

**T.C.**  
**FIRAT ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**DOĞU VE GÜNEYDOĞU ANADOLU BÖLGESİNDE  
GÖRÜLEN ERKEN YAŞ MEME KANSERİ İLE *FGFR2* VE *TP53*  
TEK NÜKLEOTİD POLİMORFİZMLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ**

**Irmak İÇEN TAŞKIN**

**Doktora Tezi**  
**Anabilim Dalı: Biyoloji**

**Danışman: Prof. Dr. Ömer MUNZUROĞLU**

**HAZİRAN-2017**

**T.C.**  
**FIRAT ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOĞU VE GÜNEYDOĞU ANADOLU BÖLGESİNDE GÖRÜLEN ERKEN YAŞ**  
**MEME KANSERİ İLE *FGFR2* VE *TP53* TEK NÜKLEOTİD**  
**POLİMORFİZMLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ**

**DOKTORA TEZİ**  
**Irmak İÇEN TAŞKIN**  
**111110204**

**Anabilim Dalı: Biyoloji**  
**Programı: Moleküler Biyoloji**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ömer MUNZUROĞLU**  
**(İkinci Danışman: Yrd. Doç. Dr. SevgiİRTEGÜN KANDEMİR)**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 02/05/2017**

**HAZİRAN-2017**

T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOĞU VE GÜNEYDOĞU ANADOLU BÖLGESİNDE GÖRÜLEN ERKEN YAŞ  
MEME KANSERİ İLE *FGFR2* VE *TP53* TEK NÜKLEOTİD POLİMORFİZMLERİ  
ARASINDAKİ İLİŞKİ

DOKTORA TEZİ  
Irmak İÇEN TAŞKIN  
111110204

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 02/05/2017

Tezin Savunulduğu Tarih: 02/06/2017

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Ömer MUNZUROĞLU  
(İkinci Danışman) : Yrd. Doç. Dr. Sevgi İRTEGÜN KANDEMİR  
Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Hamdi SONER ALTUNDOĞAN  
Prof. Dr. A. Kadri ÇETİN  
Prof. Dr. Hikmet GEÇKİL  
Doç. Dr. Abdullah ASLAN  
Yrd. Doç. Dr. Gülden KOÇAK

HAZİRAN-2017

## ÖNSÖZ

Tez konumun belirlenmesinde ve çalışmalarımın her aşamasında bana yön veren, bilgi birikimi ile sürekli beni destekleyen sevgisi ve candan desteğiyle her zaman yanımda olan çok değerli danışman hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Sevgi İRTEGÜN KANDEMİR'e, karşılaştığım bütün zorluklara rağmen bana her aşamada güvenen, hiçbir zaman desteğini esirgemeyen değerli danışmanım sayın Prof. Dr. Ömer MUNZUROĞLU'na, çalışmalarım boyunca her zaman desteklerini gördüğüm, ekip olmanın önemini ve gerekliliğini gösteren değerli arkadaşlarım sayın Gülsüm PEKTANÇ ve sayın Mehmet Ali TEKİN'e, hasta seçiminde yardımcı olan sayın Uzm. Dr. Arif HAMİDİ ve Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Hüseyin KÜÇÜKBAYRAM'a, desteklerini esirgemeyen eski Bölüm Başkanımız sayın Prof. Dr. A. Harun EVREN'e, manevi desteğini esirgemeyen arkadaşım sayın Arş. Gör. Dr. Pelin YILMAZ SANCAR'a çok teşekkür ederim.

Sevgisi, sabrı ve anlayışıyla her zaman yanımda olan, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen değerli eşim sayın Levent TAŞKIN'a, beni bugünlere getiren ve destekleyen anneme, babama teşekkürü borç bilirim.

Bu tezi MF.16.31 proje numarası ile destekleyen Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine çok teşekkür ederim.

**Irmak İÇEN TAŞKIN**

**ELAZIĞ - 2017**

## İÇİNDEKİLER

|                                                                   |      |
|-------------------------------------------------------------------|------|
| ÖNSÖZ .....                                                       | II   |
| İÇİNDEKİLER.....                                                  | III  |
| ÖZET .....                                                        | VI   |
| SUMMARY .....                                                     | VIII |
| ŞEKİLLER LİSTESİ .....                                            | X    |
| TABLolar LİSTESİ .....                                            | XII  |
| KISALTMALAR LİSTESİ .....                                         | XIV  |
| 1. GİRİŞ.....                                                     | 1    |
| 1.1. Meme Anatomisi .....                                         | 1    |
| 1.2. Erken Yaş Meme Kanseri ve Epidemiyoloji .....                | 2    |
| 1.3. Meme Kanserin Histolojik Sınıflandırılması .....             | 3    |
| 1.3.1. Lobüler Karsinoma In Situ (LCIS).....                      | 3    |
| 1.3.2. Duktal Karsinoma In Situ (DCIS) .....                      | 4    |
| 1.3.3. İnvaziv Duktal Karsinom (IDC).....                         | 5    |
| 1.3.4. İnvaziv Lobüler Karsinom (ILC) .....                       | 5    |
| 1.3.5. İnflamatuvar Meme Kanseri (IBC) .....                      | 6    |
| 1.4. Meme Kanseri Tumor Özelliklerinin Prognoz ile İlişkisi ..... | 7    |
| 1.4.1. Primer Tumor Boyutu .....                                  | 7    |
| 1.4.2. Histolojik tip.....                                        | 7    |
| 1.4.3. Aksiller Lenf Nodu Tutulumu .....                          | 7    |
| 1.4.4. Östrojen ve Progesteron Reseptörleri .....                 | 8    |
| 1.4.5. Büyüme Faktörleri ve Reseptörleri .....                    | 8    |
| 1.5. Meme Kanseri Moleküler Sınıflandırması .....                 | 9    |
| 1.6. Meme Kanseri Evreleme .....                                  | 9    |
| 1.7. Erken Yaş Meme Kanseri Risk Faktörleri.....                  | 10   |
| 1.8. Erken Yaş Meme Kanseri Klinikopatolojik Özellikleri .....    | 12   |
| 1.9. Erken Yaş Meme Kanseri Moleküler Profillemesi .....          | 14   |

|                                                                                                                         |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1.9.1. Gen Ekspresyon Farklılıkları.....                                                                                | 14        |
| 1.9.2. Prognostik Genomik İmzalar.....                                                                                  | 15        |
| 1.9.3. Mutasyon Paternleri .....                                                                                        | 16        |
| 1.9.4. Erken Yaş Meme Kanseri ve Tek Nükleotid Polimorfizmleri (SNP).....                                               | 17        |
| 1.10. Erken Yaş Meme Kanseri Tedavi.....                                                                                | 19        |
| 1.11. Fibroblast Büyüme Faktörleri ve Reseptörleri .....                                                                | 21        |
| 1.11.1. Fibroblast Büyüme Faktörleri (FGFs).....                                                                        | 21        |
| 1.11.2. Fibroblast Büyüme Faktör Reseptörleri(FGFRs).....                                                               | 22        |
| 1.11.3. <i>FGFR2</i> Geni .....                                                                                         | 25        |
| 1.11.4. Meme Kanseri <i>FGFR2</i> Gen Mutasyonları ve Polimorfizmleri .....                                             | 26        |
| 1.12. <i>TP53</i> Geni.....                                                                                             | 28        |
| 1.12.1. Meme Kanseri <i>TP53</i> Gen Mutasyonları ve Polimorfizmleri .....                                              | 30        |
| 1.12.2. <i>TP53</i> Kodon72 (R72P) polimorfizmi .....                                                                   | 33        |
| 1.13. Çalışmanın Amacı .....                                                                                            | 35        |
| <b>2. MATERYAL ve METOT .....</b>                                                                                       | <b>36</b> |
| 2.1. Hasta Grubu.....                                                                                                   | 36        |
| 2.2. Kontrol Grubu .....                                                                                                | 36        |
| 2.3. Parafine Gömülü Dokulardan Genomik DNA İzolasyonu.....                                                             | 37        |
| 2.4. Kandan Genomik DNA izolasyonu.....                                                                                 | 38        |
| 2.5. DNA Saflığının ve Miktarının Belirlenmesi .....                                                                    | 39        |
| 2.6. Real-Time PCR (Gerçek Zamanlı PCR) .....                                                                           | 39        |
| 2.7. İstatistiksel Analizler .....                                                                                      | 41        |
| <b>3. BULGULAR .....</b>                                                                                                | <b>42</b> |
| 3.1. <i>FGFR2</i> rs1219648 Polimorfizm Analizi İçin Çalışmaya Dahil Edilen Hasta ve Kontrol Grubunun Özellikleri ..... | 42        |
| 3.2. <i>TP53</i> rs1042522 Polimorfizm Analizi İçin Çalışmaya Dahil Edilen Hasta ve Kontrol Grubunun Özellikleri .....  | 44        |
| 3.3. Real –Time PCR ile <i>FGFR2</i> ve <i>TP53</i> Gen Polimorfizmlerinin Analizi .....                                | 47        |

|                                                                                                                      |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.3.1. <i>FGFR2</i> rs1219648 Polimorfizminin Hasta Grubunda Analizi.....                                            | 47        |
| 3.3.2. <i>FGFR2</i> rs1219648 Polimorfizminin Kontrol Grubunda Analizi .....                                         | 49        |
| 3.3.3. <i>Tp53</i> rs1042522 Polimorfizminin Hasta Grubunda Analizi.....                                             | 51        |
| 3.3.4. <i>Tp53</i> rs1042522 Polimorfizminin Kontrol Grubunda Analizi .....                                          | 52        |
| 3.4. Hasta ve Kontrol Gruplarının Hardy-Weinberg Denge Analizi Açısından Karşılaştırılması.....                      | 54        |
| 3.5. Genotip Dağılımlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....                                              | 55        |
| 3.5.1. <i>FGFR2</i> rs1219648 Polimorfizmine Ait Genotip Dağılımlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi ..... | 55        |
| 3.5.2. <i>Tp53</i> rs1042522 Polimorfizmine Ait Genotip Dağılımlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi .....  | 56        |
| 3.6. Genotip Dağılımlarının Klinikopatolojik Parametreler İle Karşılaştırılması .....                                | 58        |
| 3.6.1. <i>FGFR2</i> rs1219648 Polimorfizminin Klinikopatolojik Özellikler İle İlişkisi .....                         | 58        |
| 3.6.2. <i>Tp53</i> rs1042522 Polimorfizminin Klinikopatolojik Özellikler İle İlişkisi .....                          | 61        |
| <b>4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA .....</b>                                                                                 | <b>66</b> |
| <b>5. ÖNERİLER.....</b>                                                                                              | <b>76</b> |
| <b>KAYNAKLAR.....</b>                                                                                                | <b>78</b> |
| <b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>                                                                                                | <b>98</b> |

