mL) | p     |
|-----------|----|-----------------|-----------------|----------------|------------------|-------|
| GG+AA     | 89 | 1,87±0,29       | 10,74±0,49      | 0,82±0,06      | 117,81±4,03      | >0,05 |
| GA        | 21 | 1,57±0,49       | 12,72±1,49      | 0,72±0,08      | 117,29±7,19      |       |

Kontrol grubunda NRTN geni IVSI-663 polimorfizminde GA, GG ve AA genotiplerinde serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.25.).

Çizelge 4.25. Kontrol grubunda Neurturin geni IVSI-663 genotiplerinde serum parametrelerinin değerlendirilmesi

| Neurturin | n  | NRTN<br>(ng/mL) | BDNF<br>(ng/mL) | FAK<br>(ng/mL) | MMP-2<br>(ng/mL) | p     |
|-----------|----|-----------------|-----------------|----------------|------------------|-------|
| GG        | 18 | 0,75±0,15       | 9,03±1,49       | 0,69±0,10      | 141,89±9,83      | >0,05 |
| AA        | 81 | 1,09±0,17       | 9,56±0,76       | 0,62±0,06      | 139,99±4,87      |       |
| GA        | 11 | 0,65±0,14       | 7,65±1,82       | 0,71±0,19      | 138,39±10,28     |       |

Kontrol grubunda NRTN geni IVSI-663 homozigot ve heterozigot genotiplerinde serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.26.).

Çizelge 4.26. Kontrol grubunda NRTN geni IVSI-663 homozigot ve heterozigot genotiplerinde serum parametrelerinin değerlendirilmesi

| Neurturin | n  | NRTN<br>(ng/mL) | BDNF<br>(ng/mL) | FAK<br>(ng/mL) | MMP-2<br>(ng/mL) | p     |
|-----------|----|-----------------|-----------------|----------------|------------------|-------|
| GG+AA     | 99 | 1,03±0,14       | 9,46±0,68       | 0,63±0,05      | 140,33±4,35      | >0,05 |
| GA        | 11 | 0,65±0,14       | 7,65±1,82       | 0,71±0,19      | 138,39±10,28     |       |

Neurturin IVSI-663 polimorfizminde genotiplere göre Ki67 değerleri karşılaştırıldığında, GG genotipi değerleri AA ve GA genotipi değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur (sırasıyla,  $p<0,05$ ,  $p<0,05$ ) (Çizelge 4.27.).

Çizelge 4.27. NRTN geni IVSI-663 genotiplerinde Ki67 değerlerinin karşılaştırılması

|           | Genotip | n  | Ki67        | p     |
|-----------|---------|----|-------------|-------|
| Neurturin | GG      | 22 | 12,23±2,82* | <0,05 |
|           | AA      | 67 | 24,71±2,70  |       |
|           | GA      | 21 | 24,71±4,52  |       |

\*AA ve GA genotipine göre anlamlı farklılık

Meme kanseri hastalarında <40 ve ≥40 yaş gruplarına göre serum NRTN düzeyleri <40 yaş grubunda anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ), Serum BDNF, MMP-2 ve FAK düzeyleri <40 ve ≥40 yaş grupları açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.28.).

Çizelge 4.28. Hasta grubunda serum parametrelerinin yaş gruplarına göre değerlendirilmesi

|               | Yaş Grupları | n  | Konsantrasyon | p     |
|---------------|--------------|----|---------------|-------|
| NRTN (ng/mL)  | <40          | 14 | 2,61±0,79*    | <0,05 |
|               | ≥40          | 96 | 1,7±0,27      |       |
| BDNF (ng/mL)  | <40          | 14 | 11,85±1,86    | >0,05 |
|               | ≥40          | 96 | 11,01±0,50    |       |
| MMP-2 (ng/mL) | <40          | 14 | 102,19±8      | >0,05 |
|               | ≥40          | 96 | 119,98±3,83   |       |
| FAK (ng/mL)   | <40          | 14 | 0,73±0,15     | >0,05 |
|               | ≥40          | 96 | 0,81±0,06     |       |

\* ≥40 yaş grubuna göre anlamlı farklılık,  $p<0,05$

Kontrol grubunda serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeylerinde <40 ve ≥40 yaş grupları açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.29.).

Çizelge 4.29. Kontrol grubunda serum parametrelerinin yaş gruplarına göre değerlendirilmesi

|                      | Yaş Grupları | n  | Konsantrasyon | p     |
|----------------------|--------------|----|---------------|-------|
| <b>NRTN (ng/mL)</b>  | <40          | 22 | 1,17±0,41     | >0,05 |
|                      | ≥40          | 88 | 0,95±0,13     |       |
| <b>BDNF (ng/mL)</b>  | <40          | 22 | 7,57±1,44     | >0,05 |
|                      | ≥40          | 88 | 9,71±0,70     |       |
| <b>MMP-2 (ng/mL)</b> | <40          | 22 | 133,82±10,42  | >0,05 |
|                      | ≥40          | 88 | 141,72±4,33   |       |
| <b>FAK (ng/mL)</b>   | <40          | 22 | 0,62±0,13     | >0,05 |
|                      | ≥40          | 88 | 0,64±0,06     |       |

Hastalarda serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeyleri <50 ve ≥50 menopoz yaş grupları yönüyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p>0,05) (Çizelge 4.30.).

Çizelge 4.30. Hasta grubunda serum parametrelerinin menopoz yaşına göre değerlendirilmesi

|                      | Yaş Grupları | n  | Konsantrasyon | p     |
|----------------------|--------------|----|---------------|-------|
| <b>NRTN (ng/mL)</b>  | <50          | 46 | 2,05±0,42     | >0,05 |
|                      | ≥50          | 64 | 1,65±0,32     |       |
| <b>BDNF (ng/mL)</b>  | <50          | 46 | 11,16±0,78    | >0,05 |
|                      | ≥50          | 64 | 11,08±0,65    |       |
| <b>MMP-2 (ng/mL)</b> | <50          | 46 | 109,03±5,15   | >0,05 |
|                      | ≥50          | 64 | 123,95±4,67   |       |
| <b>FAK (ng/mL)</b>   | <50          | 46 | 0,85±0,11     | >0,05 |
|                      | ≥50          | 64 | 0,77±0,06     |       |

Sağlıklı kontrollerde serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeyleri <50 ve ≥50 menopoz yaş grupları açısından değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p>0,05) (Çizelge 4.31.).

Çizelge 4.31. Kontrol grubunda serum parametrelerinin menopoz yaşına göre değerlendirilmesi

|                      | Yaş Grupları | n  | Konsantrasyon | p     |
|----------------------|--------------|----|---------------|-------|
| <b>NRTN (ng/mL)</b>  | <50          | 49 | 0,9±0,19      | >0,05 |
|                      | ≥50          | 61 | 1,07±0,18     |       |
| <b>BDNF (ng/mL)</b>  | <50          | 49 | 8,71±0,93     | >0,05 |
|                      | ≥50          | 61 | 9,74±0,87     |       |
| <b>MMP-2 (ng/mL)</b> | <50          | 49 | 0,69±0,1      | >0,05 |
|                      | ≥50          | 61 | 144,45±4,82   |       |
| <b>FAK (ng/mL)</b>   | <50          | 49 | 123,95±4,67   | >0,05 |
|                      | ≥50          | 61 | 0,69±0,1      |       |

Meme kanserli hastalarda ER, PR ve HER reseptör durumlarına göre serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeyleri karşılaştırılmıştır. Negatif/pozitif ER ve PR reseptör durumlarına göre serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Sırasıyla, Çizelge 4.32. ve 4.33.). MMP-2 düzeyleri HER2 negatif olan hastalarda HER2 pozitif olanlara göre anlamlı derecede yüksek bulunurken ( $p<0,05$ ); NRTN, BDNF ve FAK düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.34.).

Çizelge 4.32. Hasta grubunda ER reseptör durumuna göre serum parametrelerinin değerlendirilmesi

|                      | ER      | n  | Konsantrasyon | p     |
|----------------------|---------|----|---------------|-------|
| <b>NRTN (ng/mL)</b>  | Negatif | 13 | 1,73±0,47     | >0,05 |
|                      | Pozitif | 85 | 1,95±0,32     |       |
| <b>BDNF (ng/mL)</b>  | Negatif | 13 | 9,69±1,42     | >0,05 |
|                      | Pozitif | 85 | 11,51±0,57    |       |
| <b>MMP-2 (ng/mL)</b> | Negatif | 13 | 114,06±10,07  | >0,05 |
|                      | Pozitif | 85 | 117,69±3,93   |       |
| <b>FAK (ng/mL)</b>   | Negatif | 13 | 0,69±0,15     | >0,05 |
|                      | Pozitif | 85 | 0,80±0,05     |       |

Çizelge 4.33. Hasta grubunda PR reseptör durumuna göre serum parametrelerinin değerlendirilmesi

|                      | PR      | n  | Konsantrasyon | p     |
|----------------------|---------|----|---------------|-------|
| <b>NRTN (ng/mL)</b>  | Negatif | 18 | 1,63±0,36     | >0,05 |
|                      | Pozitif | 78 | 2,02±0,35     |       |
| <b>BDNF (ng/mL)</b>  | Negatif | 18 | 9,69±1,09     | >0,05 |
|                      | Pozitif | 78 | 11,59±0,62    |       |
| <b>MMP-2 (ng/mL)</b> | Negatif | 18 | 110,79±8,84   | >0,05 |
|                      | Pozitif | 78 | 119,04±4,09   |       |
| <b>FAK (ng/mL)</b>   | Negatif | 18 | 0,75±0,12     | >0,05 |
|                      | Pozitif | 78 | 0,80±0,06     |       |

Çizelge 4.34. Hasta grubunda HER2 reseptör durumuna göre serum parametrelerinin değerlendirilmesi

|                      | HER2    | n  | Konsantrasyon | p     |
|----------------------|---------|----|---------------|-------|
| <b>NRTN (ng/mL)</b>  | Negatif | 65 | 1,84±0,35     | >0,05 |
|                      | Pozitif | 28 | 1,69±0,44     |       |
| <b>BDNF (ng/mL)</b>  | Negatif | 65 | 11,20±0,66    | >0,05 |
|                      | Pozitif | 28 | 11,27±1,04    |       |
| <b>MMP-2 (ng/mL)</b> | Negatif | 65 | 123,03±4,85*  | <0,05 |
|                      | Pozitif | 28 | 105,95±5,06   |       |
| <b>FAK (ng/mL)</b>   | Negatif | 65 | 0,81±0,06     | >0,05 |
|                      | Pozitif | 28 | 0,76±0,09     |       |

\*reseptör durumu pozitif olanlara göre anlamlı farklılık, p<0,05

Hastalarda menopoz öncesi ve menopoz sonrası yönünden serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeyleri karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p>0,05) (Çizelge 4.35.).

Çizelge 4.35. Hasta grubunda menopo2 durumuna göre serum parametrelerinin değeriendirilmesi

|               | Menopo2 durumu | n  | Konsantrasyon | p     |
|---------------|----------------|----|---------------|-------|
| NRTN (ng/mL)  | Önce           | 48 | 1,87±0,37     | >0,05 |
|               | Sonra          | 62 | 1,77±0,35     |       |
| BDNF (ng/mL)  | Önce           | 48 | 10,32±0,71    | >0,05 |
|               | Sonra          | 62 | 11,74±0,68    |       |
| MMP-2 (ng/mL) | Önce           | 48 | 111,21±5,21   | >0,05 |
|               | Sonra          | 62 | 122,75±4,72   |       |
| FAK (ng/mL)   | Önce           | 48 | 0,77±0,09     | >0,05 |
|               | Sonra          | 62 | 0,83±0,07     |       |

Kontrol grubunda menopo2 öncesi ve menopo2 sonrası yönünden serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeyleri karşılaştırıldığında MMP-2 konsantrasyonunun menopo2 sonrası kadınlarda menopo2 öncesine göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Serum NRTN, BDNF ve FAK düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.36.).

Çizelge 4.36. Kontrol grubunda menopo2 durumuna göre serum parametrelerinin değeriendirilmesi

|               | Menopo2 durumu | n  | Konsantrasyon | p     |
|---------------|----------------|----|---------------|-------|
| NRTN (ng/mL)  | Önce           | 57 | 0,87±0,16     | >0,05 |
|               | Sonra          | 53 | 1,13±0,21     |       |
| BDNF (ng/mL)  | Önce           | 57 | 9,21±0,88     | >0,05 |
|               | Sonra          | 53 | 9,35±0,93     |       |
| MMP-2 (ng/mL) | Önce           | 57 | 133,26±6,14   | <0,05 |
|               | Sonra          | 53 | 147,53±5,01*  |       |
| FAK (ng/mL)   | Önce           | 57 | 0,65±0,08     | >0,05 |
|               | Sonra          | 53 | 0,62±0,06     |       |

\*Menopo2 durumu önce olanlara göre anlamlı farklılık,  $p<0,05$

Hasta grubunda tümör boyutuna göre <2 cm ve ≥2 cm grupları arasında serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK konsantrasyonları karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.37.).

Çizelge 4.37. Tümör çapına göre serum parametrelerinin değerlendirilmesi

|               | Tümör çapı | n  | Konsantrasyon | p     |
|---------------|------------|----|---------------|-------|
| NRTN (ng/mL)  | <2 cm      | 40 | 2,3±0,52      | >0,05 |
|               | ≥2 cm      | 36 | 2,01±0,47     |       |
| BDNF (ng/mL)  | <2 cm      | 40 | 10,96±1,01    | >0,05 |
|               | ≥2 cm      | 36 | 11,17±0,62    |       |
| MMP-2 (ng/mL) | <2 cm      | 40 | 112,47±5,6    | >0,05 |
|               | ≥2 cm      | 36 | 124,45±6,95   |       |
| FAK (ng/mL)   | <2 cm      | 40 | 0,8±0,08      | >0,05 |
|               | ≥2 cm      | 36 | 0,74±0,07     |       |

Tümör derecesine hasta grubunda yapılan değerlendirmede serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.38.).

Çizelge 4.38. Tümör derecesine göre serum parametrelerinin değerlendirilmesi

|               | Tümör Derecesi | n  | Konsantrasyon | p     |
|---------------|----------------|----|---------------|-------|
| NRTN (ng/mL)  | 1              | 17 | 1,27±0,49     | >0,05 |
|               | 2              | 41 | 2,12±0,45     |       |
|               | 3              | 36 | 2,08±0,53     |       |
| BDNF (ng/mL)  | 1              | 17 | 12,99±2,08    | >0,05 |
|               | 2              | 41 | 10,40±0,60    |       |
|               | 3              | 36 | 11,26±0,72    |       |
| MMP-2 (ng/mL) | 1              | 17 | 129,44±10,82  | >0,05 |
|               | 2              | 41 | 112,81±5,27   |       |
|               | 3              | 36 | 118,42±5,76   |       |
| FAK (ng/mL)   | 1              | 17 | 0,93±0,13     | >0,05 |
|               | 2              | 41 | 0,72±0,07     |       |
|               | 3              | 36 | 0,78±0,08     |       |

Meme kanseri moleküler alt tiplerinde serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.39.).

Çizelge 4.39. Hasta grubunda moleküler sınıflandırmaya göre serum parametrelerinin değerlendirilmesi

|                          | Moleküler tipler | n  | Konsantrasyon | p     |
|--------------------------|------------------|----|---------------|-------|
| <b>Neurturin (ng/mL)</b> | Luminal A        | 24 | 1,9±0,55      | >0,05 |
|                          | Luminal B        | 59 | 2,01±0,4      |       |
|                          | HER2 pozitif     | 6  | 1,46±0,67     |       |
|                          | Bazal Tip        | 7  | 1,96±0,7      |       |
| <b>BDNF (ng/mL)</b>      | Luminal A        | 24 | 10,18±1,32    | >0,05 |
|                          | Luminal B        | 59 | 12,02±0,62    |       |
|                          | HER2 pozitif     | 6  | 9,06±1,47     |       |
|                          | Bazal Tip        | 7  | 10,23±2,41    |       |
| <b>MMP-2 (ng/mL)</b>     | Luminal A        | 24 | 119,68±8,73   | >0,05 |
|                          | Luminal B        | 59 | 117,36±4,45   |       |
|                          | HER2 pozitif     | 6  | 116,9±15,4    |       |
|                          | Bazal Tip        | 7  | 111,63±14,33  |       |
| <b>FAK (ng/mL)</b>       | Luminal A        | 24 | 0,84±0,1      | >0,05 |
|                          | Luminal B        | 59 | 0,8±0,06      |       |
|                          | HER2 pozitif     | 6  | 0,84±0,27     |       |
|                          | Bazal Tip        | 7  | 0,52±0,09     |       |

Meme kanseri histolojik alt tiplerinde serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK konsantrasyonları karşılaştırıldığında NRTN, BDNF ve MMP-2 düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Serum FAK konsantrasyonu İnvaziv Duktal Karsinom'lu hastalarda miks tipe göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Çizelge 4.40.).

Çizelge 4.40. Hasta grubunda histolojik sınıflandırmaya göre serum parametrelerinin değerlendirilmesi

|                          | Histolojik tip           | n  | Konsantrasyon | p     |
|--------------------------|--------------------------|----|---------------|-------|
| <b>Neurturin (ng/mL)</b> | Duktal Karsinoma İnsitu  | 15 | 2,29±0,78     | >0,05 |
|                          | İnvaziv Duktal Karsinom  | 72 | 1,91±0,33     |       |
|                          | İnvaziv Lobüler Karsinom | 8  | 2,1±1,2       |       |
|                          | Miks Tip                 | 9  | 0,78±0,2      |       |
|                          | Diğer                    | 6  | 0,63±0,15     |       |
| <b>BDNF (ng/mL)</b>      | Duktal Karsinoma İnsitu  | 15 | 11,17±1,28    | >0,05 |
|                          | İnvaziv Duktal Karsinom  | 72 | 11,62±0,65    |       |
|                          | İnvaziv Lobüler Karsinom | 8  | 8,80±1,02     |       |
|                          | Miks Tip                 | 9  | 11,71±1,45    |       |
|                          | Diğer                    | 6  | 7,19±1,41     |       |
| <b>MMP-2 (ng/mL)</b>     | Duktal Karsinoma İnsitu  | 15 | 107,94±9,59   | >0,05 |
|                          | İnvaziv Duktal Karsinom  | 72 | 119,61±4,4    |       |
|                          | İnvaziv Lobüler Karsinom | 8  | 124,5±13,36   |       |
|                          | Miks Tip                 | 9  | 108,46±11,08  |       |
|                          | Diğer                    | 6  | 124,23±17,28  |       |
| <b>FAK (ng/mL)</b>       | Duktal Karsinoma İnsitu  | 15 | 1,07±0,25     | <0,05 |
|                          | İnvaziv Duktal Karsinom  | 72 | 0,8±0,06*     |       |
|                          | İnvaziv Lobüler Karsinom | 8  | 0,83±0,21     |       |
|                          | Miks Tip                 | 9  | 0,6±0,08      |       |
|                          | Diğer                    | 6  | 0,39±0,05     |       |

\* Miks tipe göre anlamlı farklılık,  $p<0,05$

Ailedeki meme kanseri durumuna göre hasta grubunda NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.41.).

Çizelge 4.41. Hasta grubunda ailedeki meme kanseri durumuna göre serum parametrelerinin değerlendirilmesi

|                   | Ailede meme kanseri durumu | n  | Konsantrasyon | p     |
|-------------------|----------------------------|----|---------------|-------|
| Neurturin (ng/mL) | Var                        | 26 | 1,31±0,33     | >0,05 |
|                   | Yok                        | 64 | 1,89±0,33     |       |
| BDNF (ng/mL)      | Var                        | 26 | 12,54±1,51    | >0,05 |
|                   | Yok                        | 64 | 11,10±0,54    |       |
| MMP-2 (ng/mL)     | Var                        | 26 | 110,71±7,65   | >0,05 |
|                   | Yok                        | 64 | 124,91±4,73   |       |
| FAK (ng/mL)       | Var                        | 26 | 0,91±0,11     | >0,05 |
|                   | Yok                        | 64 | 0,76±0,07     |       |

Meme kanseri hastalarında menarş yaşına göre <12 ve ≥12 grupları karşılaştırıldığında serum NRTN, BDNF ve MMP-2 düzeyleri açısından bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). FAK konsantrasyonları menarş yaşı ≥12 olan hastalar menarş yaşı <12 olan grup ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Çizelge 4.42.).

Çizelge 4.42. Hasta grubunda menarş yaşına göre serum parametrelerinin değerlendirilmesi

|                   | Menarş yaşı | n  | Konsantrasyon | p     |
|-------------------|-------------|----|---------------|-------|
| Neurturin (ng/mL) | <12         | 13 | 2,33±1,21     | >0,05 |
|                   | ≥12         | 97 | 1,75±0,24     |       |
| BDNF (ng/mL)      | <12         | 13 | 10,59±1,66    | >0,05 |
|                   | ≥12         | 97 | 11,19±0,52    |       |
| MMP-2 (ng/mL)     | <12         | 13 | 118,35±9,17   | >0,05 |
|                   | ≥12         | 97 | 117,63±3,82   |       |
| FAK (ng/mL)       | <12         | 13 | 0,55±0,09     | <0,05 |
|                   | ≥12         | 97 | 0,83±0,06*    |       |

\*<12 olanlara göre anlamlı farklılık,  $p<0,05$

Kontrol grubunda menarş yaşına göre <12 ve ≥12 grupları karşılaştırıldığında, serum NRTN düzeyleri menarş yaşı <12 olanlarda menarş yaşı ≥12 olan kişilere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Serum BDNF, MMP-2 ve FAK düzeyleri açısından bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.43.).