## ÖZET

### DOĞU VE GÜNEYDOĞU ANADOLU BÖLGESİNDE GÖRÜLEN ERKEN YAŞ MEME KANSERİ İLE *FGFR2* VE *TP53* TEK NÜKLEOTİD POLİMORFİZMLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

Gelişmekte olan ülkelerde erken yaşta meme kanserine yakalanma oranı %25' e ulaşmaktadır. Çeşitli çalışmalar genç kadınlardaki meme kanseri olgularının normal meme kanseri vakalarından farklı biyolojik özelliklere sahip olduğunu ve bu hastaların ayrı değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır. Son zamanlarda genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (GWAS) ile meme kanserinde etkili olabilecek baz değişimleri araştırılmış olmakla birlikte, genç yaşlarda gözlenen meme kanseri ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır. Genç hastalar hakkındaki bilgi eksikliği bu tür kanserlerin oluşum mekanizmasının anlaşılmasını, bu hastalara özel tanı ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yönelik hızlı ilerlemeyi engellemektedir.

*FGFR2* geni ikinci intronunda yer alan rs1219648 ile *Tp53* geninin dördüncü ekzonunda yer alan rs1042522 gen polimorfizmleri bir çok popülasyonda post menopozal meme kanseri ile ilişkilendirilmiş olmasına rağmen, Türk popülasyonunda bu gen polimorfizmlerinin erken yaş meme kanseri ile ilişkisine yönelik herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda 2010-2015 yılları arasında Dicle üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji anabilim Dalı' na başvurmuş 40 yaş ve altı, rs1219648 analizi için 75, rs1042522 analizi için 96 hasta ile kendisinde ve ailesinde kanser öyküsü olmayan 96 sağlıklı kadından oluşan kontrol grubu incelenmiştir. Hasta ve kontrol grubunda yer alan bireyler Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgesinde doğan ve yetişen bireylerden seçilmiştir. Polimorfizmlerin analizi Light Cycler cihazı kullanılarak, erime eğrisi analizi ile gerçekleştirilmiştir.

Elde ettiğimiz bulgular *FGFR2* geni rs1219648 polimorfizminin Türk popülasyonunda erken yaş meme kanseri riski ile istatistiksel olarak ilişkili olduğunu ortaya koymuştur ( $p < 0,05$ ). Rs1219648 G alleli meme kanserli grupta daha yüksek frekansta bulunmuştur (OR 2,0098, %95 CI 1,3016-3,1032,  $p = 0,002$ ). Yabanıl AA genotipi referans olarak göz önüne alındığında, GG genotipleri için OR değerleri 5,2308 (%95 CI 1,9391 -14,1102),  $p = 0,001$  olarak saptanmıştır. Rs1042522 için yapılan analizler sonucunda GG genotipi referans olarak değerlendirildiğinde, rs1042522'nin CG genotipi için hesaplanan OR değeri 0,4196 (%95 CI 0,1941-0,9067),  $p = 0,027$ , olarak bulunmuştur. Bu bulgulara göre CG genotipinin Türk popülasyonunda erken yaş meme kanserinde

koruyucu bir faktör olduğu söylenebilir. Çalışmamızda bu polimorfizmler ile hastaların klinikopatolojik verileri arasında ilişki olup olmadığı da değerlendirilmiştir. İstatistiksel analizler sonucunda *FGFR2* geni ikinci intronunda yer alan rs1219648 polimorfizminin ER durumu, histolojik grad ve tümör çapları ile ilişkili olduğu saptanmıştır ( $p<0,05$ ). *Tp53* geninin dördüncü ekzonunda yer alan rs1042522 gen polimorfizmi ile ilgili analizlerde ise bu polimorfizmin sadece PgR durumu ile ilişki olduğu saptanmıştır ( $p<0,05$ ). Sonuçlarımızın doğrulanması için Türk toplumunda bu konuda yapılacak geniş çaplı yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Erken yaş meme kanseri, rs1219648, *FGFR2* geni, *Tp53* geni, rs1042522, Polimorfizm

**SUMMARY**  
**ASSOCIATION OF THE SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS IN**  
***FGFR2* AND *TP53* GENES WITH EARLY ONSET BREAST CANCER IN**  
**EASTERN AND SOUTHEASTERN TURKEY**

Early onset breast cancer rate has increased up to 25% in the developing countries. There are several studies that confirm that breast cancer cases of younger women have biological characteristics different from normal breast cancer cases and these patients should be studied separately. Recently, base changes that might have impact on breast cancer have been studied with GWAS but the number of studies on early onset breast cancer is very limited. The lack of necessary information about the younger patients prevents improvements about the diagnosis and treatment strategies targeting these patients.

Polymorphisms within intron 2 of the *FGFR2* gene rs1219648 and within exon 4 of the *Tp53* gene rs1042522 have been associated with postmenopausal breast cancer patients in many populations but there is no research on the impact of rs1219648 and rs1042522 on early onset breast cancer in the Turkish population. This study focused on 75 patients for rs1219648 analyses and 96 patients for rs1042522 analyses under the age of 40, who applied to Dicle University, Faculty of Medicine, Department of Pathology between the years of 2010 and 2015, and the control group was comprised of 96 women under 40 years of age who did not have history and family history for any type of cancer. Individuals in the patient and control groups were selected from people born and raised in the Eastern and Southeastern Anatolia regions. Melting curve analysis was used for identification of amplicons via Light Cycler.

Our results indicated that the rs1219648 polymorphism in the *FGFR2* gene was statistically associated with the risk of early-onset breast cancer in Turkish population ( $p < 0.05$ ). G allele of the rs1219648 was strongly prominent in breast cancer patients (OR: 2.0098, 95% CI 1.3016-3.1032,  $p = 0.002$ ). The rs1219648 was examined as a categorical variable related to the wild genotype (AA). The calculated OR was 5.2308 (95% CI 1.9391-14.1102),  $p = 0.001$ , for genotypes GG. When the GG genotype was considered as the reference for the analysis for rs1042522, the calculated OR value for the CG genotype of rs1042522 was found to be 0.4196 (95% CI 0.1941-0.9067),  $p = 0.027$ . These findings indicate that the CG genotype can be accounted for as a protective factor against early onset breast cancer in Turkish population. In our study, we have also examined the relation between these polymorphisms and clinicopathologic data of patients. As a result of

statistical analysis, we determined that there was a significant association between ER status, histological grade, tumor size and rs1219648 polymorphism located in the second intron of the *FGFR2* gene ( $p<0.05$ ). According to the analyses of rs1042522 polymorphism within exon four of the *Tp53* gene, it was determined that this polymorphism was only related to the PgR status ( $p<0.05$ ). In order to verify our results, a large scale new studies about this subject in Turkish population are needed to be performed.

**Keywords:** Early onset breast cancer, rs1219648, *FGFR2* gene, *Tp53* gene, rs1042522, Polymorphism



## ŞEKİLLER LİSTESİ

|                                                                                                                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1.1. Meme anatomisi (URL-1).....                                                                                                                          | 1  |
| Şekil 1.2. Lobüler karsinoma in situ (URL-3).....                                                                                                               | 4  |
| Şekil 1.3. Duktal karsinoma in situ (URL-4). ....                                                                                                               | 4  |
| Şekil 1.4. İnvaziv duktal karsinom (URL-5).....                                                                                                                 | 5  |
| Şekil 1.5. İnvaziv lobüler karsinom (URL-6).....                                                                                                                | 6  |
| Şekil 1.6. İnflamatuvar meme kanseri (URL-7).....                                                                                                               | 7  |
| Şekil 1.7. Meme kanseri alt tiplerinin genç yaş meme kanserli hastalarda dağılımı (Azim vd., 2014).....                                                         | 13 |
| Şekil 1.8. Yaşa göre meme kanseri alt türlerinin immünohistokimyasal yöntemler ile belirlenmesi .....                                                           | 13 |
| Şekil 1.9. Kanser hücrelerinin tümör oluşturmalarını sağlayan özellikleri (Hanahan ve Weinberg, 2011) .....                                                     | 18 |
| Şekil 1.10. FGFs ailesi alt grupları.....                                                                                                                       | 21 |
| Şekil 1.11. FGF-FGFR kompleksinin temel yapısı.....                                                                                                             | 24 |
| Şekil 1.12. <i>FGFR2</i> geninin lokalizasyonu (URL-9) .....                                                                                                    | 25 |
| Şekil 1.13. <i>Tp53</i> geninin lokalizasyonu (URL-10) .....                                                                                                    | 28 |
| Şekil 1.14. <i>Tp53</i> protein yapısı (Varna vd., 2011).....                                                                                                   | 29 |
| Şekil 1.15. Meme kanserinde somatik mutasyonların en sık görüldüğü genler (URL-11). 30                                                                          |    |
| Şekil 1.16. Meme kanserinde missense mutasyonların yapısı ve sıklığı (Walerych ve ark., 2012).....                                                              | 31 |
| Şekil 1.17. Tetramerik yapıdaki <i>Tp53</i> proteininin 3 boyutlu yapısında G360A, V217M, R72P, P47S polimorfizimlerinin gösterilmesi (Whibley vd., 2009) ..... | 33 |
| Şekil 3.1. Hasta grubunda yer alan olgularda <i>FGFR2</i> geni 2.intronda yer alan rs1219648 polimorfizim analizine özgün erime eğrisi.....                     | 48 |
| Şekil 3.2. Hasta grubunda yer alan olgularda <i>FGFR2</i> rs1219648 genotip (AA; AG; GG) ve allel (A;G) dağılımı .....                                          | 48 |
| Şekil 3.3. Kontrol grubuna ait olgularda <i>FGFR2</i> geni 2.intronda yer alan rs1219648 polimorfizm analizine özgün erime eğrisi .....                         | 50 |

|                                                                                                                                |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 3.4.</b> Kontrol grubunda yer alan olgularda <i>FGFR2</i> rs1219648 genotip (AA; AG; GG) ve allel (A;G) dağılımı..... | 50 |
| <b>Şekil 3.5.</b> Hasta grubuna ait olgularda <i>Tp53</i> rs1042522 polimorfizm analizine özgün erime eğrisi .....             | 51 |
| <b>Şekil 3.6.</b> Hasta grubunda yer olgularda <i>Tp53</i> rs1042522 genotip (GG; CG; CC) ve allel(G;C) dağılımı.....          | 52 |
| <b>Şekil 3.7.</b> Kontrol grubuna ait olgularda <i>Tp53</i> rs1042522 polimorfizm analizine özgün erime eğrisi .....           | 53 |
| <b>Şekil 3.8.</b> Kontrol grubunda yer olgularda <i>Tp53</i> rs1042522 genotip (GG; CG; CC) ve allel (G;C) dağılımı .....      | 54 |



## TABLÖLAR LİSTESİ

|                                                                                                                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 1.1.</b> FGFR2 izoform ve ligandları .....                                                                                                                                 | 26 |
| <b>Tablo 2.1.</b> <i>FGFR2</i> geni rs1219648 ve <i>Tp53</i> geni rs1042522 SNP analizleri için hazırlanan PCR reaksiyon karışımları.....                                           | 40 |
| <b>Tablo 2.2.</b> rs1219648 ve rs1042522 SNP analizleri için Real-Time PCRprotokolü .....                                                                                           | 40 |
| <b>Tablo 3.1.</b> <i>FGFR2</i> rs1219648 polimorfizm analizi için çalışmaya dahil edilen hastalara ait meme tümörlerinin histomorfolojik alt tipleri .....                          | 42 |
| <b>Tablo 3.2.</b> <i>FGFR2</i> rs1219648 polimorfizm analizi çalışmaya dahil edilen hastaların sosyodemografik ve tümör özellikleri .....                                           | 43 |
| <b>Tablo 3.3.</b> <i>Tp53</i> rs1042522 polimorfizm analizi için çalışmaya dahil edilen hastalara ait meme tümörlerinin histomorfolojik alt tipleri .....                           | 45 |
| <b>Tablo 3.4.</b> <i>Tp53</i> rs1042522 polimorfizm analizi çalışmaya dahil edilen hastaların sosyodemografik ve tümör özellikleri .....                                            | 46 |
| <b>Tablo 3.5.</b> <i>FGFR2</i> geni rs1219648 polimorfizmi analizinde yer alan hasta ve kontrol gruplarının Hardy-Weinberg eşitliğine uygunluğu.....                                | 54 |
| <b>Tablo 3.6.</b> <i>Tp53</i> geni rs1042522 polimorfizmi analizinde yer alan hasta ve kontrol gruplarının Hardy-Weinberg eşitliğine uygunluğu.....                                 | 55 |
| <b>Tablo 3.7.</b> Erken yaş meme kanserinde hasta ve kontrol gruplarında <i>FGFR2</i> rs1219648 polimorfizmi genotip dağılımları, allel frekansları, OR ve <i>p</i> değerleri ..... | 56 |
| <b>Tablo 3.8.</b> Erken yaş meme kanserinde hasta ve kontrol gruplarında <i>Tp53</i> rs1042522 polimorfizmi genotip dağılımları, allel frekansları, OR ve <i>p</i> değerleri .....  | 57 |
| <b>Tablo 3.9.</b> <i>FGFR2</i> rs1219648 polimorfizmin ER, PgR ve Her-2 üzerine etkisi .....                                                                                        | 58 |
| <b>Tablo 3.10.</b> <i>FGFR2</i> rs1219648 tek nükleotid polimorfizminin histolojik grad üzerine etkisi .....                                                                        | 59 |
| <b>Tablo 3.11.</b> <i>FGFR2</i> rs1219648 tek nükleotid polimorfizminin tümör çapları üzerine etkisi .....                                                                          | 60 |
| <b>Tablo 3.12.</b> <i>FGFR2</i> rs1219648 tek nükleotid polimorfizminin tümör lokalizasyonu ile ilişkisi .....                                                                      | 61 |
| <b>Tablo 3.13.</b> <i>Tp53</i> rs1042522 polimorfizmin ER, PgR ve Her-2 üzerine etkisi .....                                                                                        | 62 |
| <b>Tablo 3.14.</b> <i>Tp53</i> rs1042522 tek nükleotid polimorfizminin histolojik grad üzerine etkisi                                                                               | 63 |
| <b>Tablo 3.15.</b> <i>Tp53</i> rs1042522 tek nükleotid polimorfizminin tümör çapları üzerine etkisi .                                                                               | 64 |

|                                                                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 3.16.</b> <i>Tp53</i> rs1042522 tek nükleotid polimorfizminin tümör lokalizasyonu ile ilişkisi ..... | 65 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|



## KISALTMALAR LİSTESİ

|                               |                                                                           |
|-------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|
| <b>A</b>                      | : Adenin                                                                  |
| <b>AKT</b>                    | : Protein kinaz B                                                         |
| <b>C</b>                      | : Sitozin                                                                 |
| <b>DAG</b>                    | : Diaçilgliserol                                                          |
| <b>DCIS</b>                   | : Ductal karsinoma insitu                                                 |
| <b>DNA</b>                    | : Deoksiribonükleik asit                                                  |
| <b>dNTP</b>                   | : Deoksi nükleotit trifosfat                                              |
| <b>ER</b>                     | : Östrojen reseptörü                                                      |
| <b>ERBB2</b>                  | : Receptor tyrosine-protein kinase erbB-2                                 |
| <b>FGF</b>                    | : Fibroblast büyüme faktörü                                               |
| <b>FGFR</b>                   | : Fibroblast büyüme faktör reseptörü                                      |
| <b>FGFR2</b>                  | : Fibroblast büyüme faktörü reseptörü 2                                   |
| <b>ERK</b>                    | : Ekstraselüler sinyalle düzenlenen kinaz                                 |
| <b>G</b>                      | : Guanin                                                                  |
| <b>GRB2</b>                   | : Büyüme faktörü reseptörüne bağlı protein 2                              |
| <b>GWA</b>                    | : Genom çapında ilişkilendirme (Genome Wide Asosiasyon)                   |
| <b>HER-2</b>                  | : İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2                              |
| <b>HSPG</b>                   | : Heparan sülfat proteoglikan                                             |
| <b>IARC</b>                   | : Uluslararası kanser araştırma ajansı                                    |
| <b>IBC</b>                    | : İnflamatuvar meme kanseri                                               |
| <b>IDC</b>                    | : İnvaziv duktal karsinom                                                 |
| <b>ILC</b>                    | : İnvaziv lobüler karsinom                                                |
| <b>JAK</b>                    | : Janus kinaz ailesi                                                      |
| <b>LCIS</b>                   | : Lobüler karsinoma insitu                                                |
| <b>MAPK</b>                   | : Mitojen aktive edilmiş protein kinaz (Mitogen Activated Protein Kinase) |
| <b>PCR</b>                    | : Polimeraz zincir reaksiyonu                                             |
| <b>PI3K</b>                   | : Phosphoinositide 3-kinase                                               |
| <b>PKC</b>                    | : Protein kinaz C                                                         |
| <b>PgR</b>                    | : Progesteron reseptörü                                                   |
| <b>PLC<math>\gamma</math></b> | : Fosfolipaz C $\gamma$                                                   |

|             |                                                               |
|-------------|---------------------------------------------------------------|
| <b>PTB</b>  | : Fosfotirozin bağlayan (Phosphotyrosine Binding)             |
| <b>PTK</b>  | : Protein tirozin kinaz                                       |
| <b>RTK</b>  | : Reseptör tirozin kinaz (Receptor Tyrosine Kinase)           |
| <b>RTK</b>  | : Reseptör tirozin kinaz                                      |
| <b>SNP</b>  | : Tek nükleotit polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphism) |
| <b>STAT</b> | : Transkripsiyonun sinyal ileticileri ve aktivatörleri        |
| <b>T</b>    | : Timin                                                       |
| <b>Tp53</b> | : Tümör protein 53                                            |
| <b>vd.</b>  | : Ve diğerleri                                                |

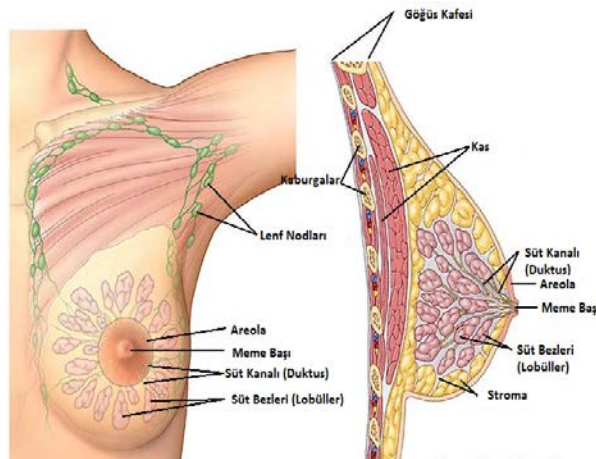


# 1. GİRİŞ

## 1.1. Meme Anatomisi

Özelleşmiş bir apokrin bez olan meme bezi, vücut ter bezlerinden türemiş olup (Schenke vd., 1984; Krstic vd., 2004) meme dokusu epitelyal parankim, kas, yağ ve bağ dokusu, lenf ve sinir sisteminden oluşmuştur (Drake vd., 2009). Yetişkin bayanlarda 2. ile 7. kaburgalar arasında yerleşmiş olan meme bezi ön göğüs duvarının pektoral fasyasının yüzeysel ve derin tabakaları arasında bulunur. Meme çapı yaklaşık olarak 10-12 cm olup, merkezi bölgede en fazla 5-7 cm kalınlığındadır. Bir memenin ağırlığı laktasyondayken 400-500 grama ulaşırken, laktasyonda olmayan bir memenin ağırlığı sadece 150-200 gram civarındadır (Spratt vd., 1995). Memelerin orta bölümünde meme başı ve areola bulunur. Bu bölge daha fazla pigment içerdiğinden meme derisinden daha koyu renktedir. Östrojen seviyesinin artışı ile birlikte renk koyuluğu da artmaktadır (Şekil 1.1) (Spratt vd., 1995).