Çizelge 4.43. Kontrol grubunda menarş yaşına göre serum parametrelerinin değerlendirilmesi

|                   | Menarş yaşı | n  | Konsantrasyon | p     |
|-------------------|-------------|----|---------------|-------|
| Neurturin (ng/mL) | <12         | 12 | 1,35±0,37*    | <0,05 |
|                   | ≥12         | 98 | 1,06±0,18     |       |
| BDNF (ng/mL)      | <12         | 12 | 8,53±2        | >0,05 |
|                   | ≥12         | 98 | 9,37±0,67     |       |
| MMP-2 (ng/mL)     | <12         | 12 | 151,68±12,35  | >0,05 |
|                   | ≥12         | 98 | 138,72±4,27   |       |
| FAK (ng/mL)       | <12         | 12 | 0,56±0,10     | >0,05 |
|                   | ≥12         | 98 | 0,65±0,06     |       |

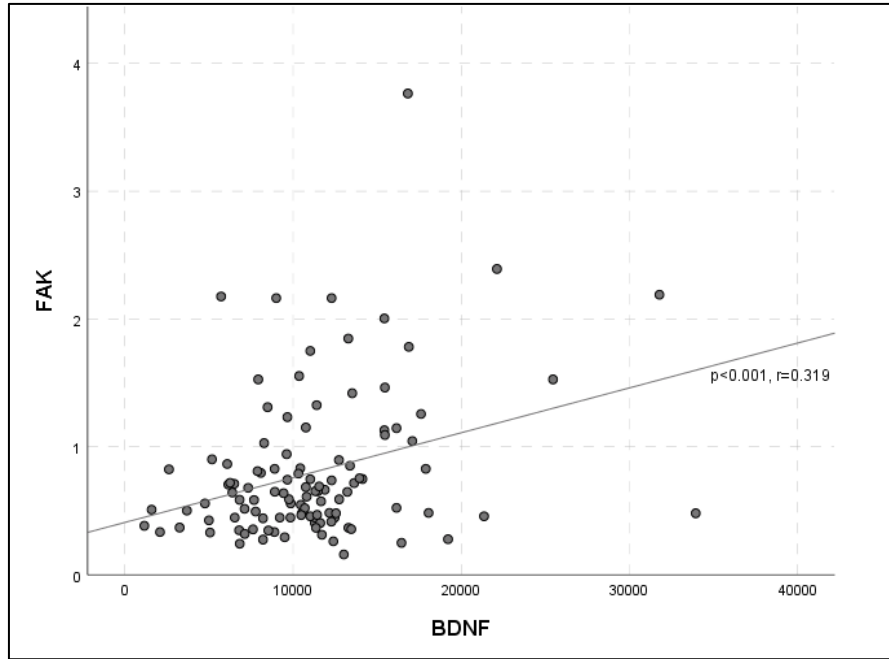
\*≥12 olanlara göre anlamlı farklılık, p<0,05

Meme kanserli hastalarda serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK konsantrasyonları arasındaki korelasyonlar incelendiğinde, FAK ve BDNF konsantrasyonları arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur (p<0,001) (Çizelge 4.44., Şekil 4.9.).

Çizelge 4.44. Hasta grubu korelasyon matrisi

|       | NRTN            | BDNF            | MMP-2          | FAK    |
|-------|-----------------|-----------------|----------------|--------|
| NRTN  | —<br>—          |                 |                |        |
| BDNF  | 0,018<br>0,85   | —<br>—          |                |        |
| MMP-2 | 0,013<br>0,895  | -0,027<br>0,781 | —<br>—         |        |
| FAK   | -0,025<br>0,798 | 0,319<br>0,001* | 0,051<br>0,596 | —<br>— |

\*p<0,001



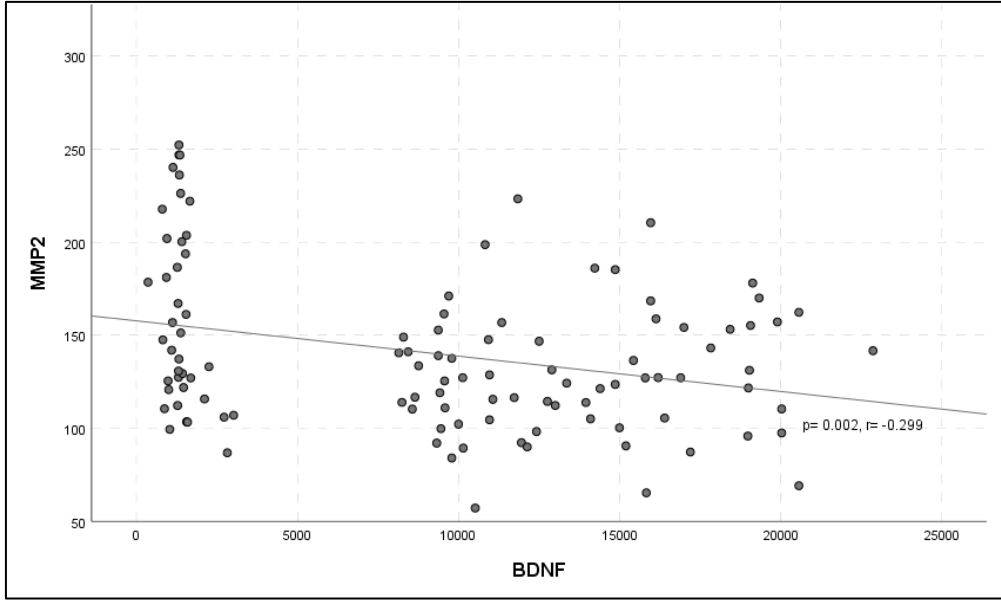
Şekil 4.9. Hasta grubu FAK-BDNF korelasyon saçılım grafiği

Kontrol grubunda serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK konsantrasyonları arasındaki korelasyonlar incelendiğinde, serum MMP-2 ve BDNF konsantrasyonları arasında negatif bir ilişki bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Çizelge 4.45., Şekil 4.10.).

Çizelge 4.45. Kontrol grubu korelasyon matrisi

|       | NRTN            | BDNF             | MMP-2          | FAK    |
|-------|-----------------|------------------|----------------|--------|
| NRTN  | —<br>—          |                  |                |        |
| BDNF  | -0,062<br>0,523 | —<br>—           |                |        |
| MMP-2 | -0,172<br>0,072 | -0,299<br>0,002* | —<br>—         |        |
| FAK   | 0,071<br>0,46   | 0,031<br>0,751   | 0,108<br>0,262 | —<br>— |

\*  $p<0,01$



Şekil 4.10. Kontrol grubu MMP-2-BDNF korelasyon saçılım grafiği



## 5. TARTIŞMA

Dünya genelinde 2020 yılında meme kanseri teşhisi konan 2,3 milyon kadın ve 685 000 meme kanseri nedeni ölüm kaydedilmiştir. Son 5 yılda meme kanseri teşhisi konan 7,8 milyon kadının hayatta olması ve bu sebeple yüksek sağkalım oranı meme kanserini dünyanın en yaygın kanseri haline getirmiştir [1].

Meme kanserine yakalanma nedenlerinden önemli bir oran hamilelikle ilişkili faktörlere, hormonal tedaviye, obezite, fiziksel inaktivite, alkol alımı, düşük lifli diyet ve sigara gibi yaşam tarzı faktörlerine ve diğer risk faktörlerine bağlanabilmektedir. Yüksek gelir düzeyine sahip ülkelerde meme kanseri vakalarının üçte birinden fazlası yaşam tarzı değişiklikleriyle önlenabilmektedir [2]. Yüksek gelirli ülkelerde yaşa göre standardize edilmiş meme kanseri ölüm oranı 1980'ler ile 2020 arasında %40 oranında düşmüştür. Dünya çapında yıllık meme kanserinden ölüm oranlarında %2,5'lik bir azalma gerçekleşirse, 2020 ile 2040 yılları arasında 2,5 milyon meme kanseri ölümünün önlenebileceği öngörülmektedir [1].

Meme kanseri %10 ülkeye ve etnik kökene göre farklılıklar göstermekle birlikte, genetik yatkınlık ve aile öyküsü ile de yakından ilişkilidir. Meme kanserinde en yaygın germ hattı mutasyonları BRCA1 ve BRCA2 genlerinde olup, ortalama kümülatif yaşam boyu riski yaklaşık %70'tir. Meme kanserinde sekanslamada BRCA genlerine ek olarak PALB2, ATM, CHEK2, RAD51C, BARD1 ve TP53'ü içeren gen panelleri esas alınmaktadır. Aile öyküsünün alınması, risk değerlendirme ve genetik danışmanlık sonrasında tedavi prosedüründe genetik test kılavuzları kullanılmaktadır [2]. Dünya çapında en sık görülen kanser olmakla birlikte meme kanserinin görüntülenme şekli, immünohistokimyasal belirteçler, genomik belirteçler ve immün belirteçler dahil olmak üzere moleküler özellikleri kapsamlı bir şekilde karakterize edildiğinden teşhisi kolaylaşmıştır [2].

Meme kanseri tedavisi, hastalık erken teşhis edildiğinde, %90 veya daha fazla hayatta kalma oranına ulaşarak oldukça etkili olabilmektedir. Tedavi genellikle meme, lenf düğümleri ve çevresindeki bölgelerin cerrahi ile radyasyon tedavisi ve metastaz riskini tedavi etmek ve/veya azaltmak için sistemik tedaviden oluşmaktadır. Anti-kanser tedavi protokolleri arasında endokrin tedavisi, kemoterapi ve bazı durumlarda hedefli biyolojik antikor tedavisi yer almaktadır [1]. Son yıllarda

onaylanan PARP inhibitörleri, kontrol noktası inhibitörleri ve PI3K inhibitörleri gibi birkaç ilaç yalnızca belirli bir biyobelirtece veya mutasyona sahip hastalarda veya tümörlerde kullanılmaktadır. Gelecekteki araştırmalarda meme kanserinde yeni ilaçlara değil, her hastada her bir tümör için tedavinin bireyselleştirilmesine daha fazla odaklanılacaktır [2].

Kanser patolojisinin altında yatan genetik etkenlerin aydınlatılması hastalık nedeninin tam olarak belirlenmesi ve uygun tedavinin seçimi için önem taşımaktadır. 10. Kromozom üzerinde lokalize bir proto-onkogen olan RET çeşitli dokuların normal gelişimi ve olgunlaşması için gerekli bir RTK'dir. RET'in aktivasyonu çeşitli kanser tiplerinde proliferasyonu, invazyonu ve metastazı arttırmaktadır [123]. RET'in fonksiyonel polimorfik varyantlarının, mutasyonlarının ve artan ekspresyonunun onkogenik fonksiyonlar üzerinde etkili olduğu bildirilmektedir [9]. Polimorfik RET kodlaması veya intronik dizi varyant kombinasyonlarının MTK ve MEN2A riskini arttırdığı öne sürülmüştür. MEN2 hastalığında RET patojenik mutasyonlarına ilaveten RET'in birkaç polimorfik dizi varyantının mutasyon genotipine etki ederek değiştirdiği bildirilmiştir [10, 153, 156]. RET'in birçok polimorfik varyantı hakkında feokromositoma, medüller sünger böbrek, hiperparatiroidi, Hirschsprung hastalığı, PTK, SMTK, desmoplastik melanom, akciğer kanseri, pankreas kanseri gibi çeşitli kanserlerde çalışmalar bulunmaktadır [147, 150, 11, 151, 152, 12, 155-157, 13-15]. Literatürde meme kanserinde RET polimorfizminde sadece rs2435357 varyantını kapsayan bir çalışma bulunmaktadır [158]. Bu tez kapsamında ilk olarak meme kanserinde RET geni G691S, L769L ve S904S polimorfizmleri ele alınmıştır.

Khan ve diğerlerinin Kuzey Hindistan'da tiroidektomi sonrası PTK'li 118 kişi ve FTK'li 22 kişi olmak üzere toplam 140 hasta ve 180 sağlıklı kontrol ile yaptığı çalışmada RET G691S (rs1799939), L769L (rs1800861), ve S904S (rs1800863) SNP'leri araştırılmıştır. Çalışmada G691S polimorfizminde varyant alellerin (GA+AA) dağılımı hastalarda %62,9, kontrollerde %44,5; L769L'de TG+GG dağılımı hastalarda %70, kontrollerde %88; S904S'de CG+GG dağılımı hastalarda %56, kontrollerde %44 olarak bulunmuştur. Her üç SNP'de dağılım açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). RET S904S varyantının iyi huylu tiroid hastalığı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. PTK ve FTK hastalarında RET geni G691S/S904S polimorfizmleri sık gözlenirken L769L polimorfizmi daha az gözlenmiştir. Sonuç olarak RET polimorfik varyantlarının PTK ve FTK'nın

gelişmesinde veya ilerlemesinde sinerjik olarak hareket edebileceği sonucuna ulaşılmıştır [12].

Tural ve diğerleri Türk popülasyonunda tiroid kanserli hastalarda rs1800861 (L769L), rs2472732, rs1799939 (G691S), rs1800962, rs1800863 (S904S) ve rs3026272 SNP'lerini araştırmışlardır. Araştırmacıların yaptıkları polimorfizm analizleri sonucunda genotip frekansları rs1800861 (L769L) için GG %9,5, GT %27, TT %63,5; G691S rs1799939 için, GG %66,7, GA %30,2, AA %3,2; rs1800863 (S904S) için CC %61,9, CG %34,9, GG %3,2 sonuçlarına ulaşılmıştır. Bu hastalarda kan/doku örneklerinde rs1800861 (L769L) bölgesinin TT genotip sıklığının diğer genotiplere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür (sırasıyla, n=25 (%64,1) n=15 (62,5)) ( $p<0,05$ ) [15].

Gemignani ve diğerleri 2000–2017 yılları arasında sporadik MTK'lı (sMTK) 585, sporadik medüller olmayan tiroid karsinomlu (sNMTK) 1529 hasta ve 989 sağlıklı kontrolde yaptıkları çalışmada RET rs2565206, rs1799939 (G691S), rs1800861 (L769L), rs1800862, rs1800863 (S904S) SNP'lerinin hastalık durumu ile ilişkisini değerlendirilmişlerdir. sNMTK'lı hastalar sağlıklı kontroller ile karşılaştırıldığında benzer genotip ve alel frekanslarına sahip olduğu görülmüştür. sMTK'lı hastalarda rs1800861 (L769L) SNP'sinde T alelinin az sıklıkta olduğu ( $OR=0,70$ ;  $GA:0,58-0,84$ ,  $p<0,001$ ) ve homozigot TT'nin nadir olarak görüldüğü ( $OR=0,32$ ;  $GA:0,17-0,60$ ,  $p<0,001$ ) bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda L769L SNP'sinde T alelinin İtalyan popülasyonunda sMTK riskinin azalmasıyla ilişkili olduğu öne sürülmüştür [11].

Ceolin ve diğerleri tarafından yapılan MTK'de çoklu RET varyantlarının (G691S, L769L, S836S ve S904S) kanser riski ve tümör davranışı üzerindeki etkisini araştırdıkları 107 MTK hastası ve 308 kontrolün ele alındığı çalışmada, MTK hastalarındaki minör alel frekanslarının L769L %28,0, S836S %8,9 ve G691S/S904S %22,2 olduğu bildirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre RET L769L ve S836S SNP'leri, artan MTK riski ile ilişkilendirilmiştir (sırasıyla  $OR=1,95$ ;  $GA:1,2-3,1$ ,  $p<0,05$  ve  $OR=2,29$ ;  $GA:1,2-4,5$ ,  $p<0,05$ ). Üç veya daha fazla polimorfik alel içeren haplotiplerin MTK riski üzerinde ilave bir etkisi olduğu gösterilmiştir ( $OR=3,79$ ;  $GA:1,5-9,5$ ;  $p<0,05$ ). Ayrıca üç veya dört risk aleli olan haplotipleri taşıyan hastalarda, teşhiste lenf nodu ve uzak metastaz riskinin arttığı bildirilmiştir

(OR=5,84; GA:1,1-31,2,  $p<0,05$ ). RET geninde çoklu polimorfik alellerin varlığının, MTK'nin gelişimi ve ilerlemesi için riski artırabileceği öne sürülmüştür [10].

Sromek ve diğerleri tarafından Polonya'da yapılan çalışmada 246 MTK'li hasta ve 420 sağlıklı kontrolde RET genindeki üç polimorfik varyantın (L769L, S836S ve S904S) sıklığı karşılaştırılmıştır. Heterozigot L769L polimorfizm sıklığı sporadik MTK'li hastalarda (%48,3) kontrol grubu (%39,5) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur (OR:1,43; GA:1,03–1,99;  $p<0,05$ ). Yapılan değerlendirmede, L769L SNP'si yönünden 124 homozigot ve heterozigot (%57,14) sporadik MTK hastası (OR=1,43;  $p<0,05$ ) ve 202 homozigot ve heterozigot (%48,09) kontrol (OR:1,43; GA:1,03–2,00;  $p<0,05$ ) bulunmuştur. S904S polimorfizmi genotip dağılımları açısından yapılan değerlendirmede istatistiksel olarak bir farklılık bildirilmemiştir. sMTK'li hastalarda RET genindeki L769L polimorfizminde homozigot GG genotip dağılımının yabanıl TT genotipine göre anlamlı derecede düşük olduğu görülmüştür. Elde edilen veriler ışığında L769L polimorfizminin sporadik MTK gelişimine yatkınlık oluşturabileceği ve homozigot polimorfik varyant L769L taşıyıcılığının MTK'nin başlangıç yaşını düşürebileceği bildirilmiştir [14].

Sosonkina ve diğerlerinin küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (KHDAK) hücre hatlarında RET geni G691S SNP'sini değerlendirdikleri çalışmada, tüm hücre hatlarında A alelinin toplam frekansı %43,3, nöroendokrin hücre hatlarında %60 ve nöroendokrin olmayan hücre hatlarında %10 olarak bulunmuştur. 10 nöroendokrin hücre hattındaki A alel frekansı, NCBI SNP veri tabanına göre %17,6 olan referans popülasyonla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulunurken ( $p=0,0001$ ), 5 nöroendokrin olmayan akciğer tümörü hattındaki A alel frekansı açısından farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). G691S AA genotip frekansının akciğer hücre hatlarında GG referans genotipine göre önemli derecede yüksek olduğu bildirilmiştir ( $p<0,05$ ). GA genotipinde referans genotipe göre anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Sonuç olarak RET G691S polimorfizminin nöroendokrin akciğer tümörü ile potansiyel bir ilişkisi olabileceği öne sürülmüştür [13].

Barr ve diğerleri desmoplastik melanomlu 30 ve desmoplastik olmayan melanomlu 30 hastada RET G691S polimorfizmini değerlendirdiklerinde desmoplastik

melanomlu hastaların %30'u, desmoplastik olmayan melanomlu hastaların %21'i polimorfizm göstermiştir. G691S SNP'sinde genotip dağılımları desmoplastik melanomda GG %67, GA %23, AA %7; desmoplastik olmayan melanomda GG %77, GA %20, AA %3'tür ve istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Araştırmacılar G691S RET polimorfizminin desmoplastik melanom gelişimi için genetik bir risk faktörü olabileceğini bildirmişlerdir [149].

Siqueira ve diğerleri kalıtsal MTK'li 102 hasta ve sporadik MTK'li 81 hastada RET geni L769L, S836S ve G691S/S904S polimorfizmlerinin hastalık üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Kalıtsal MTK'deki RET polimorfizmlerinin sıklığı L769L için %17,3 ve G691S/S904S için %18,2 olarak bulunmuştur. L769L ve G691S/S904S'nin genotip dağılımları ve MTK riski arasındaki ilişki incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır [157].

Gürsoy ve diğerlerinin 19 erkek ve 31 kadından oluşan toplam 50 sporadik MTK'li hasta ile yaptığı çalışmada RET geni G691S, L769L, S836S ve S904S polimorfizmleri incelenmiştir. Bu bölgelerde alel frekansları G691S için %24, L769L için %29 ve S904S için %26 olarak bildirilmiştir. Alel frekansları açısından 3 SNP için bir farklılık bulunmamakla birlikte, L769L polimorfizmi ile lenf nodu tutulumu arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur [151].

Mishra ve diğerlerinin 2006-2018 yılları arasında Hindistan'da 438 MTK'li hasta ve 489 cinsiyet ve etnik köken olarak eşleştirilmiş sağlıklı kontrolden oluşan kohort çalışmasında RET SNP analizi yapmışlardır. Kalıtsal MTK'li 77 hastada genotip dağılımları G691S için GG %48,1, GA+AA %51,9; L769L için TT %45,5, TG+GG %54,5, S904S için CC %46,8, GC+GG %53,2, 489 kontrolde genotip dağılımları G691S için GG %57,8, GA+AA %42,1; L769L için TT %36,4, TG+GG %36,6, S904S için CC %58,3, GC+GG %41,7'dir. Sporadik MTK'li hastalarda genotip dağılımları G691S için GG %55,7, GA+AA %44,3; L769L için TT %40,4, TG+GG %59,6, S904S için CC %53,7, GC+GG %46,3, kontrollerde G691S için GG %57,8, GA+AA %42,1; L769L için TT %36,4, TG+GG %36,6, S904S için CC %58,3, GC+GG %41,7'dir. Hem kalıtsal hem de sporadik MTK'de 3 SNP için de genotip dağılımlarında hastalık riski açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır [203].

Machens ve diğerlerinin MTK'li 775 hasta ile yaptıkları çalışmada gebotip dağılımları G691S için GG %13,29, GA %4,65, AA %1,56; S904S için CC %13,29, GC %4,51, GG %1,55; L769L için TT %12, TG %7,1, GG %0,26 olarak bulunmuştur. Her 3 RET varyantında genotip dağılımı ve MTK tanısındaki hasta yaşı, cinsiyeti, primer tümör boyutu, tümörün ekstratiroidal yayılımı, kalan ve çıkarılan lenf nodu sayısı ve uzak metastaz arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bildirilmemiştir [204].