Gelişmiş meme elemanları; asinüs, duktus ve stromal elemanlardır. Asinüslerin içleri küboid ya da silindirik epitel ile döşeli olup, memenin salgı birimi olarak görev yaparlar. Memenin dış bölgesi bağ dokusu, kan ve lenf damarları ile sarıdır. Asinüsler birleşerek lobülleri, lobüller de bir araya gelerek lobları oluştururlar. Her lob 20-40 kadar lobül içerir. Böylece, her bir duktus bir meme lobunu ve 20-40 kadar lobülü drene eder. Her bir lobülde toplatıcı duktus çevresinde gruplaşmış olan sayıları 10-100 arasında değişen asinüsler bulunur. Meme bezinin esas yapısal birimi olan lobüllerin sayısı genç kadınlarda fazla iken menopoza sonra azalma gösterir (Spratt vd., 1995; Kalaycı vd., 2002). Erkeklerde ise meme rudimenter olup, sadece küçük kanallardan oluşmaktadır (Drake vd., 2009).



Şekil 1.1. Meme anatomisi (URL-1)

## 1.2. Erken Yaş Meme Kanseri ve Epidemiyoloji

Meme kanseri memedeki süt kanalları ya da lobüllerde sıralanan epitelyal hücrelerden köken alan malign bir proliferasyondur. Meme kanseri dünyada akciğer kanserinden sonra en sık görülen, kadınlarda ise ilk sırada yer alan kanser türüdür. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) GLOBOCAN 2008 veritabanı tahminine göre, 2020 yılında tüm dünyada bayan meme kanserli yeni hasta sayısının 1.979.022, Türkiye’de ise 19.205 olacağı tahmin edilmektedir (URL-2).

Geç klinik belirtilerin gözlemlendiği ve tedaviye cevap oranının düşük olduğu gelişmekte olan ülkelerde meme kanserinin tedavisi ve kontrol altına alınmasında teşhis yaşı önemli bir prediktif faktördür. Meme kanseri 19 ile 39 yaş arası adolesan ve genç yetişkinlerde en sık görülen kanser türlerinden biri olup, tüm genç yetişkin kanserlerin %14’ ünü ve meme kanseri vakalarının %7’ sini oluşturmaktadır (Assi vd., 2013; Tichy vd., 2013) . Amerika Birleşik Devletleri’ nde yılda yaklaşık 230.000 meme kanseri vakası rapor edilmekte ve bunlardan 13.000 ‘ninin 40 yaşın altı kadınlar olduğu bildirilmektedir (Anders vd., 2009). Amerika Birleşik Devletleri gibi gelişmiş ülkelerde meme kanserine yakalanan yeni hasta sayısı sabit kalmakta olup, ölüm oranları yıllar içerisinde azalmaktadır (Ginsburg ve Love, 2011). Her ne kadar meme kanseri insidansı gelişmiş ve batı ülkelerinde en yüksek seviyede olsa da, yeni kanser vakalarının çoğunluğu insidansın yıllık %5’ lik artışıyla batı ülkeleri dışındaki bölgelerde görülmektedir (Porter 2008; Akarolo-Anthony vd., 2010) . Önümüzdeki 10 yıl içerisinde her dört meme kanseri ölümlerinden üçünün düşük ile orta gelirli ülkelerde görüleceği tahmin edilmektedir (Ginsburg ve Love, 2011). Bir çok çalışma batı ülkeleri dışında kalan bölgelerde meme kanseri insidansındaki yıllık artışın özellikle genç bayanlar arasında gerçekleştiğini göstermektedir (Assi vd., 2013). Batı ülkelerinde kırk yaş altı meme kanseri vakaları tüm meme kanseri vakalarının %2 ile %10’nu oluşturmaktadır ve bu populasyonlarda oran değişmeyip sabit kalmaktadır (Johnson vd., 2013). ABD’ de de invaziv meme kanseri oranları zenci bayanlarda beyazlara oranla daha yüksek olmasına karşılık, 40 yaş altı meme kanseri görülme sıklığı zenci bayanlarda daha düşüktür (Anderson vd., 2008; Parise vd., 2009). Asya ülkelerinde ise erken yaş meme kanseri oranı %25’ e yaklaşmaktadır (Agarwal vd., 2007). Kore’ de ise meme kanseri genç yetişkin bayanlarda %4,9’ luk oranla erişkin bayanlarda sıklıkla rastlanılan kanser türlerinin ilk beşi arasında yer almakta ve insidansı her yıl artmaktadır (Lee vd., 2007;

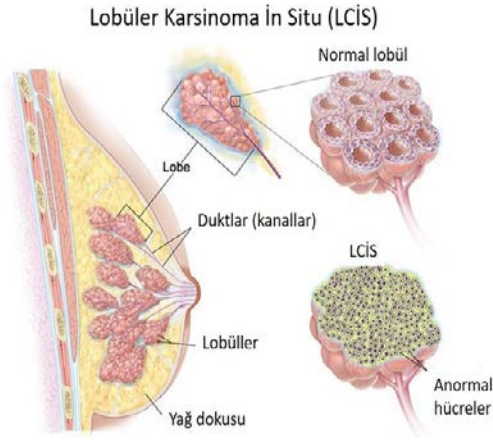
Moon vd., 2014). Bu eğilim Hong Kong’ ta da gözlenmekte olup, bu ülkede genç bayanlarda yıllık artış %3,6’ ya ulaşırken ileri yaş bayanlarda aynı artışın gözlenmemesi dikkat çekmektedir (Leung vd., 2002). Benzer şekilde Tayvanlı kadınlarda meme kanseri oranı son 20 yılda hızla artmakta ve meme kanserli vaka sayısı Amerikalı beyaz bayanlardaki insidansa ulaşmaktadır (Shen vd., 2005). Brezilya gibi Güney Amerika ülkelerinde genç bayanlarda görülen meme kanseri oranı endişe verici bir oranda artmaktadır. 1980’ li yıllarda 30 ile 34 yaş arası meme kanseri teşhisi konmuş vaka sayısı her 100.000 bayandan 19 iken günümüzde 27.6’ ya ulaşmıştır (Carraro vd., 2013). İran’ da meme kanseri vakalarının %23’ ünün 40 yaş altı bayanlardan oluştuğu gözlenmiştir (Eivazi-Ziaei vd., 2011). Benzer şekilde, Mısır’ da meme kanserine yakalanan bayanların yaklaşık %16’ sını 40 yaş altı bayanlar oluşturmakta olup (Salhia vd., 2011), Cezayir’ de ise 35 yaş altı erken yaş meme kanseri vakaları tüm vakaların %11’ ni oluşturmaktadır (Uhrhammer vd., 2008). Afrika’da sicil kayıtları ve nüfus verileri eksikliği nedeniyle meme kanseri vakalarının doğru bir şekilde değerlendirilmesi zor olup, düşük orta yaş (< 20 ) nüfusunun varlığı nedeniyle genellikle genç bayanları etkilediği düşünülmektedir (Akarolo-Anthony vd., 2010). Örneğin Nijerya’ da risk altındaki kadınların sayısı 1990 yılında yaklaşık 24.500.000 iken, 2010 yılında yaklaşık 40.000.000’ dur. 2020 yılında ise 50.000.000’ a yükseleceği tahmin edilmektedir (Akarolo-Anthony vd., 2010).

### **1.3. Meme Kanserinin Histolojik Sınıflandırılması**

Meme kanserinde tümör özelliklerinin belirlenmesi hastalığın prognozu ve en etkin tedaviyi belirlemede büyük önem taşımaktadır. Tümörün histopatolojik türü en önemli verilerden biridir. Bu amaçla yapılmış sınıflandırmalar arasında en yaygın olarak kullanılanı Dünya Sağlık Örgütü’nün (WHO) 2003 yılında yayınladığı sınıflandırma olup, bunlar arasından en sık görülen meme kanseri çeşitleri aşağıda belirtilmiştir.

#### **1.3.1. Lobüler Karsinoma In Situ (LCIS)**

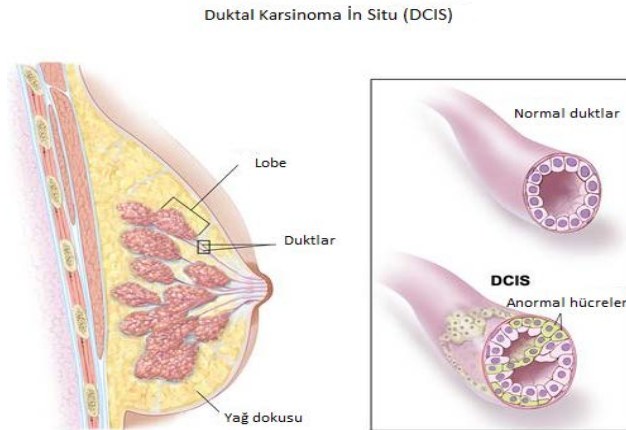
“In situ” yayılma göstermeyen, oluştuğu alanın dışına çıkmayan kanser türlerini tanımlamak için kullanılır. Bu tür kanserler memenin terminal duktal lobüler birimlerinden kaynaklanırlar. Meme karsinomlarının %0,3-0,8’ ini oluştururlar (Johnson-Thompson ve Guthrie, 2000) ve %25-35 oranında invazif meme kanserine değişim gösterirler (Aydiner vd., 2010). Lobüler karsinoma in situ malign olarak değerlendirilmeyip kuvvetli tümör markırı olarak kabul edilir (Aydiner vd., 2010) (Şekil 1.2).