Santos ve diğerlerinin Portekizli 545 hasta ve 543 kontrolde yaptıkları çalışma ile iyi bilinen G691S, L769L, S836S ve S904S RET SNP'lerinin farklılaşmış tiroid karsinomu genetik yatkınlığına katkısını ve kanser riski üzerindeki etkisini belirlemeyi amaçlamışlardır. G691S, L769L ve S904S bölgeleri için genotip ve alel dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bildirilmemiştir. Çok değişkenli lojistik regresyon analizinde hastalık riski yönünden cinsiyet, tanı yaşı, lenf nodu ve uzak metastaz ile ilgili istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Buna ek olarak G691S ve S904S minör alel dağılımlarında tümör boyutu <1 cm olanlarda  $\geq 1$  cm olanlara kıyasla anlamlı farklılıklar olduğu bulunmuştur. Elde edilen veriler ışığında, G691S/S904S polimorfizmlerinin hastalığın agresifliğini artırabileceği ve yapılacak çalışmalarda tümör boyutunun da dikkate alınması gerektiği bildirilmiştir [131].

Griseri ve diğerleri 93 ER+ meme kanserli hastada RET'in bir başka polimorfizmi olan rs2435357 SNP'si ile RET ekspresyon seviyeleri arasındaki olası ilişkiyi araştırdıkları çalışmada, rs2435357 bölgesinde en az bir varyant alel (CT ve TT genotipleri) varlığının CC yabanıl tip alel taşıyan hastalara kıyasla artmış bir sağkalım ile ilişkili olduğunu göstermiştir [158].

Çalışmamızda RET genine ait G691S, L769L ve S904S bölgelerinde polimorfizm analizleri yapılmıştır. Tiroid karsinomu, malign melanom, multipl endokrin neoplazi, ve akciğer kanseri gibi kanser türlerinde bu 3 bölgeye ait SNP'lerin araştırıldığı çalışmalar bulunmakla birlikte meme kanserinde yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada G691S SNP'sinde genotip dağılımı meme kanserli hastalarda %7,3 AA, %34,5 GA, %58,2 GG ve kontrol grubunda %5,5 AA, %32,7 GA, %61,8 GG olarak bulunmuştur. Alel frekansı dağılımı hasta grubunda %75,5 G, %24,5 A ve kontrol grubunda %78,2 G, %21,8 A olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlarda genotip ve alel dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir

farklılık bulunmamıştır. Bu sonuçlar Tural ve diğerlerinin, Gemignani ve diğerlerinin, Ceolin ve diğerlerinin, Barr ve diğerlerinin, Siqueira ve diğerlerinin, Gürsoy ve diğerlerinin, Mishra ve diğerlerinin, Machens ve diğerlerinin ve Santos ve diğerlerinin yaptıkları çalışmaların sonuçları ile uyumludur. Çalışmamızda L769L SNP'sinde genotip dağılımı meme kanserli hastalarda %8,2 GG, %44,5 TG, %47,3 TT ve kontrol grubunda %13,6 GG, %39,1 TG, %47,3 TT olarak bulunmuştur. Alel frekansı dağılımı hasta grubunda %30,5 G, %69,5 T ve kontrol grubunda %33,2 G, %66,8 T 'dir. Çalışma grubunda genotip ve alel dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Elde edilen bu veriler Sosonkina ve diğerlerinin, Siqueira ve diğerlerinin, Gürsoy ve diğerlerinin, Mishra ve diğerlerinin, Machens ve diğerlerinin ve Santos ve diğerleri tarafından bildirilen sonuçlar ile uyumludur. Bu çalışmada S904S SNP'sinde genotip dağılımı meme kanserli hastalarda %8,2 GG, %33,6 GC, %58,2 CC ve kontrol grubunda %7,3 GG, %31,8 GC, %60,9 CC olarak bulunmuştur. Alel frekansı dağılımı hasta grubunda %75 C, %25 G ve kontrol grubunda %76,8 C, %33,2 G 'dir. Çalışma grubunda genotip ve alel dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Elde edilen bu sonuçlar Tural ve diğerlerinin, Gemignani ve diğerlerinin, Sosonkina ve diğerlerinin, Ceolin ve diğerlerinin, Sromek ve diğerlerinin, Siqueira ve diğerlerinin, Gürsoy ve diğerlerinin, Mishra ve diğerlerinin, Machens ve diğerlerinin ve Santos ve diğerlerinin sonuçları ile uyumlu görünmektedir.

RET'in NRTN'nin dahil olduğu tümör büyümesini ve yayılmasını destekleyen GFL aracılığıyla aktivasyonu günümüzde çok fazla araştırılan bir yoldur. Literatürde NRTN genindeki polimorfizmler ile ilgili Fernandez ve diğerlerinin Hirschsprung hastalığında, Cebrian ve diğerlerinin medüller tiroid karsinomunda olmak üzere iki çalışma bulunmaktadır [19, 20]. Çalışmamızda meme kanserinde NRTN IVSI-663 polimorfizminin saptanması ve meme kanseri riskine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Fernandez ve diğerlerinin İspanya'da 142 Hirschsprung hastası ve 99 sağlıklı kontrolden oluşan çalışmasında NRTN geninde c.170-663 (rs1379868=IVSI-663), c.\*592 (rs10775589) ve c.\*855\_881del (rs11268405) SNP'leri değerlendirilmiştir. IVSI-663 SNP'sinde Hirschsprung hastalarında genotip dağılımı %6,33 GG, %35,91 GA, %57,74 AA ve kontrol grubunda %7,07 GG, %31,31 GA, %61,62 AA olarak

bulunmuştur. Alel frekansı dağılımı ise hasta grubunda %75,70 A, %24,29 G ve kontrol grubunda %77,27 A, %22,73 G'dir. Çalışma gruplarında genotip ve alel dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır [20].

Cebrian ve diğerlerinin Birleşik Krallık popülasyonunda sporadik MTK'li 135 hasta ve 533 kontrolde yaptıkları çalışmada hastalardaki duyarlılığın NRTN IVSI-663 (rs1379868) polimorfizminin araştırılması %60,74 AA ve kontrol grubunda %5,44 GG, %24,39 GA, %67,92 AA olarak bulunmuştur. NRTN IVSI-663 SNP'sinde genotip dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Araştırmacılar bu bulgular sonucunda NRTN polimorfizmi ile sporadik MTK riski arasında bir ilişki bulunmadığını bildirmişlerdir [19].

Çalışmamızda meme kanserli 110 hasta ve 110 sağlıklı kontrolde NRTN IVSI-663 SNP'si belirlenmiştir. Genotip dağılımı hastalarda %20 GG, %19,1 GA, %60,9 AA ve kontrol grubunda %16,4 GG, %10 GA, %73,6 AA olarak bulunmuştur. NRTN IVSI-663 polimorfizmi ile meme kanseri riski arasındaki ilişki genotip dağılımı yönünden değerlendirildiğinde heterozigot GA genotipi referansında AA genotipinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ve bu farklılık meme kanseri riskinin AA genotipinde 0,43 kat azaldığını göstermektedir. Referans genotip ile GG genotipi arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Alel frekansı dağılımı hasta grubunda %70,5 A, %29,5 G ve kontrol grubunda %78,6 A, %21,4 G 'dir. Bu polimorfizm ile meme kanseri riski arasındaki ilişki alel frekansı açısından incelendiğinde, A aleli referansında G alelinde istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmuştur. Bu farklılık G alelinin meme kanseri riskini 1,54 kat arttırdığını göstermektedir. Çalışmamız Fernandez ve diğerlerinin Hirschsprung, Cebrian ve diğerlerinin MTK hastalarında elde ettikleri sonuçlar bakımından ilişkilidir. Bu çalışma meme kanserinde NRTN IVSI-663 polimorfizmi olarak bir ilki temsil etmektedir.

Literatürde kanserde NRTN ekspresyonunun araştırıldığı az sayıda hücre hattı ve doku çalışması bulunmaktadır. Bununla birlikte kanser türlerinde serum NRTN düzeylerinin değerlendirildiği bir çalışma bulunmamaktadır.

Hishiki ve diğerleri nöroblastom hücre hatlarında ve 37 primer nöroblastom dokusunda NRTN ekspresyonlarını değerlendirmişlerdir. NRTN'nin primer

nöroblastom dokusunda ekspresyonunu belirlemek için gerçek zamanlı PCR yapılmıştır. Çalışma sonucunda 10 nöroblastom hücre hattında ve 28 tümör dokusunda NRTN'in eksprese edildiği bildirilmiştir [205].

Wang ve diğerleri NRTN ve reseptörü GFR $\alpha$ -2'nin pankreas kanserinde dokuda ve pankreas kanseri hücre hatlarında hücre dışı matrikste yukarı regülasyon olduğunu, sağlıklı pankreas doku ve hücrelerine göre artan NRTN bulunduğunu ve bu NRTN'nin invazivliği desteklediğini göstermişlerdir. NRTN'nin susturulması ile hem pankreas kanseri hücre proliferasyonu hem de invazyonu sınırlandırılmıştır [171].

Qiao ve diğerleri 38 yaşındaki kadın hastada yaptıkları çalışmada kolon adenokarsinom hücrelerinde immunohistokimyasal olarak belirlenen GDNF ve NRTN'in yüksek seviyelerde eksprese edildiği, bununla birlikte GFR $\alpha$ -1 ve RET ekspresyonunun görülmediği bildirilmiştir [206].

Çalışmamızda serum NRTN düzeyleri meme kanseri hastalarında  $1,81 \pm 0,26$  ng/mL, sağlıklı kontrollerde  $0,99 \pm 0,13$  ng/mL olarak ölçülmüştür. Hasta grubunda NRTN düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur. Meme kanseri hastalarında ölçülen yüksek serum NRTN düzeyleri artan ekspresyona bağlı olarak açıklanabilir. Ayrıca yaş gruplarına göre serum NRTN düzeyleri değerlendirildiğinde meme kanseri hastalarında <40 yaş grubunda  $\geq 40$  yaş grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Nörotrofin ailesinin üyesi olan BDNF ve reseptörü TrkB'nin meme, akciğer, kolon-rektum, pankreas, prostat, karaciğer, miyelomlar ve lenfoid tümörler dahil olmak üzere çeşitli kanserlerde önemli bir rol oynadığı ve artan düzeyde regüle edildiği bildirilmektedir [207]. Meme kanserinde BDNF ekspresyonunun normal dokuya kıyasla daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu artışın patolojik parametreler, kötü prognoz ve meme kanserinden ölüm dahil olmak üzere klinik sonuçlarla önemli ölçüde ilişkili olduğu bildirilmektedir [163, 208]. BDNF ekspresyonunda artışın olduğu çalışmalar yanında kolorektal kanserde ve meme kanserinde serum protein düzeylerinin arttığı çalışmalar da mevcuttur [209, 210].

Vanhecke ve diğerleri meme kanseri hücre hatlarında ve meme kanserli ksenografli farelerde ekprese edilen BDNF'nin tümör büyümesi üzerine katkısını araştırmıştır. Hem BDNF'nin hem de reseptörü olan TrkB-T1'in meme kanseri hücre hatlarında

ve tümör biyopsilerinde eksprese edildiğini göstermişlerdir. Ksenografli farelerde anti-BDNF ve anti-TrkB-T1 tedavilerinin, hücre apoptozunu arttırdığı ve tümör büyümesinin inhibisyonu ile sonuçlandığı bildirilmiştir. Sonuç olarak araştırmacılar BDNF'nin TrkB-T1 aracılığıyla kanser hücrelerinin apoptoza karşı direnci uyararak hayatta kalmasına katkıda bulunduğunu ve bu nedenle meme kanserinde yeni terapötik hedef olarak potansiyel oluşturduğunu ortaya koymuşlardır [164].

Patani ve diğerleri meme kanserli kadınlarda 127 tümör dokusu ile 33 sağlıklı dokuda BDNF'nin mRNA ve protein konsantrasyonunu ölçmüşlerdir. Neoplastik hücrelerde, normal meme epitel hücrelerine kıyasla önemli ölçüde artan BDNF ekspresyonu ve anlamlı derecede daha yüksek mRNA transkript seviyeleri gösterilmiştir. Araştırmacılar hastaların 10 yıllık takip süreci sonunda yüksek BDNF ekspresyon seviyelerinin genel sağkalımın azalmasıyla anlamlı şekilde ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Sonuç olarak BDNF'nin prognostik bir belirteç, hedeflenen terapötik stratejiler için potansiyel olabileceği bildirilmiştir [163].

Wang ve diğerlerinin kolorektal kanserde BDNF'nin ayırıcı rolünü araştıran 81 kolorektal kanserli, 31 adenomlu hasta ve 61 sağlıklı kontrolde yaptığı çalışmada serum BDNF düzeyleri kolorektal kanserli hastalarda sağlıklı kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Serum BDNF konsantrasyonlarının tümör boyutu, tümör farklılaşması ve TNM evrelemesi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar artan BDNF düzeylerinin kolorektal kanser gelişiminde ve ilerlemesinde kritik bir rol oynayabileceğini ve erken teşhiste uygun bir biyobelirteç olabileceğini ileri sürmüşlerdir [209].

Zoladz ve diğerleri 30-65 yaş aralığındaki 18 meme kanserli kadında cerrahi operasyonun serum ve plazma BDNF konsantrasyonu üzerindeki etkisini belirlemeyi amaçlamıştır. Meme kanseri ameliyatından 24 saat önce ve 24 saat sonra ölçülen serum BDNF konsantrasyonları karşılaştırıldığında ameliyattan önceki BDNF düzeylerinin ameliyattan 24 saat sonra anlamlı derecede düştüğünü göstermişlerdir [210].

Çalışmamızda serum BDNF düzeyleri meme kanseri hastalarında  $11,12 \pm 0,5$  ng/mL, kontrol grubunda  $9,28 \pm 6,34$  ng/mL olarak ölçülmüştür. Hasta grubunda BDNF düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur.

Meme kanseri hastalarında ölçülen bu artan sonuçlar Zoladz ve diğerlerinin yaptığı çalışma ile uyumlu görülmektedir.

MMP-2'nin proteolitik aktivitesiyle TIMP-2 arasındaki dengenin bozulması ekstraselüler matriks bileşenlerinin degradasyonuna, tümör invazyonu ve metastazın oluşumuna sebep olmaktadır. Literatürde meme kanserinde MMP-2'nin doku ekspresyonu ve serum/plazma düzeyleri ile ilgili çok sayıda çalışma bulunmaktadır Serum MMP-2 düzeyleri ile yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar bildirilmektedir [181, 211-215].

Song ve diğerlerinin çalışmasında meme kanseri olan 303 kişiden preoperatif kan örneği alınarak serumda MMP-2 düzeyleri ölçülmüştür. Çalışma popülasyonunda TNM evresi, tümör boyutu, lenf nodu, histolojik derece, nükleer derece, ER ve PR durumu, adjuvan kemoterapi ve hormon tedavisinin hastalıksız sağkalım üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahip olduğu; tanı yaşı, VKİ, sigara, eğitim düzeyi, menopo, p53, C-erbB2 ve radyoterapinin hastalıksız sağkalım üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığını bildirilmiştir [216].

Alrehaili ve diğerleri yaptıkları çalışmada, meme kanserinde MMP-2'nin plazma konsantrasyonlarını ölçerek hastalığın evresi ve prognoz ile ilişkisini incelemişlerdir. Meme kanserli hastaların MMP-2 düzeyleri benign meme hastalığı olan kişilere ve sağlıklı kontrollere göre, tümör derecesi 3 olan hastalarda tümör derecesi 1 ve 2 olanlara göre yüksek bulunmuştur. Meme kanserli hastalarda preoperatif ölçülen MMP-2 düzeylerinin cerrahi operasyon sonrasında istatistiksel olarak anlamlı derecede düştüğü bildirilmiştir [217].

Lawicki ve diğerlerinin çalışmasında 100 meme kanserli hastanın plazma MMP-2 düzeylerini 50 benign meme hastalığı olan ve 50 sağlıklı kontrolle karşılaştırılmıştır. MMP-2 konsantrasyonu benign meme hastalığı olanlarda meme kanserli hastalara ve sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede yüksek bulunurken, meme kanserli hasta grubu ile sağlıklı kontroller arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Meme kanserli hastalarda evre I MMP-2 düzeyleri evre II, III ve IV'e göre düşük bulunmuştur [215].

Huang ve diğerleri yaptıkları çalışmada 46 meme kanserli hasta ve 31 benign meme hastalığı bulunan kişide MMP-2'nin tümör dokusunda ekspresyon ve serum

düzeylerini ölçmüşlerdir. Meme kanserli gruptan alınan doku ve serumda MMP-2 ekspresyonu/serum düzeylerinin, benign meme hastalığı grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı bildirilmiştir. Araştırmacılar MMP-2'nin yüksek serum ve doku düzeylerini lenf nodu metastazı ve daha yüksek TNM evresi ile ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır [211].

Heo ve diğerleri meme kanserli 77 ve benign meme tümörlü 10 hastanın ameliyat öncesi serum MMP-2 düzeylerini karşılaştırmışlardır. Meme kanseri hastalarında benign tümörlü hastalara kıyasla önemli ölçüde daha yüksek serum MMP-2 düzeyleri bulunmuştur. Araştırmacılar yüksek serum MMP-2 düzeylerinin nod metastazı ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu bildirmişlerdir [218].

Sheen-Chen ve diğerlerinin yaptıkları çalışmada inaziv meme kanserli 57 ve benign meme tümörlü 12 hastada MMP-2'nin serum konsantrasyonlarını değerlendirdiklerinde meme kanserli hastalarda anlamlı derecede yüksek MMP-2 konsantrasyonlarını göstermişlerdir [219].

Zagouri ve diğerleri yaptıkları çalışmada atipik duktal hiperplazi, lobüler neoplazi, DKİS ve İDK'de serum MMP1, MMP-2, TIMP-1 ve TIMP-2'yi spesifik olarak palpe edilemeyen mamografik meme lezyonlarında değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Lezyonları olan bu hastalarda ölçülen serum MMP-2 konsantrasyonları lezyonun artışı ile negatif ilişkili bulunmuştur. MMP-2 düzeyleri DKİS ve İDK'li hastalarda iyi huylu ve prekürsör lezyonlu hastalara göre düşük olmakla birlikte istatistiksel bir anlamlılık bulunmamıştır [220].

Katunina ve diğerleri meme tümöründe, sağlıklı dokuda ve hastaların preoperatif ve postoperatif serumlarında MMP-2 düzeylerini ölçmüşlerdir. Elde edilen sonuçlara göre sağlıklı kontroller ile kıyaslandığında preoperatif ve postoperatif MMP-2 düzeylerinin, meme kanserli hastalarda operasyon öncesi ile kıyasladığında operasyon sonrası düzeylerinin farklılık göstermediği bulunmuştur [212].

Kim ve diğerlerinin 1993-2006 yılları arasında farklı etnik kökenli invaziv meme kanserli kadınlarda yürüttükleri çalışmalarında plazma 1, 2, 3 ve 7 MMP düzeylerini analiz etmişlerdir. İnvaziv meme kanserli 713 kadın ile sağlıklı kontrollerden oluşan kohort çalışmasında iki grup arasında MMP-2'nin plazma düzeyleri ve meme kanseri riski yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır [213].

Aroner ve diğerkleri dolaşımdaki MMP-2 düzeylerinin meme kanseri riskine etkisini araştırmışlardır. 1976'da 121 700 kadının kaydıyla başlayan, devam eden ileriye dönük bir kohort çalışmada 1989-1990 yıllarında kansersiz 32 826 kadından ve 2000-2002 yıllarında ilk koleksiyondaki 18 743 kadından oluşan bir alt gruptan kan örnekleri toplanmıştır. Yapılan çalışmada, 1992-2004 yılları arasında invaziv meme kanseri tanısı konan 1136 hasta ile 1136 eşleştirilmiş kontrol arasında prospektif vaka-kontrol analizi gerçekleştirilmiştir. Katılımcılar, ilk kan alımından itibaren 2004 yılına kadar invaziv meme kanseri amacıyla takip edilmiştir. Plazma MMP-2 seviyeleri ile invaziv meme kanseri riski arasında bir ilişki gözlenmemiştir ve MMP-2 tanıda daha yüksek nodal metastaz risk ile ilişkilendirilmiştir [181].

Çalışmamızda serum MMP-2 düzeyleri meme kanseri hastalarında  $117,71 \pm 3,53$  ng/mL, kontrol grubunda  $140,14 \pm 4,03$  ng/mL olarak ölçülmüştür. Hasta grubunda MMP-2 düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu bulunmuştur. Elde ettiğimiz sonuçlar MMP-2 serum/plazma düzeylerinin meme kanserli hastalarda sağlıklı kişilere göre farklılık göstermediğini bildiren veya arttığını bildiren çalışmalar ile karşılaştırıldığında çelişkili görünmektedir. Düşük MMP-2 düzeyleri, meme kanserli hastalarda sağlıklı kontrollere göre farklılık olmadığını bildiren çalışmaların büyük popülasyonları kapsaması, tümör derecesine göre farklılıklar göstermesi ve sadece invaziv meme kanserini içermesi ile açıklanabilir.

Çalışmamızda MMP-2 düzeyleri HER2 negatif olan hastalarda HER2 pozitif olan hastalarla karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar, HER2 negatif ve HER2 pozitif olan hastalarda MMP-2 düzeylerinde farklılık olmadığını bildiren Patel ve diğerkleri, Katunina ve diğerkleri, Huang ve diğerkleri ile Song ve diğerklerinin çalışmaları ile çelişkilidir [211, 212, 221, 216].

Çalışmamızda sağlıklı kontrollerde MMP-2 konsantrasyonunun menopoz sonrası kadınlarda menopoz öncesine göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur. Muzzio ve diğerkleri postmenopozlu ve premenopozlu kadınlarda MMP-2 aktivitelerini zimografi yöntemi ile değerlendirdiklerinde MMP-2'nin bağıl alanlarının postmenopozlu kadınlarda premenopozlu kadınlara göre anlamlı derecede yüksek olduğunu bulmuşlardır [222]. Zhang ve diğerkleri serum MMP-2 düzeylerinin yaşla pozitif korelasyon gösterdiğini ve postmenopozal kadınlarda MMP-2 düzeylerinin premenopozal kadınlardan anlamlı derecede yüksek olduğunu bildirmişlerdir [223].

Elde ettiğimiz sonuçlar Muzzio ve diğerleri ile Zhang ve diğerlerinin yaptığı çalışmalar ile uyumludur. Yaş ilerlemesi ve postmenopozal durumun kemik döngüsünü etkileyerek MMP-2 düzeyini etkilemesinin bir sonucu olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızda sağlıklı kontrollerde yapılan RET geni S904S polimorfizm analizinde, GC genotipine sahip kişilerle karşılaştırıldığında GG genotipine sahip kişilerde MMP-2 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Çalışmamızda meme kanserli hastalarda serum MMP-2 ile BDNF konsantrasyonları arasında bir ilişki bulunmamakla birlikte sağlıklı kontrollerde negatif bir ilişki bulunmuştur. Ozono ve arkadaşları akciğer karsinom hücre hatlarında BDNF/TrkB'nin MMP-2'nin ekspresyonunu ve aktivasyonunu indüklediğini, Odate ve diğerleri nöroendokrin karsinom hücre hatlarında BDNF inhibisyonunun MMP-2'nin aktivitesini ve invazivliğini baskıladığını bildirmişlerdir [224, 225].

Hücre dışı matriks integrin sinyalinin, hücre hareketliliğinin, çoğalmasının ve hücrenin hayatta kalmasının önemli bir aracısı olan FAK'ın artan ekspresyonu, çeşitli solid tümörlerde gözlenmektedir. FAK kolorektal, over ve meme dahil olmak üzere bir dizi kanserde aşırı miktarda eksprese edilmektedir [226-228]. Serum FAK düzeylerinin akut miyeloid lösemi hastalarında ölçüldüğü bir çalışma bulunmakla birlikte, meme kanserinde yapılmış bir çalışma yoktur.

Lark ve diğerleri 629 meme tümörü dokusunda FAK ekspresyonunu incelediklerinde, elde edilen sonuçlarla yüksek FAK ekspresyonunun yüksek mitotik indeks, nükleer derece 3, ER ve PR negatif ve HER-2/neu aşırı ekspresyonu dahil olmak üzere prognostik göstergelerle ilişkisini bulmuşlardır. Araştırmacılar ileri dereceli, ER ve PR negatif meme karsinomunda güçlü FAK ekspresyonunun terapötik müdahalede bir hedef olabileceğini bildirmişlerdir [226].

Golubovskaya ve diğerleri invaziv meme kanserinde FAK'ın aşırı ekspresyonunun tümör baskılayıcı gen olan p53'ün ekspresyonuna ve mutasyon durumuna etkisini incelemeyi amaçlamıştır. İmmünohistokimyasal analizler sonucunda 622 meme tümöründe FAK ve p53 ekspresyonunun arasında yüksek bir korelasyon olduğu gösterilmiştir. FAK'ın aşırı ekspresyonu ve p53 mutasyonu kötü prognoz ile ilişkili

olduğundan, meme kanserinde bu yolları hedeflemenin terapötikler için önemli olabileceği bildirilmiştir [229].

El-Sisi ve diğerleri 70 akut miyeloid lösemi hastasında ve 20 sağlıklı kontrolde serum FAK düzeylerini ölçtüklerinde, hasta FAK düzeylerinin kontrole göre anlamlı derecede yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Sonuç olarak FAK'ın akut miyeloid lösemi hastalarında yüksek duyarlılık ve özgüllük ile erken tanı ve prognostik belirteç olarak kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir [230].

Çalışmamızda serum FAK düzeyleri meme kanseri hastalarında  $0,80 \pm 0,05$  ng/mL, kontrol grubunda  $0,64 \pm 0,05$  ng/mL olarak ölçülmüştür. Hasta grubunda FAK düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur. Yapılan çalışmalar FAK'ın kanserde artan ekspresyonunu göstermekle birlikte, serumda ölçüldüğü yalnızca akut miyeloid lösemi çalışması bulunmaktadır. Bu tez kapsamında meme kanserinde serum FAK düzeyleri literatürde bir ilk olarak ölçülmüş ve yüksek bulunmuştur.

Theocharis ve diğerleri İDK'li hastalarda FAK proteininin aşırı ekspresyonunu ve tümör histoloji derecesi ile tümör hücrelerinin çoğalma kapasitesi ile ilişkisini göstermişlerdir [231]. Lightfoot ve diğerleri fibrokistik hastalık, atipik duktal hiperplazi, DKİS ve İDK'de FAK'ın ekspresyonunu değerlendirmek için yaptıkları analizde, DKİS'li dokularda atipik duktal hiperplazi ve İDK'ye göre artan FAK ekspresyonunu göstermişlerdir [232]. Çalışmamızda serum FAK konsantrasyonu İDK'li hastalarda İDK ile DKİS'ten oluşan miks tipe göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Elde ettiğimiz yüksek FAK konsantrasyonunun, Theocharis ve diğerlerinin çalışması ile uyumlu olarak, İDK'li hastalarda artan ekspresyon sebebiyle olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda hasta grubunda FAK ve BDNF konsantrasyonları arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Myers ve diğerleri Rho-GTPaz ailesinin bir üyesi olan Cdc42'nin BDNF ile indüklenerek yukarı akış modülasyonu ile FAK aktivitesinin düzenlenmesinde görev aldığını bulmuşlardır [233]. Matsuda ve diğerleri yaptıkları çalışmada BDNF'nin TrkB/ERK/integrin  $\alpha\beta3$ /FAK'ı içeren bir süreçle endotel hücre göçünü indüklediği bildirilmiştir [234]. Sonuçlarımız Myers ve diğerleri ile Matsuda ve diğerlerinin yaptıkları çalışmalar ile uyumlu görünmektedir.

Ki67 meme kanserlerinin histopatolojik değerlendirmesine katkı sağlayan, tedavi ve takip protokollerinde prognostik değerlendirmeye ve iyileştirmeye yardımcı olan bir indekstir [235]. Ki67 değerleri Neurturin IVSI-663 polimorfizminde genotiplere göre karşılaştırıldığında, GG genotipi değerleri AA ve GA genotipi değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Genel Cerrahi Polikliniği ve Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Polikliniği'ne Aralık 2018-Temmuz 2020 tarihleri arasında başvuran, yeni meme kanseri teşhisi konulmuş 110 hasta ve 110 sağlıklı kontrol yer almıştır. Çalışma gruplarından alınan kan örneklerinden DNA izolasyonunu takiben PZR-RFLP metodu kullanılarak RET G691S, L769L ve S904S ile Neuturin geni IVSI-663 polimorfizmleri analiz edilmiştir. Hasta ve kontrollerde serum BDNF, NRTN, MMP-2 ve FAK düzeyleri ELİSA yöntemi ile ölçülmüştür. Elde ettiğimiz sonuçlar aşağıda maddeler halinde verilmiştir.

- 1) G691S genotip dağılımı hasta grubunda %7,3 AA, %34,5 GA, %58,2 GG ve kontrol grubunda %5,5 AA, %32,7 GA, %61,8 GG olarak bulunmuştur. Alel frekansı dağılımı hasta grubunda %75,5 G, %24,5 A ve kontrol grubunda %78,2 G, %21,8 A 'dir. Çalışma grupları arasında genotip dağılımı ve alel frekansı açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).
- 2) L769L genotip dağılımı hasta grubunda %8,2 GG, %44,5 TG, %47,3 TT ve kontrol grubunda %13,6 GG, %39,1 TG, %47,3 TT olarak bulunmuştur. Alel frekansı dağılımı hasta grubunda %30,5 G, %69,5 T ve kontrol grubunda %33,2 G, %66,8 T 'dir. Çalışma grupları arasında genotip dağılımı ve alel frekansı açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).
- 3) S904S genotip dağılımı hasta grubunda %8,2 GG, %33,6 GC, %58,2 CC ve kontrol grubunda %7,3 GG, %31,8 GC, %60,9 CC olarak bulunmuştur. Alel frekansı dağılımı hasta grubunda %75 C, %25 G ve kontrol grubunda %76,8 C, %33,2 G 'dir. Çalışma grupları arasında genotip dağılımı ve alel frekansı açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).
- 4) Neurturin IVSI-663 genotip dağılımı hasta grubunda %20 GG, %19,1 GA, %60,9 AA ve kontrol grubunda %16,4 GG, %10 GA, %73,6 AA olarak bulunmuştur. Alel frekansı dağılımı hasta grubunda %70,5 A, %29,5 G ve kontrol grubunda %78,6 A, %21,4 G 'dir. NRTN IVSI-663 polimorfizminde heterozigot GA genotipi referansında AA genotipinde meme kanseri riskinin 0,43 kat azaldığı tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). Bu polimorfizm ile meme kanseri riski arasındaki ilişki alel frekansı açısından incelendiğinde, A aleli

referansında G alelinin meme kanseri riskini 1,54 kat arttığı tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ).

- 5) Hasta ve kontrol serum BDNF düzeyleri karşılaştırıldığında hasta grubunun BDNF düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ).
- 6) Hasta ve kontrol serum NRTN düzeyleri karşılaştırıldığında hasta grubunda NRTN düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ).
- 7) Hasta ve kontrol serum MMP-2 düzeyleri karşılaştırıldığında hasta grubunda MMP-2 düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p<0,01$ ).
- 8) Hasta ve kontrol serum FAK düzeyleri karşılaştırıldığında hasta grubunda FAK düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ).
- 9) Hastalarda serum NRTN düzeyleri  $<40$  yaş grubunda  $\geq 40$  yaş grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ).
- 10) Hastalarda MMP-2 düzeyleri HER2 negatif olan kişilerde HER2 pozitif olanlarla karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ).
- 11) Sağlıklı bireylerde MMP-2 konsantrasyonu menopoz sonrası kadınlarda menopoz öncesine göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ).
- 12) Sağlıklı kontrollerde RET geni S904S polimorfizminde MMP-2 düzeyleri GG genotipinde GC genotipine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ).
- 13) Serum FAK konsantrasyonu İDK'li hastalarda miks tipe göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ).
- 14) Ki67 değerleri Neurturin IVSI-663 polimorfizminde genotiplere göre karşılaştırıldığında, GG genotipinde AA ve GA genotiplerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ).
- 15) Hasta grubunda FAK ve BDNF konsantrasyonları arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur ( $p<0,001$ ).
- 16) Sağlıklı kontrollerde grubunda serum MMP-2 ve BDNF konsantrasyonları arasında negatif bir ilişki bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

Dünya çapında kadınlarda en sık görülen kanser türü olan meme kanserinde yeni tedavi stratejileri önemli bir yer tutmaktadır. Kompleks genetik bir hastalık olan meme kanserinde konvansiyonel tedavi yaklaşımları yerine kişiye özel tedavi her geçen gün daha çok önem kazanmaktadır. Çalışmamız kapsamında Türk popülasyonunda RET geni G691S, L769L ve S904S ile Neuturin geni IVSI-663 polimorfizmleri ile meme kanseri arasındaki olası riskin, RET ilişkili serum NRTN, BDNF, MMP-2 ve FAK düzeylerindeki değişimlerin belirlenmesi ve elde edilen bilgilerle literatüre katkı sağlanması amaçlanmaktadır.

Sonuç olarak, bu çalışmada meme kanserinde NRTN geni IVSI-663 bölgesinin polimorfizminde G alelinin meme kanseri riskini arttırdığı ve AA genotipinde meme kanseri riskinin azaldığı bulunmuştur. Ayrıca, RET ilişkili parametreler olan NRTN, BDNF ve FAK'ın serum düzeylerinde artış, MMP-2 düzeylerinde azalma olmuştur. RET ligandı olan NRTN'in polimorfizminde G aleli ile artan meme kanseri riskinin, aynı zamanda artan serum NRTN, BDNF ve FAK düzeylerinin bulunması yeni tedavi stratejisine yönelik çalışmalara katkı sağlayabilecektir. Meme kanserinde bir ilki temsil eden bu çalışmanın daha geniş popülasyonları içeren yeni çalışmalarla desteklenmesi gerektiği düşünülmektedir.



## KAYNAKLAR

1. İnternet: (WHO), W.H.O. Breast Cancer. Web <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>: adresinden 13.09.2021'de alınmıştır.
2. Loibl, S., Poortmans, P., Morrow, M., Denkert, C. and Curigliano, G. (2021). Breast cancer. *Lancet*. 397(10286), 1750-1769.
3. Lemmon, M.A. and Schlessinger, J. (2010). Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell*. 141(7), 1117-1134.
4. Roskoski, R., Jr. and Sadeghi-Nejad, A. (2018). Role of RET protein-tyrosine kinase inhibitors in the treatment RET-driven thyroid and lung cancers. *Pharmacological Research*. 128, 1-17.
5. Mulligan, L.M. (2019). GDNF and the RET Receptor in Cancer: New Insights and Therapeutic Potential. *Frontiers in Physiology*. 9, 1873.
6. Gattelli, A., García Solá, M.E., Roloff, T.C., Cardiff, R.D., Kordon, E.C., Chodosh, L.A. and Hynes, N.E. (2018). Chronic expression of wild-type Ret receptor in the mammary gland induces luminal tumors that are sensitive to Ret inhibition. *Oncogene*. 37(29), 4046-4054.
7. Gattelli, A., Hynes, N.E., Schor, I.E. and Vallone, S.A. (2020). Ret Receptor Has Distinct Alterations and Functions in Breast Cancer. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. 25(1), 13-26.
8. Paratala, B.S., Chung, J.H., Williams, C.B., Yilmazel, B., Petrosky, W., Williams, K., Schrock, A.B., Gay, L.M., Lee, E., Dolfi, S.C., Pham, K., Lin, S., Yao, M., Kulkarni, A., DiClemente, F., Liu, C., Rodriguez-Rodriguez, L., Ganesan, S., Ross, J.S., Ali, S.M., Leyland-Jones, B. and Hirshfield, K.M. (2018). RET rearrangements are actionable alterations in breast cancer. *Nature Communications*. 9(1), 4821.
9. Mulligan, L.M. (2018). 65 Years of The Double Helix: Exploiting insights on the RET receptor for personalized cancer medicine. *Endocrine-Related Cancer*. 25(8), 189-200.
10. Ceolin, L., Siqueira, D.R., Ferreira, C.V., Romitti, M., Maia, S.C., Leiria, L., Crispim, D., Ashton-Prolla, P. and Maia, A.L. (2012). Additive effect of RET polymorphisms on sporadic medullary thyroid carcinoma susceptibility and tumor aggressiveness. *European Journal of Endocrinology*. 166(5), 847-854.
11. Gemignani, F., Romei, C., Ciampi, R., Corrado, A., Melaiu, O., Figlioli, G., Bonotti, A., Foddìs, R., Cristaudo, A., Pellegrini, G., Vivaldi, A., Cipollini, M., Landi, S. and Elisei, R. (2020). Polymorphisms Within the RET Proto-Oncogene and Risk of Sporadic Medullary Thyroid Carcinoma. *Thyroid*. 30(11), 1579-1588.
12. Khan, M.S., Pandith, A.A., Iqbal, M., Naykoo, N.A., Khan, S.H., Rather, T.A. and Mudassar, S. (2015). Possible Impact of RET Polymorphism and Its

- Haplotypic Association Modulates the Susceptibility to Thyroid Cancer. *Journal of Cellular Biochemistry*. 116(8), 1712-1718.
13. Sosonkina, N., Hong, S.K., Starenki, D. and Park, J.I. (2014). Kinome sequencing reveals RET G691S polymorphism in human neuroendocrine lung cancer cell lines. *Genes Genomics*. 36(6), 829-841.
  14. Sromek, M., Czetwertyńska, M., Skasko, E., Zielińska, J., Czapczak, D. and Steffen, J. (2010). The frequency of selected polymorphic variants of the RET gene in patients with medullary thyroid carcinoma and in the general population of central Poland. *Endocrine Pathology*. 21(3), 178-185.
  15. Tural, S., Yuce, M., A, K.P., Tekcan, E., Celik, B.Z., Karabacak, U. and Kara, N. (2020). Novel RET Proto-oncogene variants identified in Turkish patients with thyroid carcinoma. *Gene*. 746, 144611.
  16. Mobley, D.M.H.a.W.C. (1994). Neurotrophic factors and neurologic disease. *Western Journal of Medicine*. 161, 246-254.
  17. Fielder, G.C., Yang, T.W., Razdan, M., Li, Y., Lu, J., Perry, J.K., Lobie, P.E. and Liu, D.X. (2018). The GDNF Family: A Role in Cancer? *Neoplasia*. 20(1), 99-117.
  18. Chang, H.M., Wu, H.C., Sun, Z.G., Lian, F. and Leung, P.C.K. (2019). Neurotrophins and glial cell line-derived neurotrophic factor in the ovary: physiological and pathophysiological implications. *Human Reproduction Update*. 25(2), 224-242.
  19. Cebrian, A., Lesueur, F., Martin, S., Leyland, J., Ahmed, S., Luccarini, C., Smith, P.L., Luben, R., Whittaker, J., Pharoah, P.D., Dunning, A.M. and Ponder, B.A. (2005). Polymorphisms in the initiators of RET (rearranged during transfection) signaling pathway and susceptibility to sporadic medullary thyroid carcinoma. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 90(11), 6268-6274.
  20. Fernandez, R.M., Ruiz-Ferrer, M., Lopez-Alonso, M., Antiñolo, G. and Borrego, S. (2008). Polymorphisms in the genes encoding the 4 RET ligands, GDNF, NTN, ARTN, PSPN, and susceptibility to Hirschsprung disease. *Journal of Pediatric Surgery*. 43(11), 2042-2047.
  21. Tajbakhsh, A., Mokhtari-Zaer, A., Rezaee, M., Afzaljavan, F., Rivandi, M., Hassanian, S.M., Ferns, G.A., Pasdar, A. and Avan, A. (2017). Therapeutic Potentials of BDNF/TrkB in Breast Cancer; Current Status and Perspectives. *Journal of Cellular Biochemistry*. 118(9), 2502-2515.
  22. Dofara, S.G., Chang, S.L. and Diorio, C. (2020). Gene Polymorphisms and Circulating Levels of MMP-2 and MMP-9: A Review of Their Role in Breast Cancer Risk. *Anticancer Research*. 40(7), 3619-3631.
  23. Ayaki, M., Komatsu, K., Mukai, M., Murata, K., Kameyama, M., Ishiguro, S., Miyoshi, J., Tatsuta, M. and Nakamura, H. (2001). Reduced expression of focal adhesion kinase in liver metastases compared with matched primary

- human colorectal adenocarcinomas. *Clinical Cancer Research*. 7(10), 3106-3112.
24. Canel, M., Secades, P., Rodrigo, J.-P., Cabanillas, R., Herrero, A., Suarez, C. and Chiara, M.-D. (2006). Overexpression of Focal Adhesion Kinase in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Is Independent of fak Gene Copy Number. *Clinical Cancer Research*. 12(11), 3272-3279.
  25. Tremblay, L., Hauck, W., Aprikian, A.G., Begin, L.R., Chapdelaine, A. and Chevalier, S. (1996). Focal adhesion kinase (pp125FAK) expression, activation and association with paxillin and p50CSK in human metastatic prostate carcinoma. *International Journal of Cancer*. 68(2), 164-171.
  26. van Nimwegen, M.J. and van de Water, B. (2007). Focal adhesion kinase: a potential target in cancer therapy. *Biochemical Pharmacology*. 73(5), 597-609.
  27. Pandya, S. and Moore, R.G. (2011). Breast development and anatomy. *Clinical Obstetrics & Gynecology*. 54(1), 91-95.
  28. İnternet: Tarhan, Ö.R. Meme Anatomisi. Web <https://www.turkcerrahi.com/makaleler/meme/meme-anatomisi/>: adresinden 10.09.2021'de alınmıştır.
  29. Sainsbury, R. (2004). The Breast: Comprehensive Management of Benign and Malignant Disorders. *British Journal of Cancer*. 91(9), 1754.
  30. Hanahan, D. and Weinberg, R.A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 144(5), 646-674.
  31. Hanahan, D. and Weinberg, R.A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*. 100(1), 57-70.
  32. Kanwal, S. (2013). *Effect of O-GlcNAcylation on tamoxifen sensitivity in breast cancer derived MCF-7 cells.*, PhD, Université Renée Descartes Agricultural sciences, Paris.
  33. İnternet: World Health Organization (WHO). Breast cancer. Web <https://www.who.int/cancer/prevention/diagnosis-screening/breast-cancer/en/> adresinden 03.05.2021'de alınmıştır.
  34. Majeed, W., Aslam, B., Javed, I., Khaliq, T., Muhammad, F., Ali, A. and Raza, A. (2014). Breast cancer: major risk factors and recent developments in treatment. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 15(8), 3353-3358.
  35. Sun, Y.S., Zhao, Z., Yang, Z.N., Xu, F., Lu, H.J., Zhu, Z.Y., Shi, W., Jiang, J., Yao, P.P. and Zhu, H.P. (2017). Risk Factors and Preventions of Breast Cancer. *International Journal of Biological Sciences*. 13(11), 1387-1397.
  36. DeSantis, C.E., Fedewa, S.A., Goding Sauer, A., Kramer, J.L., Smith, R.A. and Jemal, A. (2016). Breast cancer statistics, 2015: Convergence of

- incidence rates between black and white women. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 66(1), 31-42.
37. İnternet: System, E.-E.C.I. Report on the implementation of the Council Recommendation on Cancer Screening in the European Union. Web <https://ecis.jrc.ec.europa.eu> adresinden 25.03.2021'de alınmıştır.
  38. İnternet: European Breast Guidelines within the European Commission Initiative on Breast Cancer (ECIBC). European guidelines for breast cancer screening and diagnosis. Web <https://publications.europa.eu/s/jPcX> adresinden 03.05.2021'de alınmıştır.
  39. Perry, N., Broeders, M., de Wolf, C., Tornberg, S., Holland, R. and von Karsa, L. (2008). European guidelines for quality assurance in breast cancer screening and diagnosis. Fourth edition--summary document. *Annals of Oncology*. 19(4), 614-622.
  40. Cardoso, F., Kyriakides, S., Ohno, S., Penault-Llorca, F., Poortmans, P., Rubio, I.T., Zackrisson, S., Senkus, E. and [clinicalguidelines@esmo.org](mailto:clinicalguidelines@esmo.org), E.G.C.E.a. (2019). Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-updagger. *Annals of Oncology*. 30(8), 1194-1220.
  41. Sonnenschein, C. and Soto, A.M. (2016). Carcinogenesis explained within the context of a theory of organisms. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. 122(1), 70-76.
  42. Malhotra, G.K., Zhao, X., Band, H. and Band, V. (2010). Histological, molecular and functional subtypes of breast cancers. *Cancer Biology & Therapy*. 10(10), 955-960.
  43. Giuliano, A.E., Connolly, J.L., Edge, S.B., Mittendorf, E.A., Rugo, H.S., Solin, L.J., Weaver, D.L., Winchester, D.J. and Hortobagyi, G.N. (2017). Breast Cancer-Major changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 67(4), 290-303.
  44. Lakhani, S.R., Ellis. I.O., Schnitt, S.J., Tan, P.H., van de Vijver, M.J.,. (2012). *WHO Classification of Tumours of the Breast. Fourth Edition*. WHO Classification of Tumours, pp. 143-147.
  45. Amin, M.B., Greene, F.L., Edge, S.B., Compton, C.C., Gershenwald, J.E., Brookland, R.K., Meyer, L., Gress, D.M., Byrd, D.R. and Winchester, D.P. (2017). The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 67(2), 93-99.
  46. Rezo, A., Dahlstrom, J., Shadbolt, B., Rodins, K., Zhang, Y., Davis, A.J., Act and Sensw, B. (2011). Tumor size and survival in multicentric and multifocal breast cancer. *Breast*. 20(3), 259-263.