**Şekil 1.2.** Lobüler karsinoma in situ (URL-3)

### 1.3.2. Duktal Karsinoma In Situ (DCIS)

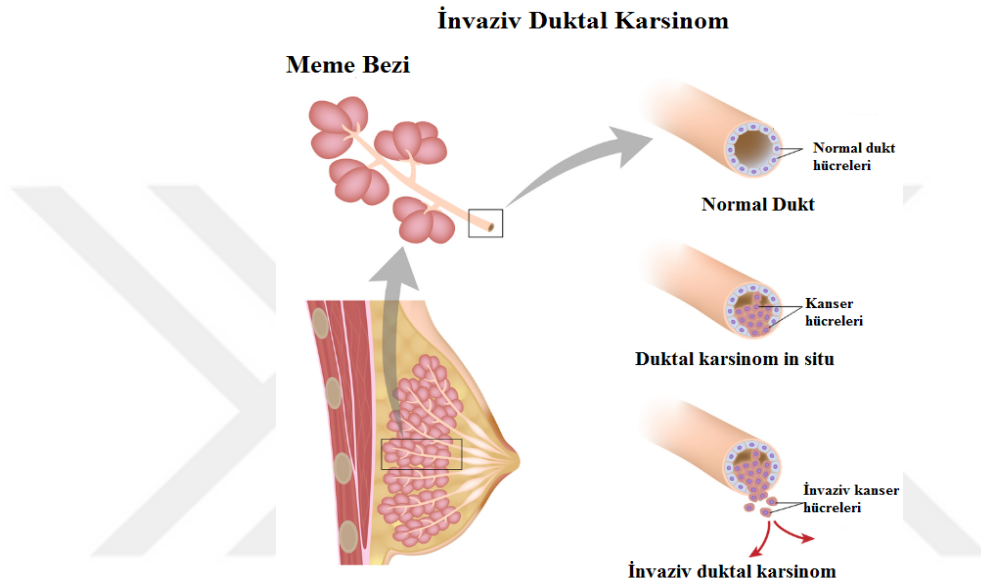
En sık görülen non-invaziv meme kanseri türüdür. Küçük duktuslardaki epitelin proliferasyonu sonucu ortaya çıkar. Kanser hücreleri ilk evrelerde pleomorfizm, mitoz ya da atipi göstermediğinden ilk etapta atipik hiperplaziden ayırt edilmesi zordur. Meme başında kanlı akıntı, elle muayene ile kitle şeklinde saptanırlar (Aydiner vd., 2010) (Şekil 1.3).



**Şekil 1.3.** Duktal karsinoma in situ (URL-4).

### 1.3.3. İnvaziv Duktal Karsinom (IDC)

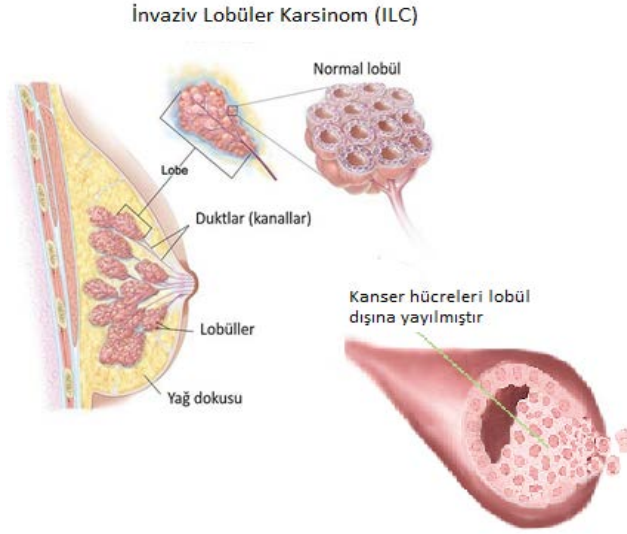
Meme kanserinin en yaygın görülen türüdür. Memede duktusta başlar, kanal duvarlarını geçerek meme yağ dokusuna doğru büyür. Bu durumda yayılma özelliği gösterebilir ve lenf sistemi veya kan dolaşımı ile metastaz yapabilir. Her 10 invaziv meme kanserinin 8' ini invaziv duktal karsinom oluşturur ( Sharma vd., 2010) (Şekil 1.4).



Şekil 1.4. İnvaziv duktal karsinom (URL-5)

### 1.3.4. İnvaziv Lobüler Karsinom (ILC)

Lobüllerde başlar ve vücudun diğer bölgelerine metastaz yapabilir. Her 10 invaziv meme kanserinden 1' ni invaziv lobüler karsinom türü oluşturur. İnvaziv duktal karsinoma oranla mamografi ile tespit edilme oranı düşüktür (Sharma vd., 2010) (Şekil 1.5).

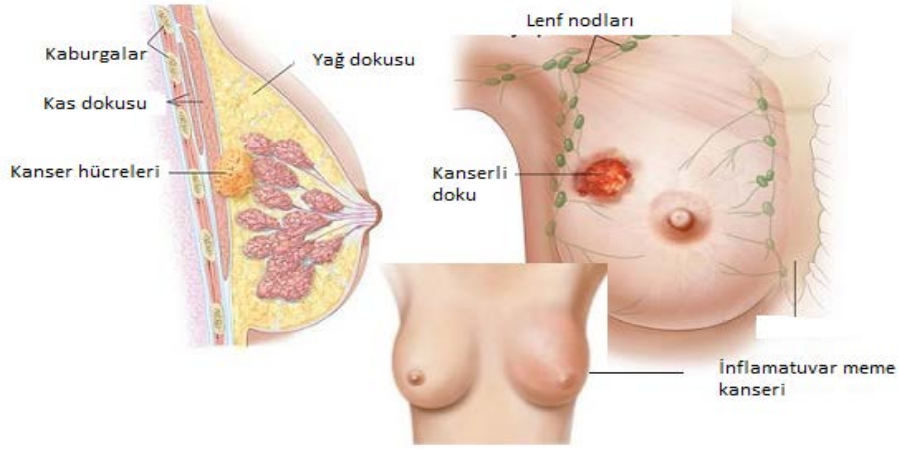


Şekil 1.5. İnvaziv lobüler karsinom (URL-6)

### 1.3.5. İnflamatuvar Meme Kanseri (IBC)

Kanser hücrelerinin lenf damarlarını tıkaması ve meme derisinin tutulumu ile kendini gösteren en agresif meme kanseri türüdür. Sıklıkla memede kitle olmadan ciltte diffüz eritem, ödem ve portakal kabuğu görünümü olan klinikopatolojik özellikler göstermektedir (Kebudi ve Deveci, 2012). ABD’de inflamatuvar meme kanseri sıklığının tüm invazif meme kanserleri içinde %1-6 arasında değiştiği rapor edilmiştir (Barsky vd., 2009; Gonzales vd., 2010). Fas, Cezayir, Tunus ve Mısır gibi dünyanın belli bölgelerinde ise, meme kanserlerinin yaklaşık %10-15’ ini inflamatuvar meme kanseri oluşturmaktadır (Mourali ve ark., 1980). Görülme sıklığı nadir olsa da hastalık son derece hızlı ilerlemektedir. Kendine özgü patolojik yapısı ile, en düşük sağkalım oranına sahiptir (Sharma vd., 2010, Kebudi ve Deveci, 2012) (Şekil 1.6).

### İnflamatuvar Meme Kanseri (IBC)



Şekil 1.6. İnflamatuvar meme kanseri (URL-7)

#### 1.4. Meme Kanserinde Tümör Özelliklerinin Prognoz ile İlişkisi

Tümör çapı, histolojik tip, aksiller lenf nodu tutulumun olup olmadığı, ER ve Her-2 varlığı/yokluğu, grade, büyüme faktörleri ve reseptörleri gibi tümör özellikleri meme kanseri prognozunu ve uygulanacak uygun tedaviye yanıtı etkilemektedir (Pusztai vd., 2006).

##### 1.4.1. Primer Tümör Boyutu

Tümör boyutu ile prognoz yakından ilişkiliyken, primer tümör büyüklüğü ile uzak metastaz gelişimi arasında sıkı bir ilişki bulunmaktadır.

##### 1.4.2. Histolojik tip

Metaplastik, inflamatuvar ve lipid bakımından zengin kanser varlığı kötü prognozu göstermektedir.

##### 1.4.3. Aksiller Lenf Nodu Tutulumu

Aksiller lenf nodlarının metastaz içerip içermediği, içermesi durumunda lenf nodu sayısı meme kanserinde prognozu etkileyen en önemli faktörlerin başında gelir. Aksiller

lenf nodu tutulumu tümör çapı ile doğru orantılı olarak artar. T1a tümörlerde aksiller lenf nodu metastazı riski %8 iken, T1b tümörlerde bu olasılık %12' e çıkmaktadır (Shaffrey vd., 2004).

#### **1.4.4. Östrojen ve Progesteron Reseptörleri**

Bir dizi kadınsal hormonlar meme kanseri risk artışı ile ilişkilendirilmiştir. Östrojen ve progesteron hormon reseptörlerinin pozitifliği meme kanserinde hormon tedavisi ve kemoterapiye cevap ile yakından ilişkilidir. Bu nedenle östrojen ve progesteron reseptörlerinin belirlenmesi standart bir uygulamadır. Meme kanserlerinin çoğunluğu östrojen pozitif olup (ER +), östrojen varlığı büyümelerini teşvik eder. Bu tür tümörler daha az agresif olup, kanser hücreleri hormon reseptörleri bloke edilerek kolayca tedavi edilebilirler. (Fabian ve Kimler, 2005; Deroo ve Korach, 2006).

Östrojenin meme kanseri üzerindeki etkisini açıklayan iki hipotez ileri sürülmüştür (Deroo ve Korach, 2006). Bunlardan ilki östrojenin reseptörlere bağlanmasının meme hücrelerinin proliferasyonunu stimüle ettiği, bunun DNA replikasyonunda artışa neden olduğu, bu artışında replikasyon hataları sonucu mutasyon olasılığını artırdığıdır (Deroo ve Korach, 2006). İkincisi ise östrojen metabolizması sonucu oluşan yan ürünlerin DNA üzerinde gösterdikleri genotoksik etkilerdir (Deroo ve Korach, 2006).

ER(+) meme kanseri tedavisinde genellikle tamoxifen ve raloxifene gibi seçici östrojen reseptör modülatörleri (SERMs) kullanılır (Deroo ve Korach, 2006; Fabian ve Kimler, 2005). Her iki ilaç da dokuya spesifiktir ve memeye özgü antogonistik etki gösterirler (Deroo ve Korach, 2006). ER(+) meme kanserinin çoğu anti-hormon terapsine cevap verirken, ER(-) meme kanserleri bu tür tedavilere cevap vermezler.

Progesteronun meme kanseri üzerindeki etkisine yönelik çalışmalar östrojen kadar detaylı değildir. Progesteron reseptör pozitif (PgR(+)) hücrelerde progesteron artışının hücre proliferasyonunu hızlı bir şekilde stimüle ettiği belirtilmiştir (Lange ve Yee, 2008). Bunun yanında progesteronun pro-survival etkisinin olduğu (Moore vd., 2006) ve tümör hücrelerinde farklılaşmayı tetiklediği ortaya konmuştur (Sartorius vd., 2005).

#### **1.4.5. Büyüme Faktörleri ve Reseptörleri**

Her-2 neu (c-erbB-2) reseptörü prognostik önemi en çok araştırılan büyüme reseptörüdür. 17. kromozomda yer alan bu gen epidermal growth faktör ailesinden bir

glikoproteini kodlar. İnsan epidermal büyüme faktörünün (Her-2) aşırı ekspresyonu meme tümörlerinde yaygın olup her 5 meme kanseri vakasından 1'inde görülür (Mitri vd., 2012). Her-2'nin aşırı ekspresyonu hücreler tarafından alınan büyüme sinyallerinin artışına neden olur. Bu da tümör hücrelerinin proliferasyonuna ve büyümelerine etki ederek meme dokusunda onkojeneze katkıda bulunur. Her-2' nin aşırı ekspresyonunun gözlemlendiği tümörler nispeten kötü prognoza sahiptir, agresif özellikler sergiler ve sağkalım oranları oldukça düşüktür (Mitri vd., 2012).

Her-2 aşırı ekspresyonu gözlenen tümörlerin tedavisinde monoklonal antikor olan trastuzumab kullanılır. Trastuzumab tümör hücreleri yüzeyinde bulunan Her-2'ye bağlanarak reseptörleri bloke eder. Bu şekilde büyüme sinyallerinin tümör hücreleri tarafından alınmasını engellemiş olur.

### **1.5. Meme Kanserinin Moleküler Sınıflandırması**

Moleküler tekniklerin gelişmesiyle beraber meme kanserinden sorumlu genlerin ekspresyon profilleri belirlenmiş olup, moleküler sınıflama büyük önem kazanmıştır (Perou vd., 2000). Meme tümörünün moleküler sınıflaması sonucu klinik gidişatları farklı olan luminal A, luminal B, bazal tip, normal ve Her-2 pozitif olmak üzere 5 intrinsik alttipi tanımlanmıştır. Hormon reseptör negatif olanların hormon reseptör pozitif olanlara göre (ER ve/veya PgR pozitif olan luminal tümörlerde) nüks ve mortalite riski daha yüksektir (Prat vd., 2013). Luminal A ve B tümörleri Ki-67 oranına göre ayrılır; Luminal A'da oran 14 iken, B de >%14'dür (Kim vd., 2012). Lumina A ve B tümörler endokrin tedavilere benzer cevaplar verselerde, luminal A tümörlerin prognozu luminal B den daha iyidir (Kim vd., 2012; Prat vd., 2013). Triple negatif meme kanseri ise immünohistokimyasal boyamalar ile belirlenir ve bu tip tümörlerde ER, PgR ve Her-2 negatiftir. Bunlar ER, PgR ve Her-2 durumu belirlenmiş meme tümörlerinin %10 ile %17' sini oluştururlar. Prognozu hormon reseptör pozitif olanlara göre daha kötü olup, adjuvan kemoterapi gerektirir (Yenidünya vd., 2010).

### **1.6. Meme Kanserinde Evreleme**

Meme kanserinde tümörün yayılımı ve ciddiyeti konusunda bilgi edinmek amacıyla belirli standartlara göre tümör evreleme sistemi kullanılır. Tümör boyutu (T), aksiller lenf nodlarına yayılım (N) ve uzak bölgelere yayılım (M) TNM evreleme

sisteminde tümörleri sınıflamak için kullanılan kriterlerdir. İlgili kriterler önceden belirlenmiş tümör özellikleri ile beraber değerlendirilerek tümör için son TNM Evresi hesaplanır. 2003 yılında AJCC (American Joint Committee On Cancer) tarafından yayınlanan meme kanserinde TNM sınıflandırması ve evrelemesi dikkate alınarak evreleme yapılır (Ferahman, 2006).

### **1.7. Erken Yaş Meme Kanserinde Risk Faktörleri**

Genel olarak gelişmekte olan ülkelerde populasyonun genç bireylerden oluşmasına bağlı olarak, meme kanseri tanı yaşının Avrupa ve Amerika' ya oranla daha düşük olduğu saptanmıştır (Gewefel ve Salhia, 2014). Doğum yapma sayısı, düşük, menarş ve menopoz başlama yaşı, emzirme oranının azalması, vücut kitle indeksinde artış, yağlı diyetler, alkol tüketiminin artması gibi yaşam biçimlerinin benimsenmesi düşük ve orta gelirli ülkelerde genç popülasyonda meme kanseri insidansını arttıran risk faktörlerinin başında gelir (Gabriel ve Domchek, 2010; Gewefel ve Salhia, 2014) . Bunlara ek olarak meme kanseri risk faktörlerinin ekonomik kalkınma ile ilişkili olduğu ve bu eğilimin gelecek yıllarda da devam edeceği öngörülmektedir.

Gecikmeli doğum (ilk doğum yapma yaşının 30 yaş ve üzeri olması durumu) 35 yaş üzeri bayanlarda erken yaş meme kanserine yakalanmada en önemli risk faktörlerinden biri olarak tanımlanmaktadır. Aynı şekilde erken yaşta gebelik ve doğum sayısının yüksek olması, toplam menstrüal düngü sayısının azalmasına neden olduğundan meme kanseri riskini azaltmaktadır (Gabriel ve Domchek, 2010).

Bir çok çalışma endokrin bozucu kimyasalların çoğunun insan yapımı böcek ilacı, metal katkı maddeleri, gıda ve kişisel bakım ürünlerinde yoğun olarak bulunduğunu, bayanlarda ve erkeklerde üreme işlevinin değişmesine neden olduğu ve dichlorodiphenyl-trichloroethane benzeri meme karsinojenleri ile beraber erken yaş meme kanseri riskini arttırdığını ortaya koymuştur (Teitelbaum vd., 2003; Cohn ve., 2007) .

Erken yaş meme kanserine yakalanmada alkol kullanımının etkin bir faktör olduğu düşünülmektedir. Alkol tüketiminin östradiol serum düzeylerini yükselttiği bilinmektedir. Birçok çalışmada orta düzeyde alkol alımının (her gün 1-2 kadeh), meme kanseri insidansında %30-50 oranında artışa neden olduğu gösterilmiştir (Terry vd., 2006).

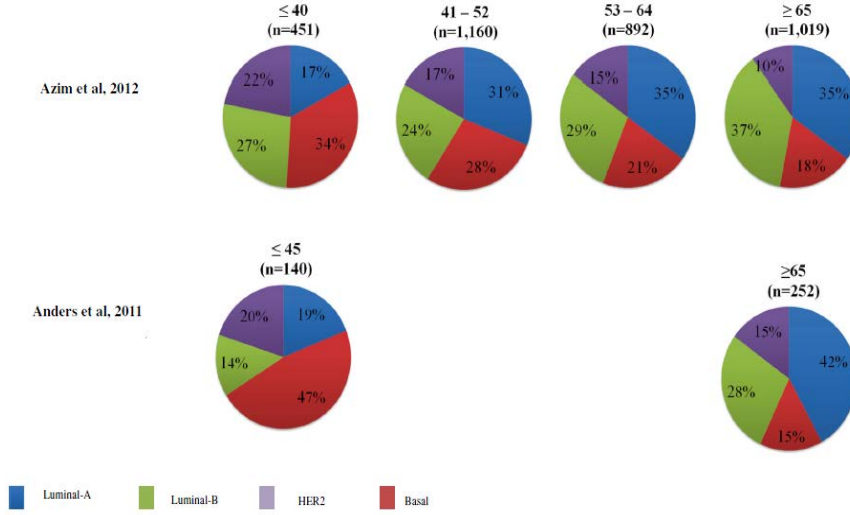
Doğum kontrol haplarının kullanımının meme kanseri riskini artırabileceği düşünülse de bu konu ile ilgili farklı görüşler mevcuttur. 10 yıl önce doğum kontrol hapi kullanmayı

bırakmış kadınlarda bu riskin tamamen ortadan kalktığına işaret eden raporlar mevcuttur (Somunoğlu, 2007).