47. Howlader, N., Altekruse, S.F., Li, C.I., Chen, V.W., Clarke, C.A., Ries, L.A. and Cronin, K.A. (2014). US incidence of breast cancer subtypes defined by joint hormone receptor and HER2 status. *Journal of the National Cancer Institute*. 106(5), dju055.
48. Watkins, E.J. (2019). Overview of breast cancer. *Journal of the American Academy of Physician Assistants*. 32(10), 13-17.
49. Dai, X., Li, T., Bai, Z., Yang, Y., Liu, X., Zhan, J. and Shi, B. (2015). Breast cancer intrinsic subtype classification, clinical use and future trends. *American Journal of Cancer Research*. 5(10), 2929-2943.
50. Goldhirsch, A., Winer, E.P., Coates, A.S., Gelber, R.D., Piccart-Gebhart, M., Thurlimann, B., Senn, H.J. and Panel, m. (2013). Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Annals of Oncology*. 24(9), 2206-2223.
51. Deshmukh, S.K., Srivastava, S.K., Poosarla, T., Dyess, D.L., Holliday, N.P., Singh, A.P. and Singh, S. (2019). Inflammation, immunosuppressive microenvironment and breast cancer: opportunities for cancer prevention and therapy. *Annals of Translational Medicine*. 7(20), 593.
52. Wen, H.Y. and Brogi, E. (2018). Lobular Carcinoma In Situ. *Surgical Pathology Clinics*. 11(1), 123-145.
53. Makki, J. (2015). Diversity of Breast Carcinoma: Histological Subtypes and Clinical Relevance. *Clinical Medicine Insights: Pathology*. 8, 23-31.
54. Malhotra, G.K., Zhao, X., Band, H. and Band, V. (2010). Histological, molecular and functional subtypes of breast cancers. *Cancer Biology & Therapy*. 10(10), 955-960.
55. Rosai, J. (27th July 2011). *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology, 10e*. Lyon, France: Elsevier, pp 2306.
56. Vajpeyi, R. (June 2005). WHO Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs. *Journal of Clinical Pathology*. 58(6), 671-672.
57. Cristofanilli, M., Gonzalez-Angulo, A., Sneige, N., Kau, S.W., Broglio, K., Theriault, R.L., Valero, V., Buzdar, A.U., Kuerer, H., Buchholz, T.A. and Hortobagyi, G.N. (2005). Invasive lobular carcinoma classic type: response to primary chemotherapy and survival outcomes. *Journal of Clinical Oncology*. 23(1), 41-48.
58. Moinfar, F. *Essentials of Diagnostic Breast Pathology*. Berlin, Heidelberg: Springer, pp. XV, 496.
59. Armes, J.E. and Venter, D.J. (2002). The pathology of inherited breast cancer. *Pathology*. 34(4), 309-314.

60. Nassar, H., Wallis, T., Andea, A., Dey, J., Adsay, V. and Visscher, D. (2001). Clinicopathologic analysis of invasive micropapillary differentiation in breast carcinoma. *Modern Pathology*. 14(9), 836-841.
61. Yerushalmi, R., Hayes, M.M. and Gelmon, K.A. (2009). Breast carcinoma--rare types: review of the literature. *Annals of Oncology*. 20(11), 1763-1770.
62. İnternet: American Cancer Society. Breast Cancer Facts & Figures 2017-2018. Web <https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/breast-cancer-facts-and-figures/breast-cancer-facts-and-figures-2017-2018.pdf>: adresinden 03.05.2021'de alınmıştır.
63. Hou, N., Hong, S., Wang, W., Olopade, O.I., Dignam, J.J. and Huo, D. (2013). Hormone replacement therapy and breast cancer: heterogeneous risks by race, weight, and breast density. *Journal of the National Cancer Institute*. 105(18), 1365-1372.
64. Siegel, R.L., Miller, K.D. and Jemal, A. (2017). Cancer Statistics, 2017. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 67(1), 7-30.
65. Brewer, H.R., Jones, M.E., Schoemaker, M.J., Ashworth, A. and Swerdlow, A.J. (2017). Family history and risk of breast cancer: an analysis accounting for family structure. *Breast Cancer Research and Treatment*. 165(1), 193-200.
66. Dall, G.V. and Britt, K.L. (2017). Estrogen Effects on the Mammary Gland in Early and Late Life and Breast Cancer Risk. *Frontiers in Oncology*. 7, 110.
67. Horn, J. and Vatten, L.J. (2017). Reproductive and hormonal risk factors of breast cancer: a historical perspective. *International Journal of Women's Health*. 9, 265-272.
68. Washbrook, E. (2006). Risk factors and epidemiology of breast cancer. *Women's Health Medicine*. 3(1), 8-14.
69. Horn, J., Asvold, B.O., Opdahl, S., Tretli, S. and Vatten, L.J. (2013). Reproductive factors and the risk of breast cancer in old age: a Norwegian cohort study. *Breast Cancer Research and Treatment*. 139(1), 237-243.
70. Rosato, V., Bosetti, C., Negri, E., Talamini, R., Dal Maso, L., Malvezzi, M., Falcini, F., Montella, M. and La Vecchia, C. (2014). Reproductive and hormonal factors, family history, and breast cancer according to the hormonal receptor status. *European Journal of Cancer Prevention*. 23(5), 412-417.
71. Endogenous, H., Breast Cancer Collaborative, G., Key, T.J., Appleby, P.N., Reeves, G.K., Travis, R.C., Alberg, A.J., Barricarte, A., Berrino, F., Krogh, V., Sieri, S., Brinton, L.A., Dorgan, J.F., Dossus, L., Dowsett, M., Eliassen, A.H., Fortner, R.T., Hankinson, S.E., Helzlsouer, K.J., Hoff man-Bolton, J., Comstock, G.W., Kaaks, R., Kahle, L.L., Muti, P., Overvad, K., Peeters, P.H., Riboli, E., Rinaldi, S., Rollison, D.E., Stanczyk, F.Z., Trichopoulos, D., Tworoger, S.S. and Vineis, P. (2013). Sex hormones and risk of breast

- cancer in premenopausal women: a collaborative reanalysis of individual participant data from seven prospective studies. *Lancet Oncology*. 14(10), 1009-1019.
72. Bethea, T.N., Rosenberg, L., Hong, C.C., Troester, M.A., Lunetta, K.L., Bandera, E.V., Schedin, P., Kolonel, L.N., Olshan, A.F., Ambrosone, C.B. and Palmer, J.R. (2015). A case-control analysis of oral contraceptive use and breast cancer subtypes in the African American Breast Cancer Epidemiology and Risk Consortium. *Breast Cancer Research*. 17, 22.
  73. Soroush, A., Farshchian, N., Komasi, S., Izadi, N., Amirifard, N. and Shahmohammadi, A. (2016). The Role of Oral Contraceptive Pills on Increased Risk of Breast Cancer in Iranian Populations: A Meta-analysis. *Journal of Cancer Prevention*. 21(4), 294-301.
  74. Beral, V. (2003). Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *The Lancet*. 362(9382), 419-427.
  75. Liu, J.Y., Chen, T.J. and Hwang, S.J. (2016). The Risk of Breast Cancer in Women Using Menopausal Hormone Replacement Therapy in Taiwan. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 13(5), 482.
  76. Narod, S.A. (2011). Hormone replacement therapy and the risk of breast cancer. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 8(11), 669-676.
  77. Fahlen, M., Fornander, T., Johansson, H., Johansson, U., Rutqvist, L.E., Wilking, N. and von Schoultz, E. (2013). Hormone replacement therapy after breast cancer: 10 year follow up of the Stockholm randomised trial. *European Journal of Cancer*. 49(1), 52-59.
  78. Peter M. Ravdin, K.A.C., Nadia Howlader, Christine D. Berg, Rowan T. Chlebowski, Eric J. Feuer, Brenda K. Edwards, Donald A. Berry. (2007) *The Decrease in Breast-Cancer Incidence*, in *The New England Journal of Medicine*. 356, 1670-1674.
  79. Hamajima, N., Hirose, K., Tajima, K., Rohan, T., Calle, E.E., Heath, C.W., Jr., Coates, R.J., Liff, J.M., Talamini, R., Chantarakul, N., Koetsawang, S., Rachawat, D., Morabia, A., Schuman, L., Stewart, W., Szklo, M., Bain, C., Schofield, F., Siskind, V., Band, P., Coldman, A.J., Gallagher, R.P., Hislop, T.G., Yang, P., Kolonel, L.M., Nomura, A.M., Hu, J., Johnson, K.C., Mao, Y., De Sanjose, S., Lee, N., Marchbanks, P., Ory, H.W., Peterson, H.B., Wilson, H.G., Wingo, P.A., Ebeling, K., Kunde, D., Nishan, P., Hopper, J.L., Colditz, G., Gajalanski, V., Martin, N., Pardthaisong, T., Silpisornkosol, S., Theetranont, C., Boosiri, B., Chutivongse, S., Jimakorn, P., Virutamasen, P., Wongsrichanalai, C., Ewertz, M., Adami, H.O., Bergkvist, L., Magnusson, C., Persson, I., Chang-Claude, J., Paul, C., Skegg, D.C., Spears, G.F., Boyle, P., Evstifeeva, T., Daling, J.R., Hutchinson, W.B., Malone, K., Noonan, E.A., Stanford, J.L., Thomas, D.B., Weiss, N.S., White, E., Andrieu, N., Bremond, A., Clavel, F., Gairard, B., Lansac, J., Piana, L., Renaud, R., Izquierdo, A., Viladiu, P., Cuevas, H.R., Ontiveros, P., Palet, A., Salazar, S.B., Aristizabel,

- N., Cuadros, A., Tryggvadottir, L., Tulinius, H., Bachelot, A., Le, M.G., Peto, J., Franceschi, S., Lubin, F., Modan, B., Ron, E., Wax, Y., Friedman, G.D., Hiatt, R.A., Levi, F., Bishop, T., Kosmelj, K., Primic-Zakelj, M., Ravnihar, B., Stare, J., Beeson, W.L., Fraser, G., Bullbrook, R.D., Cuzick, J., Duffy, S.W., Fentiman, I.S., Hayward, J.L., Wang, D.Y., McMichael, A.J., McPherson, K., Hanson, R.L., Leske, M.C., Mahoney, M.C., Nasca, P.C., Varma, A.O., Weinstein, A.L., Moller, T.R., Olsson, H., Ranstam, J., Goldbohm, R.A., van den Brandt, P.A., Apelo, R.A., Baens, J., de la Cruz, J.R., Javier, B., Lacaya, L.B., Ngelangel, C.A., La Vecchia, C., Negri, E., Marubini, E., Ferraroni, M., Gerber, M., Richardson, S., Segala, C., Gatei, D., Kenya, P., Kungu, A., Mati, J.G., Brinton, L.A., Hoover, R., Schairer, C., Spirtas, R., Lee, H.P., Rookus, M.A., van Leeuwen, F.E., Schoenberg, J.A., McCredie, M., Gammon, M.D., Clarke, E.A., Jones, L., Neil, A., Vessey, M., Yeates, D., Appleby, P., Banks, E., Beral, V., Bull, D., Crossley, B., Goodill, A., Green, J., Hermon, C., Key, T., Langston, N., Lewis, C., Reeves, G., Collins, R., Doll, R., Peto, R., Mabuchi, K., Preston, D., Hannaford, P., Kay, C., Rosero-Bixby, L., Gao, Y.T., Jin, F., Yuan, J.M., Wei, H.Y., Yun, T., Zhiheng, C., Berry, G., Cooper Booth, J., Jelichovsky, T., MacLennan, R., Shearman, R., Wang, Q.S., Baines, C.J., Miller, A.B., Wall, C., Lund, E., Stalsberg, H., Shu, X.O., Zheng, W., Katsouyanni, K., Trichopoulou, A., Trichopoulos, D., Dabancens, A., Martinez, L., Molina, R., Salas, O., Alexander, F.E., Anderson, K., Folsom, A.R., Hulka, B.S., Bernstein, L., Enger, S., Haile, R.W., Paganini-Hill, A., Pike, M.C., Ross, R.K., Ursin, G., Yu, M.C., Longnecker, M.P., Newcomb, P., Bergkvist, L., Kalache, A., Farley, T.M., Holck, S., Meirik, O. and Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast, C. (2002). Alcohol, tobacco and breast cancer--collaborative reanalysis of individual data from 53 epidemiological studies, including 58,515 women with breast cancer and 95,067 women without the disease. *British Journal of Cancer*. 87(11), 1234-1245.
80. Jung, S., Wang, M., Anderson, K., Baglietto, L., Bergkvist, L., Bernstein, L., van den Brandt, P.A., Brinton, L., Buring, J.E., Eliassen, A.H., Falk, R., Gapstur, S.M., Giles, G.G., Goodman, G., Hoffman-Bolton, J., Horn-Ross, P.L., Inoue, M., Kolonel, L.N., Krogh, V., Lof, M., Maas, P., Miller, A.B., Neuhauser, M.L., Park, Y., Robien, K., Rohan, T.E., Scarmo, S., Schouten, L.J., Sieri, S., Stevens, V.L., Tsugane, S., Visvanathan, K., Wilkens, L.R., Wolk, A., Weiderpass, E., Willett, W.C., Zeleniuch-Jacquotte, A., Zhang, S.M., Zhang, X., Ziegler, R.G. and Smith-Warner, S.A. (2016). Alcohol consumption and breast cancer risk by estrogen receptor status: in a pooled analysis of 20 studies. *International Journal of Epidemiology*. 45(3), 916-928.
  81. Makarem, N., Chandran, U., Bandera, E.V. and Parekh, N. (2013). Dietary fat in breast cancer survival. *Annual Review of Nutrition*. 33, 319-348.
  82. Knight, J.A., Fan, J., Malone, K.E., John, E.M., Lynch, C.F., Langballe, R., Bernstein, L., Shore, R.E., Brooks, J.D., Reiner, A.S., Woods, M., Liang, X., Bernstein, J.L. and Group, W.S.C. (2017). Alcohol consumption and cigarette smoking in combination: A predictor of contralateral breast cancer risk in the WECARE study. *International Journal of Cancer*. 141(5), 916-924.

83. Catsburg, C., Miller, A.B. and Rohan, T.E. (2015). Active cigarette smoking and risk of breast cancer. *International Journal of Cancer*. 136(9), 2204-2209.
84. Gaudet, M.M., Carter, B.D., Brinton, L.A., Falk, R.T., Gram, I.T., Luo, J., Milne, R.L., Nyante, S.J., Weiderpass, E., Beane Freeman, L.E., Sandler, D.P., Robien, K., Anderson, K.E., Giles, G.G., Chen, W.Y., Feskanich, D., Braaten, T., Isaacs, C., Butler, L.M., Koh, W.P., Wolk, A., Adami, H.O., White, E., Margolis, K.L., Thun, M.J. and Gapstur, S.M. (2017). Pooled analysis of active cigarette smoking and invasive breast cancer risk in 14 cohort studies. *International Journal of Epidemiology*. 46(3), 881-893.
85. Kispert, S. and McHowat, J. (2017). Recent insights into cigarette smoking as a lifestyle risk factor for breast cancer. *Breast Cancer (Dove Med Press)*. 9, 127-132.
86. McKenzie, F., Ellison-Loschmann, L., Jeffreys, M., Firestone, R., Pearce, N. and Romieu, I. (2013). Cigarette smoking and risk of breast cancer in a New Zealand multi-ethnic case-control study. *PLoS ONE*. 8(4), e63132.
87. Wendt, C. and Margolin, S. (2019). Identifying breast cancer susceptibility genes - a review of the genetic background in familial breast cancer. *Acta Oncologica*. 58(2), 135-146.
88. Shiovitz, S. and Korde, L.A. (2015). Genetics of breast cancer: a topic in evolution. *Annals of Oncology*. 26(7), 1291-1299.
89. Churpek, J.E., Walsh, T., Zheng, Y., Moton, Z., Thornton, A.M., Lee, M.K., Casadei, S., Watts, A., Neistadt, B., Churpek, M.M., Huo, D., Zvosec, C., Liu, F., Niu, Q., Marquez, R., Zhang, J., Fackenthal, J., King, M.C. and Olopade, O.I. (2015). Inherited predisposition to breast cancer among African American women. *Breast Cancer Research and Treatment*. 149(1), 31-39.
90. Mavaddat, N., Barrowdale, D., Andrulis, I.L., Domchek, S.M., Eccles, D., Nevanlinna, H., Ramus, S.J., Spurdle, A., Robson, M., Sherman, M., Mulligan, A.M., Couch, F.J., Engel, C., McGuffog, L., Healey, S., Sinilnikova, O.M., Southey, M.C., Terry, M.B., Goldgar, D., O'Malley, F., John, E.M., Janavicius, R., Tihomirova, L., Hansen, T.V., Nielsen, F.C., Osorio, A., Stavropoulou, A., Benítez, J., Manoukian, S., Peissel, B., Barile, M., Volorio, S., Pasini, B., Dolcetti, R., Putignano, A.L., Ottini, L., Radice, P., Hamann, U., Rashid, M.U., Hogervorst, F.B., Kriege, M., van der Luijt, R.B., Peock, S., Frost, D., Evans, D.G., Brewer, C., Walker, L., Rogers, M.T., Side, L.E., Houghton, C., Weaver, J., Godwin, A.K., Schmutzler, R.K., Wappenschmidt, B., Meindl, A., Kast, K., Arnold, N., Niederacher, D., Sutter, C., Deissler, H., Gadzicki, D., Preisler-Adams, S., Varon-Mateeva, R., Schönbuchner, I., Gevensleben, H., Stoppa-Lyonnet, D., Belotti, M., Barjhoux, L., Isaacs, C., Peshkin, B.N., Caldes, T., de la Hoya, M., Cañadas, C., Heikkinen, T., Heikkilä, P., Aittomäki, K., Blanco, I., Lazaro, C., Brunet, J., Agnarsson, B.A., Arason, A., Barkardottir, R.B., Dumont, M., Simard, J., Montagna, M., Agata, S., D'Andrea, E., Yan, M., Fox, S., Rebbeck, T.R., Rubinstein, W., Tung, N., Garber, J.E., Wang, X., Fredericksen, Z., Pankratz, V.S., Lindor, N.M., Szabo, C., Offit, K., Sakr, R., Gaudet, M.M., Singer, C.F., Tea, M.K.,

- Rappaport, C., Mai, P.L., Greene, M.H., Sokolenko, A., Imyanitov, E., Toland, A.E., Senter, L., Sweet, K., Thomassen, M., Gerdes, A.M., Kruse, T., Caligo, M., Aretini, P., Rantala, J., von Wachenfeld, A., Henriksson, K., Steele, L., Neuhausen, S.L., Nussbaum, R., Beattie, M., Odunsi, K., Sucheston, L., Gayther, S.A., Nathanson, K., Gross, J., Walsh, C., Karlan, B., Chenevix-Trench, G., Easton, D.F. and Antoniou, A.C. (2012). Pathology of breast and ovarian cancers among BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: results from the Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1/2 (CIMBA). *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. 21(1), 134-147.
91. Roy, R., Chun, J. and Powell, S.N. (2012). BRCA1 and BRCA2: different roles in a common pathway of genome protection. *Nature Reviews Cancer*. 12(1), 68-78.
  92. Mai, P.L., Best, A.F., Peters, J.A., DeCastro, R.M., Khincha, P.P., Loud, J.T., Bremer, R.C., Rosenberg, P.S. and Savage, S.A. (2016). Risks of first and subsequent cancers among TP53 mutation carriers in the National Cancer Institute Li-Fraumeni syndrome cohort. *Cancer*. 122(23), 3673-3681.
  93. Petitjean, A., Mathe, E., Kato, S., Ishioka, C., Tavtigian, S.V., Hainaut, P. and Olivier, M. (2007). Impact of mutant p53 functional properties on TP53 mutation patterns and tumor phenotype: lessons from recent developments in the IARC TP53 database. *Human Mutation*. 28(6), 622-629.
  94. Tan, M.H., Mester, J.L., Ngeow, J., Rybicki, L.A., Orloff, M.S. and Eng, C. (2012). Lifetime cancer risks in individuals with germline PTEN mutations. *Clinical Cancer Research*. 18(2), 400-407.
  95. Tomlinson, I.P. and Houlston, R.S. (1997). Peutz-Jeghers syndrome. *Journal of Medical Genetics*. 34(12), 1007-1011.
  96. Hearle, N., Schumacher, V., Menko, F.H., Olschwang, S., Boardman, L.A., Gille, J.J., Keller, J.J., Westerman, A.M., Scott, R.J., Lim, W., Trimbath, J.D., Giardiello, F.M., Gruber, S.B., Offerhaus, G.J., de Rooij, F.W., Wilson, J.H., Hansmann, A., Möslin, G., Royer-Pokora, B., Vogel, T., Phillips, R.K., Spigelman, A.D. and Houlston, R.S. (2006). Frequency and spectrum of cancers in the Peutz-Jeghers syndrome. *Clinical Cancer Research*. 12(10), 3209-3215.
  97. Takeichi, M. (1991). Cadherin cell adhesion receptors as a morphogenetic regulator. *Science*. 251(5000), 1451-1455.
  98. Pharoah, P.D., Guilford, P. and Caldas, C. (2001). Incidence of gastric cancer and breast cancer in CDH1 (E-cadherin) mutation carriers from hereditary diffuse gastric cancer families. *Gastroenterology*. 121(6), 1348-1353.
  99. Xia, B., Sheng, Q., Nakanishi, K., Ohashi, A., Wu, J., Christ, N., Liu, X., Jasin, M., Couch, F.J. and Livingston, D.M. (2006). Control of BRCA2 cellular and clinical functions by a nuclear partner, PALB2. *Molecular Cell*. 22(6), 719-729.

100. Easton, D.F., Pharoah, P.D., Antoniou, A.C., Tischkowitz, M., Tavtigian, S.V., Nathanson, K.L., Devilee, P., Meindl, A., Couch, F.J., Southey, M., Goldgar, D.E., Evans, D.G., Chenevix-Trench, G., Rahman, N., Robson, M., Domchek, S.M. and Foulkes, W.D. (2015). Gene-panel sequencing and the prediction of breast-cancer risk. *The New England Journal of Medicine*. 372(23), 2243-2257.
101. Nevanlinna, H. and Bartek, J. (2006). The CHEK2 gene and inherited breast cancer susceptibility. *Oncogene*. 25(43), 5912-5919.
102. Bogdanova, N., Enssen-Dubrowinskaja, N., Feshchenko, S., Lazjuk, G.I., Rogov, Y.I., Dammann, O., Bremer, M., Karstens, J.H., Sohn, C. and Dörk, T. (2005). Association of two mutations in the CHEK2 gene with breast cancer. *International Journal of Cancer*. 116(2), 263-266.
103. Schmidt, M.K., Hogervorst, F., van Hien, R., Cornelissen, S., Broeks, A., Adank, M.A., Meijers, H., Waisfisz, Q., Hollestelle, A., Schutte, M., van den Ouweland, A., Hoening, M., Andrulis, I.L., Anton-Culver, H., Antonenkova, N.N., Antoniou, A.C., Arndt, V., Bermisheva, M., Bogdanova, N.V., Bolla, M.K., Brauch, H., Brenner, H., Brüning, T., Burwinkel, B., Chang-Claude, J., Chenevix-Trench, G., Couch, F.J., Cox, A., Cross, S.S., Czene, K., Dunning, A.M., Fasching, P.A., Figueroa, J., Fletcher, O., Flyger, H., Galle, E., García-Closas, M., Giles, G.G., Haeberle, L., Hall, P., Hillemanns, P., Hopper, J.L., Jakubowska, A., John, E.M., Jones, M., Khusnutdinova, E., Knight, J.A., Kosma, V.M., Kristensen, V., Lee, A., Lindblom, A., Lubinski, J., Mannermaa, A., Margolin, S., Meindl, A., Milne, R.L., Muranen, T.A., Newcomb, P.A., Offit, K., Park-Simon, T.W., Peto, J., Pharoah, P.D., Robson, M., Rudolph, A., Sawyer, E.J., Schmutzler, R.K., Seynaeve, C., Soens, J., Southey, M.C., Spurdle, A.B., Surowy, H., Swerdlow, A., Tollenaar, R.A., Tomlinson, I., Trentham-Dietz, A., Vachon, C., Wang, Q., Whittemore, A.S., Ziogas, A., van der Kolk, L., Nevanlinna, H., Dörk, T., Bojesen, S. and Easton, D.F. (2016). Age- and Tumor Subtype-Specific Breast Cancer Risk Estimates for CHEK2\*1100delC Carriers. *Journal of Clinical Oncology*. 34(23), 2750-2760.
104. Kriege, M., Hollestelle, A., Jager, A., Huijts, P.E., Berns, E.M., Sieuwerts, A.M., Meijer-van Gelder, M.E., Collée, J.M., Devilee, P., Hoening, M.J., Martens, J.W. and Seynaeve, C. (2014). Survival and contralateral breast cancer in CHEK2 1100delC breast cancer patients: impact of adjuvant chemotherapy. *British Journal of Cancer*. 111(5), 1004-1013.
105. Bogdanova, N., Feshchenko, S., Schürmann, P., Waltes, R., Wieland, B., Hillemanns, P., Rogov, Y.I., Dammann, O., Bremer, M., Karstens, J.H., Sohn, C., Varon, R. and Dörk, T. (2008). Nijmegen Breakage Syndrome mutations and risk of breast cancer. *International Journal of Cancer*. 122(4), 802-806.
106. Zhang, G., Zeng, Y., Liu, Z. and Wei, W. (2013). Significant association between Nijmegen breakage syndrome 1 657del5 polymorphism and breast cancer risk. *Tumor Biology*. 34(5), 2753-2757.
107. Ahmed, M. and Rahman, N. (2006). ATM and breast cancer susceptibility. *Oncogene*. 25(43), 5906-5911.

108. Goldgar, D.E., Healey, S., Dowty, J.G., Da Silva, L., Chen, X., Spurdle, A.B., Terry, M.B., Daly, M.J., Buys, S.M., Southey, M.C., Andrulis, I., John, E.M., Khanna, K.K., Hopper, J.L., Oefner, P.J., Lakhani, S. and Chenevix-Trench, G. (2011). Rare variants in the ATM gene and risk of breast cancer. *Breast Cancer Research*. 13(4), R73.
109. Johannessen, C.M., Reczek, E.E., James, M.F., Brems, H., Legius, E. and Cichowski, K. (2005). The NF1 tumor suppressor critically regulates TSC2 and mTOR. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 102(24), 8573-8578.
110. Uusitalo, E., Leppävirta, J., Koffert, A., Suominen, S., Vahtera, J., Vahlberg, T., Pöyhönen, M., Peltonen, J. and Peltonen, S. (2015). Incidence and mortality of neurofibromatosis: a total population study in Finland. *Journal of Investigative Dermatology*. 135(3), 904-906.
111. Pan, M.R., Wu, C.C., Kan, J.Y., Li, Q.L., Chang, S.J., Wu, C.C., Li, C.L., Ou-Yang, F., Hou, M.F., Yip, H.K. and Luo, C.W. (2019). Impact of FAK Expression on the Cytotoxic Effects of CIK Therapy in Triple-Negative Breast Cancer. *Cancers (Basel)*. 12(1), 94.
112. Luo, J., Solimini, N.L. and Elledge, S.J. (2009). Principles of cancer therapy: oncogene and non-oncogene addiction. *Cell*. 136(5), 823-837.
113. Saraon, P., Pathmanathan, S., Snider, J., Lyakisheva, A., Wong, V. and Stagliar, I. (2021). Receptor tyrosine kinases and cancer: oncogenic mechanisms and therapeutic approaches. *Oncogene*. 40(24), 4079-4093.
114. Du, Z. and Lovly, C.M. (2018). Mechanisms of receptor tyrosine kinase activation in cancer. *Molecular Cancer*. 17(1), 58.
115. Drilon, A., Hu, Z.I., Lai, G.G.Y. and Tan, D.S.W. (2018). Targeting RET-driven cancers: lessons from evolving preclinical and clinical landscapes. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 15(3), 151-167.
116. Takahashi, M., Ritz, J. and Cooper, G.M. (1985). Activation of a novel human transforming gene, RET, by DNA rearrangement. *Cell*. 42(2), 581-588.
117. Arighi, E., Borrello, M.G. and Sariola, H. (2005). RET tyrosine kinase signaling in development and cancer. *Cytokine Growth Factor Review*. 16(4-5), 441-467.
118. Mulligan, L.M. (2018). 65 YEARS OF THE DOUBLE HELIX: Exploiting insights on the RET receptor for personalized cancer medicine. *Endocrine-Related Cancer*. 25(8), 189-200.
119. Ibáñez, C.F. (2013). Structure and physiology of the RET receptor tyrosine kinase. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 5(2), a009134.
120. Goodman, K.M., Kjær, S., Beuron, F., Knowles, P.P., Nawrotek, A., Burns, E.M., Purkiss, A.G., George, R., Santoro, M., Morris, E.P. and McDonald, N.Q. (2014). RET recognition of GDNF-GFR $\alpha$ 1 ligand by a composite binding

- site promotes membrane-proximal self-association. *Cell Reports*. 8(6), 1894-1904.
121. Ichihara, M., Murakumo, Y. and Takahashi, M. (2004). RET and neuroendocrine tumors. *Cancer Letter*. 204(2), 197-211.
  122. Plaza-Menacho, I., Mologni, L. and McDonald, N.Q. (2014). Mechanisms of RET signaling in cancer: current and future implications for targeted therapy. *Cell Signal*. 26(8), 1743-1752.
  123. Mulligan, L.M. (2014). RET revisited: expanding the oncogenic portfolio. *Nature Reviews Cancer*. 14(3), 173-186.
  124. Hynes, N.E. and Lane, H.A. (2005). ERBB receptors and cancer: the complexity of targeted inhibitors. *Nature Reviews Cancer*. 5(5), 341-354.
  125. Hynes, N.E. and Watson, C.J. (2010). Mammary gland growth factors: roles in normal development and in cancer. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2(8), a003186.
  126. Musgrove, E.A. and Sutherland, R.L. (2009). Biological determinants of endocrine resistance in breast cancer. *Nature Reviews Cancer*. 9(9), 631-643.
  127. Grieco, M., Santoro, M., Berlingieri, M.T., Melillo, R.M., Donghi, R., Bongarzone, I., Pierotti, M.A., Della Porta, G., Fusco, A. and Vecchio, G. (1990). PTC is a novel rearranged form of the ret proto-oncogene and is frequently detected in vivo in human thyroid papillary carcinomas. *Cell*. 60(4), 557-563.
  128. Lipson, D., Capelletti, M., Yelensky, R., Otto, G., Parker, A., Jarosz, M., Curran, J.A., Balasubramanian, S., Bloom, T., Brennan, K.W., Donahue, A., Downing, S.R., Frampton, G.M., Garcia, L., Juhn, F., Mitchell, K.C., White, E., White, J., Zwirko, Z., Peretz, T., Nechushtan, H., Soussan-Gutman, L., Kim, J., Sasaki, H., Kim, H.R., Park, S.I., Ercan, D., Sheehan, C.E., Ross, J.S., Cronin, M.T., Jänne, P.A. and Stephens, P.J. (2012). Identification of new ALK and RET gene fusions from colorectal and lung cancer biopsies. *Nature Medicine*. 18(3), 382-384.
  129. Takeuchi, K., Soda, M., Togashi, Y., Suzuki, R., Sakata, S., Hatano, S., Asaka, R., Hamanaka, W., Ninomiya, H., Uehara, H., Lim Choi, Y., Satoh, Y., Okumura, S., Nakagawa, K., Mano, H. and Ishikawa, Y. (2012). RET, ROS1 and ALK fusions in lung cancer. *Nature Medicine*. 18(3), 378-381.
  130. Ban, K., Feng, S., Shao, L. and Ittmann, M. (2017). RET Signaling in Prostate Cancer. *Clinical Cancer Research*. 23(16), 4885-4896.
  131. Zeng, Q., Cheng, Y., Zhu, Q., Yu, Z., Wu, X., Huang, K., Zhou, M., Han, S. and Zhang, Q. (2008). The relationship between overexpression of glial cell-derived neurotrophic factor and its RET receptor with progression and prognosis of human pancreatic cancer. *Journal of International Medical Research*. 36(4), 656-664.

132. Mulligan, L.M. (2018). GDNF and the RET Receptor in Cancer: New Insights and Therapeutic Potential. *Frontiers in Physiology*. 9, 1873.
133. Esseghir, S., Todd, S.K., Hunt, T., Poulsom, R., Plaza-Menacho, I., Reis-Filho, J.S. and Isacke, C.M. (2007). A role for glial cell derived neurotrophic factor induced expression by inflammatory cytokines and RET/GFR alpha 1 receptor up-regulation in breast cancer. *Cancer Research*. 67(24), 11732-11741.
134. Gattelli, A., Nalvarte, I., Boulay, A., Roloff, T.C., Schreiber, M., Carragher, N., Macleod, K.K., Schleder, M., Lienhard, S., Kenner, L., Torres-Arzayus, M.I. and Hynes, N.E. (2013). Ret inhibition decreases growth and metastatic potential of estrogen receptor positive breast cancer cells. *EMBO Molecular Medicine*. 5(9), 1335-1350.
135. Plaza-Menacho, I., Morandi, A., Robertson, D., Pancholi, S., Drury, S., Dowsett, M., Martin, L.A. and Isacke, C.M. (2010). Targeting the receptor tyrosine kinase RET sensitizes breast cancer cells to tamoxifen treatment and reveals a role for RET in endocrine resistance. *Oncogene*. 29(33), 4648-4657.
136. Varešlija, D., Priedigkeit, N., Fagan, A., Purcell, S., Cosgrove, N., O'Halloran, P.J., Ward, E., Cocchiglia, S., Hartmaier, R., Castro, C.A., Zhu, L., Tseng, G.C., Lucas, P.C., Puhalla, S.L., Brufsky, A.M., Hamilton, R.L., Mathew, A., Leone, J.P., Basudan, A., Hudson, L., Dwyer, R., Das, S., O'Connor, D.P., Buckley, P.G., Farrell, M., Hill, A.D.K., Oesterreich, S., Lee, A.V. and Young, L.S. (2019). Transcriptome Characterization of Matched Primary Breast and Brain Metastatic Tumors to Detect Novel Actionable Targets. *Journal of the National Cancer Institute*. 111(4), 388-398.
137. Boulay, A., Breuleux, M., Stephan, C., Fux, C., Briskin, C., Fiche, M., Wartmann, M., Stumm, M., Lane, H.A. and Hynes, N.E. (2008). The Ret receptor tyrosine kinase pathway functionally interacts with the ERalpha pathway in breast cancer. *Cancer Research*. 68(10), 3743-3751.
138. Hatem, R., Labiod, D., Château-Joubert, S., de Plater, L., El Botty, R., Vacher, S., Bonin, F., Servely, J.L., Dieras, V., Bièche, I. and Marangoni, E. (2016). Vandetanib as a potential new treatment for estrogen receptor-negative breast cancers. *International Journal of Cancer*. 138(10), 2510-2521.
139. Lehmann, B.D., Bauer, J.A., Chen, X., Sanders, M.E., Chakravarthy, A.B., Shyr, Y. and Pietenpol, J.A. (2011). Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *Journal of Clinical Investigation*. 121(7), 2750-2767.
140. Spanheimer, P.M., Lorenzen, A.W., De Andrade, J.P., Kulak, M.V., Carr, J.C., Woodfield, G.W., Sugg, S.L. and Weigel, R.J. (2015). Receptor Tyrosine Kinase Expression Predicts Response to Sunitinib in Breast Cancer. *Annals of Surgical Oncology*. 22(13), 4287-4294.

141. Morandi, A., Plaza-Menacho, I. and Isacke, C.M. (2011). RET in breast cancer: functional and therapeutic implications. *Trends in Molecular Medicine*. 17(3), 149-157.
142. Wang, C., Mayer, J.A., Mazumdar, A. and Brown, P.H. (2012). The rearranged during transfection/papillary thyroid carcinoma tyrosine kinase is an estrogen-dependent gene required for the growth of estrogen receptor positive breast cancer cells. *Breast Cancer Research and Treatment*. 133(2), 487-500.
143. Morandi, A., Martin, L.A., Gao, Q., Pancholi, S., Mackay, A., Robertson, D., Zvelebil, M., Dowsett, M., Plaza-Menacho, I. and Isacke, C.M. (2013). GDNF-RET signaling in ER-positive breast cancers is a key determinant of response and resistance to aromatase inhibitors. *Cancer Research*. 73(12), 3783-3795.
144. Nguyen, M., Miyakawa, S., Kato, J., Mori, T., Arai, T., Armanini, M., Gelmon, K., Yerushalmi, R., Leung, S., Gao, D., Landes, G., Haak-Frendscho, M., Elias, K. and Simmons, A.D. (2015). Preclinical Efficacy and Safety Assessment of an Antibody-Drug Conjugate Targeting the c-RET Proto-Oncogene for Breast Carcinoma. *Clinical Cancer Research*. 21(24), 5552-5562.
145. Mooney, S. (2005). Bioinformatics approaches and resources for single nucleotide polymorphism functional analysis. *Briefings in Bioinformatics*. 6(1), 44-56.
146. Koopaee, H.K. and Koshkoiyeh, A.E. (2014). SNPs genotyping technologies and their applications in farm animals breeding programs: review. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 57, 87-95.
147. Amooee, A., Lookzadeh, M.H., Mirjalili, S.R., Miresmaeili, S.M., Aghili, K., Zare-Shehneh, M. and Neamatzadeh, H. (2019). Association of RS2435357 and RS1800858 polymorphisms in RET proto-oncogene with hirschsprung disease: Systematic review and meta-analysis. *Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva*. 32(3), e1448.
148. Bahrami, R., Shajari, A., Aflatoonian, M., Noorishadkam, M., Akbarian-Bafghi, M.J., Morovati-Sharifabad, M., Heiranizadeh, N. and Neamatzadeh, H. (2020). Association of REarranged during Transfection (RET) c.73+9277T>C and c.135G>a Polymorphisms with Susceptibility to Hirschsprung Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Fetal and Pediatric Pathology*. 39(6), 476-490.
149. Barr, J., Amato, C.M., Robinson, S.E., Kounalakis, N. and Robinson, W.A. (2012). The RET G691S polymorphism is a germline variant in desmoplastic malignant melanoma. *Melanoma Research*. 22(1), 92-95.
150. Donahue, T.R. and Hines, O.J. (2009). CXCR2 and RET single nucleotide polymorphisms in pancreatic cancer. *World Journal of Surgery*. 33(4), 710-715.

151. Gursoy, A., Erdogan, M.F. and Erdogan, G. (2006). Significance of the RET proto-oncogene polymorphisms in Turkish sporadic medullary thyroid carcinoma patients. *Journal of Endocrinological Investigation*. 29(10), 858-862.
152. Janjua, M.U., Long, X.D., Mo, Z.H., Dong, C.S. and Jin, P. (2018). Association of medullary sponge kidney and hyperparathyroidism with RET G691S/S904S polymorphism: a case report. *Journal of Medical Case Reports*. 12(1), 197.
153. Lebeault, M., Pinson, S., Guillaud-Bataille, M., Gimenez-Roqueplo, A.P., Carrie, A., Barbu, V., Pigny, P., Bezieau, S., Rey, J.M., Delvincourt, C., Giraud, S., Veyrat-Durebex, C., Saulnier, P., Bouzamondo, N., Chabbert, M., Blin, J., Mohamed, A., Romanet, P., Borson-Chazot, F., Rohmer, V., Barlier, A. and Mirebeau-Prunier, D. (2017). Nationwide French Study of RET Variants Detected from 2003 to 2013 Suggests a Possible Influence of Polymorphisms as Modifiers. *Thyroid*. 27(12), 1511-1522.
154. Narita, N., Tanemura, A., Murali, R., Scolyer, R.A., Huang, S., Arigami, T., Yanagita, S., Chong, K.K., Thompson, J.F., Morton, D.L. and Hoon, D.S. (2009). Functional RET G691S polymorphism in cutaneous malignant melanoma. *Oncogene*. 28(34), 3058-3068.
155. Santos, M., Azevedo, T., Martins, T., Rodrigues, F.J. and Lemos, M.C. (2014). Association of RET genetic polymorphisms and haplotypes with papillary thyroid carcinoma in the Portuguese population: a case-control study. *PLoS ONE*. 9(10), e109822.
156. Siqueira, D.R., Ceolin, L., Ferreira, C.V., Romitti, M., Maia, S.C., Maciel, L.M. and Maia, A.L. (2014). Role of RET genetic variants in MEN2-associated pheochromocytoma. *European Journal of Endocrinology*. 170(6), 821-828.
157. Siqueira, D.R., Romitti, M., da Rocha, A.P., Ceolin, L., Meotti, C., Estivalet, A., Puñales, M.K. and Maia, A.L. (2010). The RET polymorphic allele S836S is associated with early metastatic disease in patients with hereditary or sporadic medullary thyroid carcinoma. *Endocrine-Related Cancer*. 17(4), 953-963.
158. Griseri, P., Garrone, O., Lo Sardo, A., Monteverde, M., Rusmini, M., Tonissi, F., Merlano, M., Bruzzi, P., Lo Nigro, C. and Ceccherini, I. (2016). Genetic and epigenetic factors affect RET gene expression in breast cancer cell lines and influence survival in patients. *Oncotarget*. 7(18), 26465-26479.
159. Skaper, S.D. (2012). The neurotrophin family of neurotrophic factors: an overview. *Methods in Molecular Biology*. 846, 1-12.
160. Sobus, A. and Machalinski, B. (2016). *Trophic Factors in the Therapeutic Challenge Against ALS: Current Research Directions*. pp 213-227.
161. Meng, L., Liu, B., Ji, R., Jiang, X., Yan, X. and Xin, Y. (2019). Targeting the BDNF/TrkB pathway for the treatment of tumors (Review). *Oncology Letters*. 17(2), 2031-2039.