Genetik faktörler genç erişkin bayanlarda meme kanserine yakalanma oranlarını önemli ölçüde etkileyen risk faktörleri arasında sıralanmaktadır. *BRCA1*, *BRCA2* ve *Tp53* (tümör protein 53) genlerinde meydana gelen mutasyonlar, erken yaş meme kanserlerinden önemli ölçüde sorumludurlar (Carraro vd., 2013). *Tp53* gen mutasyonlarının görülme sıklığı çok düşük olmasına rağmen, 20 ile 40 yaş arası genç bayanlarda görülen Li-Fraumeni sendromlu meme kanserinden sorumludurlar (Nichols, 2001). Özellikle ailesel öyküsü olan 40 yaş altı meme kanserli bayanlara *BRCA1/BRCA2* mutasyon testlerini uygulamaları önerilir. Bu güne kadar yapılmış çok sayıda çalışmada, genç erişkin meme kanserli bayanlarda *BRCA1/BRCA2* gen mutasyon prevalansının önemli derecede yüksek olduğu gösterilmiştir. İngiltere’ de genç erişkin bireylerdeki meme kanserlerinin %13’ ü *BRCA1*ve *BRCA2* mutasyonlarından kaynaklanırken, 40 ile 49 yaş arası meme kanseri teşhisi konmuş bayanlarda sadece %2.2 *BRCA1* ve *BRCA2* mutasyonları tespit edilmiştir (Peto vd., 1999). ABD’ de yahudi bayanlarda diğer bayanlara oranla meme kanseri görülme riskinin daha yüksek olduğu saptanmıştır (Egan vd., 1996). Bu risk artışının da Doğu Avrupa kökenli yahudi bayanlarda (Aşkenazi yahudileri) *BRCA1* ve *BRCA2* gen mutasyonlarının prevalansının yüksekliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ancak Aşkenazi kökenli meme kanserli genç erişkin yahudi bayanlarda yapılan bir çalışma *BRCA1* ve *BRCA2* gen mutasyon prevalansının meme kanserli normal genç erişkin bayanlardaki oranla (%13) eşit olduğunu ortaya koymuştur (Warner vd., 1999; Peto vd., 1999). Karmaşık genetik bir zemin barındıran Brezilya popülasyonunun, ailesel öyküsü mevcut erken yaş meme kanserli hastaların moleküler portreleri belirlenmiş, hormon reseptör (HR) negatif ve triple negatif tümöre sahip olmalarının *BRCA1* gen mutasyonlarını taşıma risklerini artıran iki önemli faktör olduğu saptanmıştır (Carraro vd., 2013). Bu nedenle Brezilya’ da ailesel öyküsü olan HR-negatif ve triple negatif tümörlü hastalara *BRCA1* mutasyon taraması tavsiye edilir (Carraro vd., 2013). Diğer orta penetranslı meme kanserinden sorumlu genler arasında *CHEK2*, *ATM*, *NBS1*, *RAD50*, *BRIP1*, ve *PALB2* genleri yer almakta olup, meme kanserine yakalanmada 2 ile 4 kat risk artışı ile ilişkilendirilmişlerdir (Gewefel ve Salhia, 2014). Ancak ilgili çalışmaların çoğu *BRCA1* ve *BRCA2* genlerine yoğunlaştığından, erken yaş meme kanseri riskini belirlemek amacıyla geliştirilen genetik testler *BRCA1* ve *BRCA2* genlerinin taranmasına yöneliktir (Gewefel ve Salhia, 2014).

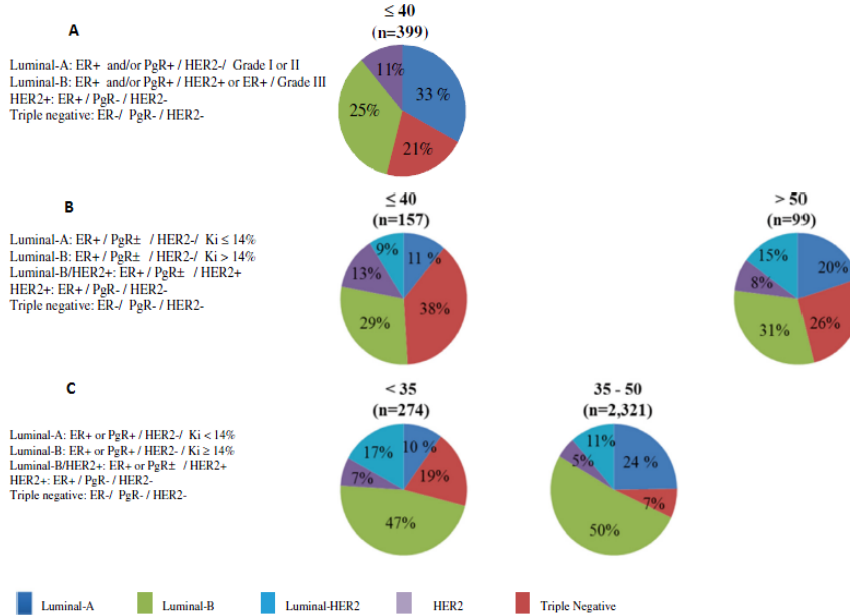
## 1.8. Erken Yaş Meme Kanserinin Klinikopatolojik Özellikleri

Klinikopatolojik değişkenler açısından 40 yaş altı meme kanserli vakalar 45 yaş veya 65 yaş üstü vakalarla karşılaştırıldığında, bunların; östrojen reseptör (ER) pozitif insidansı daha düşüktür. İmmünohistokimyasal olarak Her-2 ekspresyonu yüksektir. Tümör dereceleri yüksek, tümör çapları geniştir. Lenf nodu pozitifliği insidansı daha yüksektir (Anders vd., 2008a; Keegan vd., 2012). Ayrıca tüm meme kanserlerinin yaklaşık %15' ni oluşturan bazal tip veya triple negatif meme kanserleri kötü prognoza sahip olup, daha çok genç yaştaki meme kanserli hastaları etkilemektedir (Carey vd., 2006). Bazal tip veya triple negatif meme kanseri çeşitlerinin adenosan ve genç yetişkin premenopozal Afrika kökenli Amerikalı bayanlarda yaklaşık %40 oranında görülürken, bu oran Afrika kökenli Amerikalı postmenopozal bayanlarda %15'tir (Bauer vd., 2007; Onitilo vd., 2009). Ancak 5 yıllık sağkalım oranları açısından HR(-) ve Her-2(+) hastalar, HR(+) hastalar ile karşılaştırıldıklarında kötü prognozun yaş ile ilişkisi olmadığı saptanmıştır (Partridge vd., 2013; Ademuyiwa vd., 2013). 2011 yılında Anders ve arkadaşları tarafından gen ifadesine dayalı meme kanseri alt tipi belirleme çalışmalarında 40 yaş altı meme kanserli hastalarda basal tip meme kanserinin görülme oranının %47 iken, 65 yaş altı hastalarda bu oranın %15 olduğu belirtilmiştir (Anders vd., 2011). 2012 yılında Azim ve arkadaşları tarafından 451' i 40 yaş altı 3.522 meme kanseri teşhisi konmuş tümörler üzerinde yapılan araştırmada; 40 yaş altı bayanlarda basal tip meme kanseri görülme oranı %34,3 iken 41-52 yaş grubundaki hastalarda %27,7, 53-64 yaş grubundaki hastalarda %20,8 ve  $\geq 65$  yaş grubundaki hastalarda %17,9 olarak saptanmıştır ( $p < 0,0001$ ). Aynı zamanda 40 yaş altı bayanlarda Her-2 (+) oranının yüksek olduğu belirlenmiştir. Diğer yandan genç bayanların luminal A alttipine sahip olma olasılıklarının (%17,2) diğer yaş gruplarına oranla (41-52; %30,7, 53-64; %35, 1,  $\geq 65$ ; %35,4 ( $p < 0,0001$ ) çok daha düşük olduğu saptanmıştır (Azim vd., 2012) (Şekil 1.7) .



**Şekil 1.7.** Meme kanseri alt tiplerinin genç yaş meme kanserli hastalarda dağılımı (gen ekspresyon analizlerine göre) (Azim vd., 2014)

İmmünohistokimyasal yöntemler kullanarak meme kanseri alt türlerinin yaş gruplarına bağlı dağılımı ise Şekil 1.8’ de belirtilmiştir (Cancello vd., 2010; Collins vd., 2012; Morrison vd., 2012). Değişik yaş gruplarında gözlenen bu klinikopatolojik farklılıklar, erken yaş meme kanserinin farklı klinik ve biyolojik özelliklere sahip olduğunu göstermektedir.



**Şekil 1.8.** Yaşa göre meme kanseri alt türlerinin immünohistokimyasal yöntemler ile belirlenmesi; **A:** Collins ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışmaya ait bulgular (Collins vd., 2012). **B:** Morrison ve arkadaşları

tarafından yürütülen çalışmaya ait bulgular (Morrison vd., 2012) C: Canello ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışmaya ait bulgular (Canello vd., 2010).

## 1.9. Erken Yaş Meme Kanseri Moleküler Profilleme

Moleküler tıp, hedef tedavilerin sensitivitesi ve spesifisitesi için yeni biyomarker/ biyomarker set tiplerinin keşfi ile genomik ve proteomik olarak modele dayalı tanı keşiflerini kullanmaktadır. Moleküler profillemeye amaç meme tümörünü karakterize edecek ve davranış tarzını tahmin edecek hem moleküler hem de klinik seviyelerdeki çeşitli bilgilerin değerlendirilmesidir.

### 1.9.1. Gen Ekspresyon Farklılıkları

Gen ekspresyon profillemeye teknolojisi, geleneksel klinik ve patolojik parametrelere göre daha iyi klinik tahmin sonuçları sağlamaktadır. Gen ekspresyon farklılıklarından yola çıkarak erken yaş meme kanseri biyolojisini anlamaya yönelik ilk çalışma 2008 yılında Anders ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir (Anders vd., 2008b). Araştırmada, yaşlara göre gruplandırılmış meme kanserli hastalarda, 367 gen grubunun genç yaşta hastalarda farklı ekspresyon profiline sahip olduğu gösterilmiştir. Bunlardan bağışıklık genleri, rapamycin/rapamycin yolağında görev alanlar, hipoksi, *BRCA1*, kök hücre, apoptozis, histon deasetilaz, Myc, E2F, Ras, b-catenin, AKT (Protein kinaz B), Tp53, PTEN, ve MAP kinazları içeren multipli onkogenik sinyal yollarında görev alan genlerin genç bayanlara ait tümörlerde farklı ekspresyon profillerine sahip oldukları saptanmıştır (Anders vd., 2008b, Anders vd., 2011 ).

Yakın bir zamanda Azim ve arkadaşları tarafından yapılan diğer bir çalışmada gen ekspresyon analizi için hastalar 1.188 ve 2.334 bireyden oluşan iki gruba ayrılıp, literatür taraması sonucu belirlenen 50 genin erken yaş meme kanseri ile ilişkisi saptanmaya çalışılmıştır (Azim vd., 2012). 40 yaş altı hasta grubunda tümör boyutu, moleküler alt tipi, histopatolojik grade, ve lenf nodu statüsünden bağımsız olarak, meme kök hücreleri, luminal progenitörler ve *BRCA1* mutasyon imzalarına ek olarak ( $p = 0,007$ ), *RANK-ligand* ( $p < 0,0001$ ), c-kit ( $p < 0,001$ ) genlerinin aşırı ekspresyonu gözlenmiştir. Diğer yandan *BRCA1* ( $p = 0,003$ ) ve apoptozis ile ilişkili genlerin özellikle *FAS* ( $p = 0,03$ ) ekspresyon seviyelerinin düşük olduğu belirlenmiştir (Azim vd., 2012). *BRCA1* mutasyon imzaları aşırı ifadesi genç bayanlarda yüksek *BRCA1* gen mutasyon prevalansını desteklemektedir

(Young vd., 2009; Huzarski vd., 2013). *BRCA1* mutasyonları luminal progenitör hücrelerin farklılaşmasını etkileyerek bazal tip tümör oluşumunu tetikler (Lim vd., 2009). Bu durum bazal tip tümör prevalansının genç yaş meme kanserli bayanlarda yüksek olmasının nedenini açıklar mahiyettedir.