162. Choy, C., Ansari, K.I., Neman, J., Hsu, S., Duenas, M.J., Li, H., Vaidehi, N. and Jandial, R. (2017). Cooperation of neurotrophin receptor TrkB and Her2 in breast cancer cells facilitates brain metastases. *Breast Cancer Research*. 19(1), 51.
163. Patani, N., Jiang, W.G. and Mokbel, K. (2011). Brain-derived neurotrophic factor expression predicts adverse pathological & clinical outcomes in human breast cancer. *Cancer Cell International*. 11(1), 23.
164. Vanhecke, E., Adriaenssens, E., Verbeke, S., Meignan, S., Germain, E., Berteaux, N., Nurcombe, V., Le Bourhis, X. and Hondermarck, H. (2011). Brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-4/5 are expressed in breast cancer and can be targeted to inhibit tumor cell survival. *Clinical Cancer Research*. 17(7), 1741-1752.
165. Ibáñez, C.F. and Andressoo, J.O. (2017). Biology of GDNF and its receptors - Relevance for disorders of the central nervous system. *Neurobiology of Disease*. 97, 80-89.
166. Kotzbauer, P.T., Lampe, P.A., Heuckeroth, R.O., Golden, J.P., Creedon, D.J., Johnson, E.M., Jr. and Milbrandt, J. (1996). Neurturin, a relative of glial-cell-line-derived neurotrophic factor. *Nature*. 384(6608), 467-470.
167. Sandmark, J., Dahl, G., Öster, L., Xu, B., Johansson, P., Akerud, T., Aagaard, A., Davidsson, P., Bigalke, J.M., Winzell, M.S., Rainey, G.J. and Roth, R.G. (2018). Structure and biophysical characterization of the human full-length neurturin-GFRα2 complex: A role for heparan sulfate in signaling. *Journal of Biological Chemistry*. 293(15), 5492-5508.
168. Melillo R.M., S.M. (2015). *The RET Receptor Family*. Wheeler D., Y.Y., Springer, Cham., pp 559-591.
169. Fjord-Larsen, L., Johansen, J.L., Kusk, P., Tornøe, J., Grønborg, M., Rosenblad, C. and Wahlberg, L.U. (2005). Efficient in vivo protection of nigral dopaminergic neurons by lentiviral gene transfer of a modified Neurturin construct. *Experimental Neurology*. 195(1), 49-60.
170. Marks, W.J., Jr., Bartus, R.T., Siffert, J., Davis, C.S., Lozano, A., Boulis, N., Vitek, J., Stacy, M., Turner, D., Verhagen, L., Bakay, R., Watts, R., Guthrie, B., Jankovic, J., Simpson, R., Tagliati, M., Alterman, R., Stern, M., Baltuch, G., Starr, P.A., Larson, P.S., Ostrem, J.L., Nutt, J., Kieburz, K., Kordower, J.H. and Olanow, C.W. (2010). Gene delivery of AAV2-neurturin for Parkinson's disease: a double-blind, randomised, controlled trial. *Lancet Neurology*. 9(12), 1164-1172.
171. Wang, K., Demir, I.E., D'Haese, J.G., Tiefrunk, E., Kujundzic, K., Schorn, S., Xing, B., Kehl, T., Friess, H. and Ceyhan, G.O. (2013). The neurotrophic factor neurturin contributes toward an aggressive cancer cell phenotype, neuropathic pain and neuronal plasticity in pancreatic cancer. *Carcinogenesis*. 35(1), 103-113.

172. Wordinger, R.J. and Clark, A.F. (2008). *CHAPTER 5 - Growth Factors and Neurotrophic Factors as Targets*. London: Academic Press, pp. 87-116.
173. Xing, Z. and Wang, J. (2000). Consideration of cytokines as therapeutics agents or targets. *Current Pharmaceutical Design*. 6(6), 599-611.
174. Mon, N.N., Ito, S., Senga, T. and Hamaguchi, M. (2006). FAK signaling in neoplastic disorders: a linkage between inflammation and cancer. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1086, 199-212.
175. Ebrahimpour Koujan, S., Pourghassem Gargarib, B. and Khalili, M. (2015). Matrix Metalloproteinases and Breast Cancer. *Thrita*. 4(1), e21959.
176. Holanda, A.O.d.N., Oliveira, A.R.S.d., Cruz, K.J.C., Severo, J.S., Morais, J.B.S., Silva, B.B.d. and Marreiro, D.d.N. (2017). Zinc and metalloproteinases 2 and 9: What is their relation with breast cancer? *Revista da Associação Médica Brasileira*. 63, 78-84.
177. Somiari, S.B., Somiari, R.I., Heckman, C.M., Olsen, C.H., Jordan, R.M., Russell, S.J. and Shriver, C.D. (2006). Circulating MMP2 and MMP9 in breast cancer -- potential role in classification of patients into low risk, high risk, benign disease and breast cancer categories. *International Journal of Cancer*. 119(6), 1403-1411.
178. Bauvois, B. (2012). New facets of matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 as cell surface transducers: outside-in signaling and relationship to tumor progression. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1825(1), 29-36.
179. Ławicki, S., Zajkowska, M., Głażewska, E.K., Będkowska, G.E. and Szmitkowski, M. (2017). Plasma levels and diagnostic utility of VEGF, MMP-2 and TIMP-2 in the diagnostics of breast cancer patients. *Biomarkers*. 22(2), 157-164.
180. Cathcart, J., Pulkoski-Gross, A. and Cao, J. (2015). Targeting Matrix Metalloproteinases in Cancer: Bringing New Life to Old Ideas. *Genes and Diseases*. 2(1), 26-34.
181. Aroner, S.A., Rosner, B.A., Tamimi, R.M., Tworoger, S.S., Baur, N., Joos, T.O. and Hankinson, S.E. (2015). Plasma matrix metalloproteinase 2 levels and breast cancer risk. *Cancer Epidemiology*. 39(3), 321-327.
182. Zhang, S., Ma, J., Fu, Z., Zhang, Z., Cao, J., Huang, L., Li, W., Xu, P. and Cao, X. (2016). Promotion of breast cancer cells MDA-MB-231 invasion by di(2-ethylhexyl)phthalate through matrix metalloproteinase-2/-9 overexpression. *Environmental Science and Pollution Research*. 23(10), 9742-9749.
183. Hynes, R.O. (2002). Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell*. 110(6), 673-687.
184. Guan, J.L. (2010). Integrin signaling through FAK in the regulation of mammary stem cells and breast cancer. *IUBMB Life*. 62(4), 268-276.

185. Wang, B., Qi, X., Li, D., Feng, M., Meng, X. and Fu, S. (2016). Expression of pY397 FAK promotes the development of non-small cell lung cancer. *Oncology Letters*. 11(2), 979-983.
186. Schoenherr, C., Serrels, B., Proby, C., Cunningham, D.L., Findlay, J.E., Baillie, G.S., Heath, J.K. and Frame, M.C. (2014). Eps8 controls Src- and FAK-dependent phenotypes in squamous carcinoma cells. *Journal of Cell Science*. 127(24), 5303-5316.
187. Yurdagul, A., Jr., Sulzmaier, F.J., Chen, X.L., Pattillo, C.B., Schlaepfer, D.D. and Orr, A.W. (2016). Oxidized LDL induces FAK-dependent RSK signaling to drive NF- $\kappa$ B activation and VCAM-1 expression. *Journal of Cell Science*. 129(8), 1580-1591.
188. Lee, B.Y., Timpson, P., Horvath, L.G. and Daly, R.J. (2015). FAK signaling in human cancer as a target for therapeutics. *Pharmacology & Therapeutics*. 146, 132-149.
189. Gonçalves, A.F., Adlesic, M., Brandt, S., Hejhal, T., Harlander, S., Sommer, L., Shakhova, O., Wild, P.J. and Frew, I.J. (2017). Evidence of renal angiomyolipoma neoplastic stem cells arising from renal epithelial cells. *Nature Communications*. 8(1), 1466.
190. Maccalli, C., Rasul, K.I., Elawad, M. and Ferrone, S. (2018). The role of cancer stem cells in the modulation of anti-tumor immune responses. *Seminars in Cancer Biology*. 53, 189-200.
191. Sulzmaier, F.J., Jean, C. and Schlaepfer, D.D. (2014). FAK in cancer: mechanistic findings and clinical applications. *Nature Reviews Cancer*. 14(9), 598-610.
192. Yoon, H., Dehart, J.P., Murphy, J.M. and Lim, S.T. (2015). Understanding the roles of FAK in cancer: inhibitors, genetic models, and new insights. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 63(2), 114-128.
193. Balsas, P., Palomero, J., Eguileor, Á., Rodríguez, M.L., Vegliante, M.C., Planas-Rigol, E., Sureda-Gómez, M., Cid, M.C., Campo, E. and Amador, V. (2017). SOX11 promotes tumor protective microenvironment interactions through CXCR4 and FAK regulation in mantle cell lymphoma. *Blood*. 130(4), 501-513.
194. Fan, T., Chen, J., Zhang, L., Gao, P., Hui, Y., Xu, P., Zhang, X. and Liu, H. (2016). Bit1 knockdown contributes to growth suppression as well as the decreases of migration and invasion abilities in esophageal squamous cell carcinoma via suppressing FAK-paxillin pathway. *Molecular Cancer*. 15, 23.
195. Nader, G.P., Ezratty, E.J. and Gundersen, G.G. (2016). FAK, talin and PIPKly regulate endocytosed integrin activation to polarize focal adhesion assembly. *Nature Cell Biology*. 18(5), 491-503.
196. Skinner, H.D., Giri, U., Yang, L., Woo, S.H., Story, M.D., Pickering, C.R., Byers, L.A., Williams, M.D., El-Naggar, A., Wang, J., Diao, L., Shen, L., Fan,

- Y.H., Molkentine, D.P., Beadle, B.M., Meyn, R.E., Myers, J.N. and Heymach, J.V. (2016). Proteomic Profiling Identifies PTK2/FAK as a Driver of Radioresistance in HPV-negative Head and Neck Cancer. *Clinical Cancer Research*. 22(18), 4643-4650.
197. Alexopoulou, A.N., Lees, D.M., Bodrug, N., Lechertier, T., Fernandez, I., D'Amico, G., Dukinfield, M., Batista, S., Tavora, B., Serrels, B. and Hodivala-Dilke, K. (2017). Focal Adhesion Kinase (FAK) tyrosine 397E mutation restores the vascular leakage defect in endothelium-specific FAK-kinase dead mice. *Journal of Pathology*. 242(3), 358-370.
  198. Cance, W.G., Harris, J.E., Iacocca, M.V., Roche, E., Yang, X., Chang, J., Simkins, S. and Xu, L. (2000). Immunohistochemical analyses of focal adhesion kinase expression in benign and malignant human breast and colon tissues: correlation with preinvasive and invasive phenotypes. *Clinical Cancer Research*. 6(6), 2417-2423.
  199. Owens, L.V., Xu, L., Dent, G.A., Yang, X., Sturge, G.C., Craven, R.J. and Cance, W.G. (1996). Focal adhesion kinase as a marker of invasive potential in differentiated human thyroid cancer. *Annals of Surgical Oncology*. 3(1), 100-105.
  200. Xu, L.H., Yang, X., Bradham, C.A., Brenner, D.A., Baldwin, A.S., Jr., Craven, R.J. and Cance, W.G. (2000). The focal adhesion kinase suppresses transformation-associated, anchorage-independent apoptosis in human breast cancer cells. Involvement of death receptor-related signaling pathways. *Journal of Biological Chemistry*. 275(39), 30597-30604.
  201. Watermann, D.O., Gabriel, B., Jäger, M., Orlowska-Volk, M., Hasenburger, A., zur Hausen, A., Gitsch, G. and Stickeler, E. (2005). Specific induction of pp125 focal adhesion kinase in human breast cancer. *British Journal of Cancer*. 93(6), 694-698.
  202. Çelikcan, H.D. (2019). *Çoklu gen çalışmalarında interaksiyon ve eklemeli etkilerin optimizasyon yöntemleriyle modellenmesi*, Doktora, Mersin Üniversitesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı, Mersin.
  203. Mishra, V., Kowtal, P., Rane, P. and Sarin, R. (2019). Genetic risk association of CDKN1A and RET gene SNPs with medullary thyroid carcinoma: Results from the largest MTC cohort and meta-analysis. *Cancer Medicine*. 8(13), 6151-6161.
  204. Machens, A., Frank-Raue, K., Lorenz, K., Rondot, S., Raue, F. and Dralle, H. (2012). Clinical relevance of RET variants G691S, L769L, S836S and S904S to sporadic medullary thyroid cancer. *Clinical Endocrinology (Oxford)*. 76(5), 691-697.
  205. Hishiki, T., Nimura, Y., Isogai, E., Kondo, K., Ichimiya, S., Nakamura, Y., Ozaki, T., Sakiyama, S., Hirose, M., Seki, N., Takahashi, H., Ohnuma, N., Tanabe, M. and Nakagawara, A. (1998). Glial cell line-derived neurotrophic factor/neurturin-induced differentiation and its enhancement by retinoic acid

- in primary human neuroblastomas expressing c-Ret, GFR alpha-1, and GFR alpha-2. *Cancer Research*. 58(10), 2158-2165.
206. S. Qiao, T.I., M. Ichihara, Y. Murakumo, A. Yamaguchi, M. Isogai, K. Sakata and M. Takahashi. (2009). Increased expression of glial cell line-derived neurotrophic factor and neurturin in a case of colon adenocarcinoma associated with diffuse ganglioneuromatosis. *Clinical Neuropathology*. 28, 105-112.
  207. Meldolesi, J. (2018). Neurotrophin Trk Receptors: New Targets for Cancer Therapy. *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology*. 174, 67-79.
  208. Roesler, R., de Farias, C.B., Abujamra, A.L., Brunetto, A.L. and Schwartzmann, G. (2011). BDNF/TrkB signaling as an anti-tumor target. *Expert Review Anticancer Therapy*. 11(10), 1473-1475.
  209. Wang, Z., Wang, S., Liu, Y., Gao, S., Yu, Y. and Hu, Z. (2021). Serum Levels of BDNF in Patients with Adenoma and Colorectal Cancer. *Disease Markers*. 2021, 8867368.
  210. Zoladz, J.A., Nowak, L.R., Majerczak, J., Kulpa, J., Pilc, A. and Duda, K. (2019). Breast cancer surgery decreases serum brain-derived neurotrophic factor concentrations in middle aged women: relationship to the serum C-reactive protein concentration. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 70(4).
  211. Huang, J., Ang, L., Liu, M.Q., Hu, H.G., Wang, J., Zou, Q., Zhao, Y., Zheng, L., Zhao, M. and Wu, Z.S. (2014). Serum and tissue expression of gelatinase and Twist in breast cancer. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 18(18), 2662-2669.
  212. Katunina, A.I., Gershtein, E.S., Ermilova, V.D., Tereshkina, I.V., Nazarenko, A.Y., Tyleuova, A.A., Dvorova, E.K., Karabekova, Z.K., Gritskevich, M.V. and Berezov, T.T. (2011). Matrix metalloproteinases 2, 7, and 9 in tumors and sera of patients with breast cancer. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 151(3), 359-362.
  213. Kim, Y., Ollberding, N.J., Shvetsov, Y.B., Franke, A.A., Wilkens, L.R., Maskarinec, G., Hernandez, B.Y., Le Marchand, L., Henderson, B.E., Kolonel, L.N. and Goodman, M.T. (2012). Plasma matrix metalloproteinases and postmenopausal breast cancer risk: a nested case-control study in the Multiethnic Cohort study. *Breast Cancer Research and Treatment*. 136(3), 837-845.
  214. Kuvaja, P., Talvensaari-Mattila, A., Pääkkö, P. and Turpeenniemi-Hujanen, T. (2006). Low serum level of pro-matrix metalloproteinase 2 correlates with aggressive behavior in breast carcinoma. *Human Pathology*. 37(10), 1316-1323.
  215. Ławicki, S., Zajkowska, M., Głażewska, E.K., Będkowska, G.E. and Szmitkowski, M. (2016). Plasma Levels and Diagnostic Utility of M-CSF,

- MMP-2 and its Inhibitor TIMP-2 in the Diagnostics of Breast Cancer Patients. *Clinical Laboratory*. 62(9), 1661-1669.
216. Song, N., Sung, H., Choi, J.Y., Han, S., Jeon, S., Song, M., Lee, Y., Park, C., Park, S.K., Lee, K.M., Yoo, K.Y., Noh, D.Y., Ahn, S.H., Lee, S.A. and Kang, D. (2012). Preoperative serum levels of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and survival of breast cancer among Korean women. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. 21(8), 1371-1380.
  217. Alrehaili, A.A., Gharib, A.F., Karam, R.A., Alhakami, R.A., El Sawy, W.H. and Abd Elrahman, T.M. (2020). Clinical significance of plasma MMP-2 and MMP-9 levels as biomarkers for tumor expression in breast cancer patients in Egypt. *Molecular Biology Reports*. 47(2), 1153-1160.
  218. Heo, D.S., Choi, H., Yeom, M.Y., Song, B.J. and Oh, S.J. (2014). Serum levels of matrix metalloproteinase-9 predict lymph node metastasis in breast cancer patients. *Oncology Reports*. 31(4), 1567-1572.
  219. Sheen-Chen, S.M., Chen, H.S., Eng, H.L., Sheen, C.C. and Chen, W.J. (2001). Serum levels of matrix metalloproteinase 2 in patients with breast cancer. *Cancer Letters*. 173(1), 79-82.
  220. Zagouri, F., Sergeantanis, T.N., Kalogera, E., Provatopoulou, X., Chrysikos, D., Zografos, E., Bletsas, G., Flessas, I., Papadimitriou, C.A., Zografos, G.C. and Gounaris, A. (2011). Serum MMPs and TIMPs: may be predictors of breast carcinogenesis? *Clinica Chimica Acta*. 412(7-8), 537-540.
  221. Patel, S., Sumitra, G., Koner, B.C. and Saxena, A. (2011). Role of serum matrix metalloproteinase-2 and -9 to predict breast cancer progression. *Clinical Biochemistry*. 44(10), 869-872.
  222. Muzzio, M.L., Miksztowicz, V., Repetto, E.M., Brites, F., Berg, G. and Schreier, L. (2011). Increased MMP-2 in healthy postmenopausal women. *Annals of Clinical Biochemistry*. 49(1), 75-79.
  223. Zhang, H., Luo, X.-h., Xie, H., Wu, X.-p., Shan, P.-f., Cao, X.-z. and Liao, E.-y. (2006). [Age-related changes serum levels of MMP-1 and MMP-2 in women: their relationship with bone biochemical markers and bone mineral density]. *Zhonghua nei ke za zhi*. 45(4), 306-309.
  224. Odate, S., Nakamura, K., Onishi, H., Kojima, M., Uchiyama, A., Nakano, K., Kato, M., Tanaka, M. and Katano, M. (2013). TrkB/BDNF signaling pathway is a potential therapeutic target for pulmonary large cell neuroendocrine carcinoma. *Lung Cancer*. 79(3), 205-214.
  225. Ozono, K., Ohishi, Y., Onishi, H., Nakamura, K., Motoshita, J., Kato, M., Nakanishi, R., Nakamura, M. and Oda, Y. (2017). Brain-derived neurotrophic factor/tropomyosin-related kinase B signaling pathway contributes to the aggressive behavior of lung squamous cell carcinoma. *Laboratory Investigation*. 97(11), 1332-1342.

226. Lark, A.L., Livasy, C.A., Dressler, L., Moore, D.T., Millikan, R.C., Geradts, J., Iacocca, M., Cowan, D., Little, D., Craven, R.J. and Cance, W. (2005). High focal adhesion kinase expression in invasive breast carcinomas is associated with an aggressive phenotype. *Modern Pathology*. 18(10), 1289-1294.
227. Lu, D., Yao, Q., Zhan, C., Le-Meng, Z., Liu, H., Cai, Y., Tu, C., Li, X., Zou, Y. and Zhang, S. (2017). MicroRNA-146a promote cell migration and invasion in human colorectal cancer via carboxypeptidase M/src-FAK pathway. *Oncotarget*. 8(14), 22674-22684.
228. Nolasco-Quiroga, M., Rosas-Díaz, M., Moreno, J., Godínez-Aguilar, R., López-Ibarra, M.J., Piña-Sánchez, P., Alvarado-Cabrero, I., Vázquez-Gómez, G., Rocha-Zavaleta, L., Arenas-Aranda, D. and Salamanca-Gómez, F. (2019). Increased expression of FAK isoforms as potential cancer biomarkers in ovarian cancer. *Oncology Letters*. 17(6), 4779-4786.
229. Golubovskaya, V.M., Conway-Dorsey, K., Edmiston, S.N., Tse, C.K., Lark, A.A., Livasy, C.A., Moore, D., Millikan, R.C. and Cance, W.G. (2009). FAK overexpression and p53 mutations are highly correlated in human breast cancer. *International Journal of Cancer*. 125(7), 1735-1738.
230. El-Sisi, M.G., Radwan, S.M., Saeed, A.M. and El-Mesallamy, H.O. (2021). Serum levels of FAK and some of its effectors in adult AML: correlation with prognostic factors and survival. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 476(5), 1949-1963.
231. Theocharis, S.E., Klijanienko, J.T., Padoy, E., Athanassiou, S. and Sastre-Garau, X.X. (2009). Focal adhesion kinase (FAK) immunocytochemical expression in breast ductal invasive carcinoma (DIC): correlation with clinicopathological parameters and tumor proliferative capacity. *Medical Science Monitor*. 15(8), 221-226.
232. Lightfoot, H.M., Jr., Lark, A., Livasy, C.A., Moore, D.T., Cowan, D., Dressler, L., Craven, R.J. and Cance, W.G. (2004). Upregulation of focal adhesion kinase (FAK) expression in ductal carcinoma in situ (DCIS) is an early event in breast tumorigenesis. *Breast Cancer Research Treatment*. 88(2), 109-116.
233. Myers, J.P., Robles, E., Ducharme-Smith, A. and Gomez, T.M. (2012). Focal adhesion kinase modulates Cdc42 activity downstream of positive and negative axon guidance cues. *Journal of Cell Science*. 125(12), 2918-2929.
234. Matsuda, S., Fujita, T., Kajiya, M., Takeda, K., Shiba, H., Kawaguchi, H. and Kurihara, H. (2012). Brain-derived neurotrophic factor induces migration of endothelial cells through a TrkB-ERK-integrin  $\alpha$ V $\beta$ 3-FAK cascade. *Journal of Cellular Physiology*. 227(5), 2123-2129.
235. Pathmanathan, N. and Balleine, R.L. (2013). Ki67 and proliferation in breast cancer. *Journal of Clinical Pathology*. 66(6), 512-516.



**EKLER**

## EK-1. Etik Kurul Onayı

| GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU<br>GİRİŞİMSSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR KARAR FORMU |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                  |                                                                                                              |                                       |                                       |                            |      |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------|------|
| ETİK KURUL BİLGİLERİ                                                                              | ETİK KURULUNUN ADI                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                        | Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu                                                                                                                                                                                                       |                                                  |                                                                                                              |                                       |                                       |                            |      |
|                                                                                                   | AÇIK ADRES                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                        | Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası 06500 Beşevler/Ankara                                                                                                                                                                                   |                                                  |                                                                                                              |                                       |                                       |                            |      |
|                                                                                                   | TELEFON                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                        | 0312 202 69 58                                                                                                                                                                                                                                          |                                                  |                                                                                                              |                                       |                                       |                            |      |
|                                                                                                   | FAKS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                        | 0312 202 46 73                                                                                                                                                                                                                                          |                                                  |                                                                                                              |                                       |                                       |                            |      |
|                                                                                                   | E-POSTA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                        | tipetikkurul@gazi.edu.tr                                                                                                                                                                                                                                |                                                  |                                                                                                              |                                       |                                       |                            |      |
| BAŞVURU BİLGİLERİ                                                                                 | ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                        | Meme Kanseri RET Polimorfizmi ve RET ilişkili Parametrelerin Serum Düzeylerinin Değerlendirilmesi                                                                                                                                                       |                                                  |                                                                                                              |                                       |                                       |                            |      |
|                                                                                                   | KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                        | Prof. Dr. Aymelek GÖNENÇ                                                                                                                                                                                                                                |                                                  |                                                                                                              |                                       |                                       |                            |      |
|                                                                                                   | KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI /UZMANLIK ALANI/ BULUNDUĞU MERKEZ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                        | Gazi Üniv. Eczacılık Fakültesi                                                                                                                                                                                                                          |                                                  |                                                                                                              |                                       |                                       |                            |      |
|                                                                                                   | DESTEKLEYİCİ (Varsa)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                  |                                                                                                              |                                       |                                       |                            |      |
|                                                                                                   | ARAŞTIRMANIN TÜRÜ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                        | Kan, idrar, doku, radyolojik görüntü gibi biyokimya, mikrobiyoloji, patoloji ve radyoloji kolleksiyon materyalleriyle veya rutin muayene tetkik tahlil ve tedavi işlemleri sırasında (önceden) elde edilmiş materyallerle yapılacak araştırmalar- Diğer |                                                  |                                                                                                              |                                       |                                       |                            |      |
|                                                                                                   | ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                        | TEK MERKEZ <input type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                     | ÇOK MERKEZLİ <input checked="" type="checkbox"/> | ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>                                                                   | ULUSLARARASI <input type="checkbox"/> |                                       |                            |      |
| DEĞERLENDİRİLEN BELGELER                                                                          | Belge Adı                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                        | Tarihi                                                                                                                                                                                                                                                  | Ver.No                                           | Dili                                                                                                         |                                       |                                       |                            |      |
|                                                                                                   | ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                        | 30.11.2018                                                                                                                                                                                                                                              | 2                                                | Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |                                       |                                       |                            |      |
|                                                                                                   | AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                        | 30.11.2018                                                                                                                                                                                                                                              | 2                                                | Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |                                       |                                       |                            |      |
| DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER                                                                    | Belge Adı                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                  | Açıklama                                                                                                     |                                       |                                       |                            |      |
|                                                                                                   | ARAŞTIRMA BÜTÇESİ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                         | <input checked="" type="checkbox"/>              |                                                                                                              |                                       |                                       |                            |      |
|                                                                                                   | BİYOLOJİK MATERYAL TRANSFER FORMU                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                         | <input type="checkbox"/>                         |                                                                                                              |                                       |                                       |                            |      |
|                                                                                                   | DİĞER                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                         | <input type="checkbox"/>                         |                                                                                                              |                                       |                                       |                            |      |
| KARAR BİLGİLERİ                                                                                   | Karar No: 912                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                        | Toplantı tarihi: 10.12.2018                                                                                                                                                                                                                             |                                                  |                                                                                                              |                                       |                                       |                            |      |
|                                                                                                   | <p>Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve "bütçesi dışında" uygun bulunmuş olup, araştırma dosyasında belirtilen merkez/merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına, G.Ü. Klinik Araştırmalar Etik Kurulu üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir.</p> <p>Etik Kurulun kararı, projenin bütçesi BAP tarafından kabul edildiği takdirde yürürlüğe girecek olup, BAP kararının Kurulumuza bildirilmesi gerekmektedir.</p> |                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                  |                                                                                                              |                                       |                                       |                            |      |
| KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                  |                                                                                                              |                                       |                                       |                            |      |
| ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu |                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                  |                                                                                                              |                                       |                                       |                            |      |
| BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Prof. Dr. Canan ULUOĞLU                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                  |                                                                                                              |                                       |                                       |                            |      |
| Unvanı/Adı/Soyadı                                                                                 | Uzmanlık Alanı                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Kurumu                                                                                                 | Cinsiyet                                                                                                                                                                                                                                                |                                                  | Araştırma ile ilişki                                                                                         |                                       | Katılım *                             |                            | İmza |
| Prof. Dr. Canan ULUOĞLU<br>BAŞKAN                                                                 | Tıbbi Farmakoloji<br>A.D                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | G.Ü.T.F                                                                                                | E <input type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                              | K <input checked="" type="checkbox"/>            | E <input type="checkbox"/>                                                                                   | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> |      |
| Prof. Dr. Birol DEMİREL<br>BAŞKAN YARD.                                                           | Adli Tıp AD.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | G.Ü.T.F                                                                                                | E <input checked="" type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                   | K <input type="checkbox"/>                       | E <input type="checkbox"/>                                                                                   | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> |      |

## EK-1.(devam) Etik Kurul Onayı

|                                       |                                        |                                      |                                       |                                       |                            |                                       |                                       |                            |
|---------------------------------------|----------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------|
| Prof. Dr. Gonca AKBULUT<br>RAPORTÖR   | Fizyoloji AD.                          | G.Ü.T.F.                             | E <input type="checkbox"/>            | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> |
| Prof. Dr. Bülent BOYACI<br>ÜYE        | Kardiyoloji AD.                        | G.Ü.T.F.                             | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/>            | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> |
| Prof. Dr. Öznur L.BOYUNAĞA<br>ÜYE     | Radyoloji AD.                          | G.Ü.T.F.                             | E <input type="checkbox"/>            | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> |
| Prof. Dr. Mustafa KAVUTÇU<br>ÜYE      | Tıbbi Biyokimya<br>AD                  | G.Ü.T.F.                             | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/>            | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> |
| Prof. Dr. Nesrin ÇOBANOĞLU<br>ÜYE     | Tıp Tarihi ve Etik<br>AD.              | G.Ü.T.F.                             | E <input type="checkbox"/>            | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> |
| Prof. Dr. Ash KURUOĞLU<br>ÜYE         | Psikiyatri AD.                         | G.Ü.T.F.                             | E <input type="checkbox"/>            | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> |
| Doç. Dr. Hakan KAYIR<br>ÜYE           | Tıbbi Farmakoloji                      | COMMAT Ltd.                          | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/>            | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> |
| Doç. Dr. Mutlu DOĞAN<br>ÜYE           | İç Hast. AD. Tıbbi<br>Onkoloji BD.     | Ank.Numune<br>Eğt. ve<br>Araşt.Hast. | E <input type="checkbox"/>            | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> |
| Doç. Dr. N.Arda DEMİRKAN<br>ÜYE       | Genel Cerrahi AD.                      | A.Ü.T.F.                             | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/>            | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> |
| Doç. Dr. Anıl TAPISIZ<br>ÜYE          | Çocuk Sağlığı ve<br>Hast.AD.Ç.Nör. BD. | G.Ü.T.F.                             | E <input type="checkbox"/>            | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> |
| Prof. Dr. Pınar ÖZDEMİR<br>ÜYE        | Biyoistatistik AD.                     | H.Ü.T.F.                             | E <input type="checkbox"/>            | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> |
| Doktor Öğr.Üyesi Mustafa GÖKSU<br>ÜYE | Hukukçu                                | A.H.B.V.Ü<br>Hukuk<br>Fakültesi      | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/>            | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> |
| Aysel ÖZER<br>ÜYE                     | Sivil Temsilci                         | Emekli<br>Öğr. Üyesi                 | E <input type="checkbox"/>            | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> |

• :Araştırma ile İlgili  
•• :Toplantıda Bulunma

**EK-2. Çalışma Onayı**

**T.C.**  
**SAĞLIK BAKANLIĞI**  
**Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Dr.Abdurrahman Yurtaslan Onkoloji Sağlık**  
**Uygulama ve Araştırma Merkezi**

**TIPTA UZMANLIK ve EĞİTİM KURULU TOPLANTI KARAR TUTANAĞI**

**Toplantı Sayısı** :60  
**Toplantı Tarihi** :25.12.2018 Salı  
**Saat** :14:00

**Sayın Tuba TAŞKAN**

Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya ABD Yüksek Lisans öğrencisi Tuba TAŞKAN'ın Prof. Dr. Aymelek GÖNENÇ danışmanlığında yürüttüğü,"Meme Kanseri RET Polimorfizmi ve RET ilişkili Parametrelerin Serum Düzeylerinin Değerlendirilmesi" konulu prospektif tez çalışmasının hastanemizde gerçekleştirilmesi hususunun uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

**EK-3. Anket****HASTA ANKET FORMU**

Adı Soyadı:..... Katılımcı T.C. No:.....

Adres:.....

.....

Tel (ev): 0...../..... Tel (cep): 0...../.....

**GENEL BİLGİLER**

1. Yaş:.....
2. Boy (cm):.....
3. Vücut Ağırlığı (kg):.....
4. Hangi dönemdeyiz? Menopoz öncesi ( ) Menopoz sonrası ( )
5. İlk adet görme yaşı?.....
6. Menopoza girme yaşıınız nedir (Menopoz sonrası dönemdeyseniz)?.....
7. Menopoz sonrası hormon tedavisi aldınız mı? Evet ( ) Hayır ( )
8. Öğrenim durumu (süre/yıl....)
  - Okuryazarlık ( )
  - İlköğretim ( )
  - Lise ve dengi ( )
  - Üniversite ( )
  - Lisansüstü ( ) a) Yüksek lisans ( ) b) Doktora ( )
9. Kullandığınız ilaç var mı? a) Var ( ) b) Yok ( )  
Var ise ne kullanıyorsunuz?.....
12. Ailede kronik hastalık öyküsü varsa kimde?.....
13. Ailede meme kanseri öyküsü var mı? a) Var( ) b)Yok( )
14. Ailede meme kanseri öyküsü varsa kimde ve yaşı (tanı aldığı yaş)?  
.....
15. Doğum sayısı (canlı doğan çocuk sayısı):.....
16. Ölü doğum yaptınız mı? Evet ( ) Hayır ( )
17. İlk doğum yaptığınız yaş:.....
18. Alkol tüketiyor musunuz? Evet ( ) Hayır ( )
19. Sigara kullanıyor musunuz? Evet ( ) Hayır ( )
- 21.24 saatlik fiziksel aktivite kaydına göre, fiziksel aktivite düzeyi nedir?
  - Dinlenme ( ) Çok hafif aktivite ( ) Hafif aktivite ( )
  - Orta aktivite ( ) Ağır aktivite ( )
22. Önceden meme kanseri hakkında bir bilginiz var mıydı? Evet ( ) Hayır ( )
23. Düzenli olarak mamografi yaptırıyor musunuz? Evet ( ) Hayır ( )
24. Son mamografi tarihiniz nedir? (Ay/yıl) .....
25. Başvuru şikayetiniz nedir? .....

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Tuba TAŞKAN  
Uyruğu : T.C.

| Eğitim  | Eğitim Birimi                                                          | Mezuniyet Tarihi |
|---------|------------------------------------------------------------------------|------------------|
| Doktora | Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü<br>Biyokimya (ECZ.) ABD. | Devam ediyor     |
| Lisans  | Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi<br>Eczacılık Fakültesi        | 2014             |
| Lise    | Dr. Binnaz EGE-Dr. Rıdvan EGE Anadolu Lisesi                           | 2012             |

### Yayınlar

#### Ulusal Dergilerde Yayımlanmış Makaleler

- 1) Tuba Taşkan, Aymelek Gönenç (2020). Meme Kanserinde MMP-2 ve MMP-9'un Rolü. Literatür Eczacılık Bilimleri Dergisi, 9(2), 116-124., Doi: 10.5336/pharmsci.2020-73622 (Derleme Makale) (Yayın No: 6456130)

#### Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler

- 1) **Tuba Taşkan**, Osman Kurukahvecioğlu, Niyazi Karaman, Farshad Noori, Aymelek Gönenç. Brain-derived neurotrophic factor levels in breast cancer. *13th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS)*, 22-25 July, Ankara/Turkey, 2021. (Oral presentation)
- 2) Taylan Turan, **Tuba Taşkan**, Aslıhan Pekel, Zehra Candan İtemir Duvan, Aymelek Gönenç. Serum Fetuin-A, IL1 Beta Levels and Paraoxonase/Arylesterase Activities in Unexplained Infertility. *13. Congress of the European Society of Gynecology (ESG 2019)*, Vienna, 16-19 October 2019.
- 3) **Tuba Taşkan**, Taylan Turan, Sumeyya Oğuz, Mehmet Ayhan Karakoç, İsmail Emre Arslan, Aymelek Gönenç. Evaluation of TOS, OSI and CRP Levels in Subclinical Hyperthyroidism and Subclinical Hypothyroidism Patients. *International Hippocrates Congress on Medical and Health Sciences*, 1-3 March, Book of Abstracts, P-12, Ankara/Turkey, 2019.

- 4) **Tuba Taşkan**, Taylan Turan, Aslıhan Pekel, Zehra Candan İltemir Duvan, Aymelek Gönenç. Serum Carbonic Anhydrase 1 And Tos Levels in Patients With Unexplained Infertility. 12<sup>th</sup> International Symposium on Pharmaceutical sciences (ISOPS-12), 26-29 June, Book of Abstracts, P-399, Ankara, 2018.

### Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler

- 1) **Tuba Taşkan**, Farshad Noori, Niyazi Karaman, Osman Kurukahvecioğlu, Aymelek Gönenç. (2021). Meme Kanseri Hastalarında RET G691S Polimorfizmi. Uluslararası Biyokimya Kongresi 2021//32. Ulusal Biyokimya Kongresi (UBK 2021). 27-30 Ekim, Gaziantep, Türkiye. (Sözlü Sunum)
- 2) Kader Kübra Demirdöğen, **Tuba Taşkan**, Farshad Noori, Osman Kurukahvecioğlu, Aymelek Gönenç. Serum TRAIL ve DR5 düzeylerinin meme kanseri hastalarında değerlendirilmesi. 31. Ulusal Biyokimya Kongresi (UBK 2020), 18-20 Aralık, Ankara/Türkiye, 2020. (Sözlü Sunum)
- 3) **Tuba Taşkan**, Farshad Noori, Niyazi Karaman, Osman Kurukahvecioğlu, Aymelek Gönenç. (2020). Meme Kanseri Bir Nörotrofik Faktör: Neurturin. 31. Ulusal Biyokimya Kongresi (UBK 2020) (Sözlü Sunum)
- 4) Sümeyya Oğuz, **Tuba Taşkan**, Taylan Turan, M. Ayhan Karakoç, Emre Arslan, Aymelek Gönenç. Subklinik Hipotiroidili ve Subklinik Hipertiroidili Hastalarda Serum Chemerin ve Vaspın Düzeyleri. 8. Türkiye Tiroid Hastalıkları Kongresi, 14-16 Aralık 2018, P-17, Ankara.

### Ulusal Projeler

#### -Gazi Üniversitesi BAP Destekli Projeler

- 1) Aymelek Gönenç, **Tuba Taşkan (Araştırmacı)**, Taylan Turan, Sümeyya Oğuz, Mehmet Ayhan Karakoç, İsmail Emre Arslan. Tiroid Hastalıklarında Yeni Adipokinler, Oksidatif Stres ve İnflamasyon Belirteç Düzeylerinin İncelenmesi, Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Müdürlüğü, 05/12/2017-19.07.2019, Proje No:02/2017-24.
- 2) Aymelek Gönenç, **Tuba Taşkan (Araştırmacı)**, Taylan Turan, Aslıhan Pekel, Zehra Candan İltemir Duvan. Açıklanamayan İnfertilitede Serum Anti Karbonik Anhidraz I Antikorları ve Oksidatif Stresin Değerlendirilmesi, Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Müdürlüğü, 07/05/2018-03/02/2020, Proje No: 02/2018-06.
- 3) Aymelek Gönenç, **Tuba Taşkan (Araştırmacı)**, Osman Kurukahvecioğlu, Niyazi Karaman. Meme Kanseri RET Polimorfizmleri ile RET İlişkili Neurturin, FAK MMP-2 ve MMP-9 Düzeyleri. Proje No: 02/2019-03, (Devam Ediyor).
- 4) Aymelek Gönenç, **Tuba Taşkan (Araştırmacı)**, Osman Kurukahvecioğlu, Farshad Noori, Kader Kübra Demirdöğen. Meme Kanseri Apoptoz İlişkili

Parametrelerin Değerlendirilmesi. Proje No: 02/2020-01, 17.02.2020, (Devam Ediyor).

### **Seminer**

- 1) 21 Haziran 2017' de Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya ABD' de 'Tıp Tarihinin Kara Lekesi Talidomid Faciası' isimli bir seminer sunulmuştur.

### **Eğitmen Olarak Yer Aldığı Eğitimler**

- 1) 20-22 Şubat 2019 tarihinde Yaşam Bilimleri Derneği' nin ikincisini düzenlediği "*Hücre Kültürü ve Uygulamaları*" kursunda Düzenleme Komitesi' nde ve yapılan kursta eğitmen

### **Kurslar –Sertifikalar-Kongreler**

- 1) Adli Eczacılık Günleri, Adli Eczacı Eğitimi, 1-2 Ekim 2016, Ankara Eczacı Odası, Ankara.
- 2) Tümör Belirteçleri ve Klinik Kullanımları, Tümör Belirteçlerinin Klinikte Kullanımı, Tümör Belirteçleri; Biyokimyasal Yaklaşım, ODTÜ Mezunlar Derneği Vişnelik Tesisleri, Çalıştay, 22 Eylül 2016, Ankara.
- 3) 3. ODTÜ Sinir Bilim Günleri, Sinirbilimin Disiplinler Arası Doğası, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Kongre, 6-7 Mayıs 2017, Ankara.
- 4) Eğiticilerin Eğitimi Sertifika Programı, 8 Mayıs- 2 Haziran 2017, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Ankara.
- 5) Proje Döngüsü Eğitimi, Ankara Kalkınma Ajansı, 19-20 Temmuz 2017, Ankara.
- 6) DNA Hasarı, Onarımı ve Tandem Kütle Spektrometrik Değerlendirilmesi Teorik ve Uygulamalı Kurs- 5-8 Haziran 2018, Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı, İzmir.
- 7) Akademik Yazma Kursu, 16 Nisan-Mayıs 2019, Gazi Üniversitesi Akademik Yazma Merkezi, Ankara.
- 8) ORPHEUS İyi Uygulamalar Çalıştayı, 07 Aralık 2019, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.



*GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..*