### **1.9.2. Prognostik Genomik İmzalar**

Günümüzde klinisyenlere adjuvan terapiye karar verme ve sonuçları tahmin etme konusunda yardımcı olmaya yarayan (Sotiriou ve Pusztai, 2009), Oncotype Dx®, MammaPrint®, Endopredict, PAM50, Breast Cancer Index v.b genetik testler geliştirilmiştir (Azim vd., 2013). Bu testler ER(+) olan hastalarda klasik prognostik bilgilere ek olarak yeni bilgiler vermekte, aynı zamanda hastalığın tekrar nüksetme riski yüksek ve düşük olan bireyleri birbirinden güvenilir bir şekilde ayırt etmeyi sağlamaktadır. Temelde postmenopozal bayanlar için geliştirilen bu testlerin erken yaş meme kanserli bayanlara uygulanabilirliği ile ilgili çalışmalar devam etmektedir.

Dutch ve arkadaşları tarafından MammaPrint® ile yapılan bir çalışmaya 295 hasta dahil edilmiş olup bunlardan 63 tanesi (%21) 40 yaş altı meme kanserli bayanlardan oluşmuştur. Çalışmada sistemik adjuvan terapinin uygulanıp uygulanmayacağına karar vermek amacıyla hastalar yüksek ve düşük risk grubundakiler diye ikiye ayrılmıştır. Çalışma sonucu 63 genç bayandan 53'ü (%82) analizler sonucu yüksek risk grubuna dahil edilmişlerdir (Van de Vijver vd., 2009). Oncotype Dx® testi ile yapılan diğer bir çalışmaya 59' u 40 yaş altı meme kanserli bayanlardan oluşan 668 hasta dahil edilmiştir (Paik vd., 2004). Bunlardan 33 hasta (%56) yüksek risk grubuna dahil edilirken, yaşları 40 ile 50 olanların %29' u, 50 ile 60 olanların %25 ve >60 olanların sadece %21' i yüksek risk grubuna dahil edilmişlerdir (Paik vd., 2004).

Son zamanlarda gen ekspresyon analizi verilerinden yola çıkarak yaşa bağlı 3 önemli prognostik genomik imza belirlenmiştir. Bunlar; GENE70 (MammaPrint®'in mikroarray versiyonu), genomik grade indeksi ve GENE76 (Azim vd., 2012) 'dır. ER (+) 755 hastadan 87' sinin 40 yaş ve altı hastayı kapsayan bir analizde, genomik imzalardan her birinin hastalıksız sağkalım ile anlamlı derecede ilişkili olduğu ve klinik risk sınıflandırıcısı, Adjuvant Online' na önemli prognostik bilgiler eklenmesini sağlamıştır.

### 1.9.3. Mutasyon Paternleri

Son zamanlarda yeni nesil dizileme teknolojisi kullanılarak meme kanserinden sorumlu somatik mutasyon bölgeleri belirlenmiştir (Nik-Zainal vd., 2012; Shah vd., 2012; Stephens vd., 2012). Hastaların yaklaşık %25' inde *Tp53* ve *PIK3CA* genlerinde nokta mutasyonları saptanmıştır. Ancak meme kanserli genç bayanlarda meydana gelen somatik mutasyonlarla ilgili bilgiler oldukça sınırlıdır. Stephens ve arkadaşları 100 meme kanserli hastada tüm genomu sekanslamalarına rağmen ER (+) ( $p = 0,33$ ) ve ER (-) ( $p = 0,14$ ) hastalarda yaş ile total baz değişimleri sayısı arasında herhangi bir bağlantı bulamamışlardır (Stephens vd., 2012). Diğer çalışmaya yaş ortalamaları 36 olan 54'ü hamile bayandan oluşan toplam 167 hasta dahil edilmiştir. Çalışmada toplam 19 geni içeren 84 mutasyon analizi yapılmıştır. Bu 84 somatik mutasyon analizinin 29'u *PIK3CA* genine, 7'si *ERBB2* genine ve 6'sı *TP53* genine aittir. Hastalar arasında hamile grup ile hamile olmayan grup arasında farklılık gözlenmemiştir. Yaklaşık %23 oranla *PIK3CA* gen prevalansı açısından ileri yaş ile erken yaş meme kanseri açısından bir fark gözlenmemiştir. Hastaların sadece %5' inde *Tp53* mutasyonları saptanmıştır. Ancak ilgili çalışmada *Tp53* genine ait bilinen mutasyonların sadece %12' si değerlendirilmiştir. *ERBB2* gen mutasyonu ise saptanamamıştır (Azim vd., 2014).

Ailesel meme kanseri öyküsü olanların erken yaşta meme kanserine yakalanma risklerinin daha yüksek olduğu açıktır. Bu kanserlerin yaklaşık olarak %40' ından fazlası *BRCA1/2* mutasyon kaynaklıdır (Shuen vd., 2011). Yaşları  $\leq 50$  olan 3.345 bayan üzerinde yapılan bir araştırmada, hastaların %7'sinin bir *BRCA1* gen mutasyonu taşıdıkları ortaya çıkmıştır (Huzarski vd., 2013). Ancak *BRCA1* gen mutasyonu taşıyan hastaların çoğunun daha genç bireylerden oluştuğu ve ER (-) ( $p < 0,001$ ), ve Her-2 (-) ( $p < 0,001$ ) tümör özelliklerine sahip oldukları belirlenmiştir.

Genç bayanlarda diğer ailesel meme kanseri sendromları ile ilgili veriler oldukça sınırlıdır. *CHEK2\*1100delC* mutasyonunu genç yaştaki meme kanserli bireylerde görülme oranı yüksek olan diğer germline mutasyonlardan biridir. Danimarka' da 25.571 bayan üzerinde yapılan bir araştırmada %1,8'inin heterozigot *CHEK2\*1100delC* mutasyonu taşıdığı saptanmıştır (Weischer vd., 2012). Mutasyon saptanan bireylerin ER (+) tümöre sahip premenopozal genç bireyler olduğu belirtilmiştir.

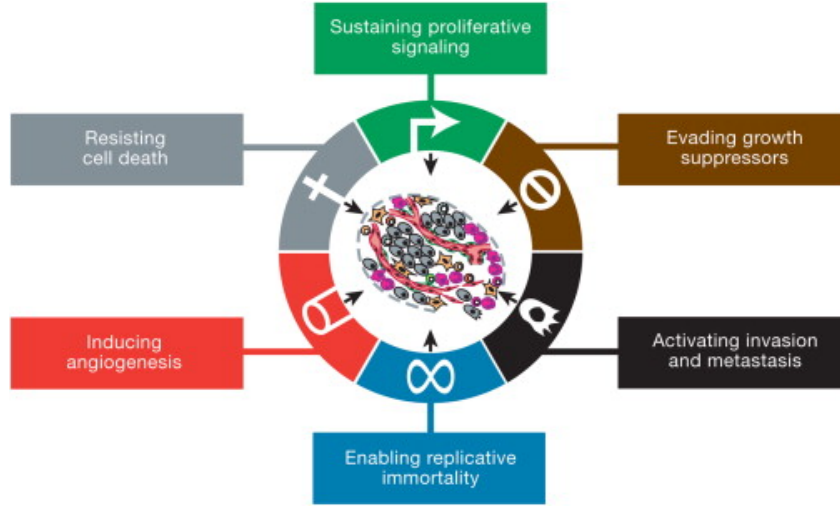
Erken yaş meme kanseri riskini belirlemek amacıyla geliştirilen genetik testlerin çoğunluğu *BRCA1* ve *BRCA2* genlerinin taranmasına yöneliktir. Ancak yapılan çalışmalar

bu genlerin genç kadınlardaki meme kanseri olgularının sadece küçük bir kısmından sorumlu olduğunu ortaya koymaktadır. Bununla birlikte diğer genlerdeki mutasyonlarla ilgili çalışmaların sınırlı ve yetersiz olması bu genlere yönelik hızlı tanı testlerinin geliştirilmesini engellemektedir. Bu durum erken yaş meme kanserinde etkili olabilecek diğer genler üzerindeki çalışmaların yoğunlaştırılması gerekliliğini açık bir şekilde ortaya koymaktadır.

#### **1.9.4. Erken Yaş Meme Kanseri ve Tek Nükleotid Polimorfizmleri (SNP)**

Genom DNA sekansında meydana gelen değişimlerin işlevsel etkileri çoğunlukla bilinmediği için "varyant" olarak adlandırılırlar (Bull, 2000). Varyantlar genomun protein kodlayan bölgelerinde meydana gelebileceği gibi kodlanmayan bölgelerinde de meydana gelebilirler. Her varyantın fenotip üzerindeki etkileri değişkenlik gösterir; bunların bir kısmı hastalığa neden olurken, büyük çoğunluğu fenotip üzerinde herhangi bir etki yaratmaz. Varyantlar polimorfizm veya mutasyon olabilirler. Polimorfizm ve mutasyon arasındaki ayrım çoğunlukla varyantın popülasyonda görülme sıklığına göre yapılır. Mutasyonların popülasyondaki sıklığı %1' in altında olurken, polimorfizmlerin sıklığı %1 veya %1' in üzerindedir (Twyman, 2003). Polimorfizmlerden tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) insan genomunda en çok görülen polimorfizmlerdir. Bunlar tek bir nükleotidin değişmesi sonucu ortaya çıkar. Polimorfizm çalışmalarının bulguları hastalıklara yatkınlığın belirlenmesinde ve tedavinin yönlendirilmesinde önem taşımaktadır.

Kanser gelişimini ve ilerlemesini açıklayan temel modele göre; kanser hücrelerinin tümör oluşturabilme yeteneğini kazanmaları gerekir (Hanahan ve Weinberg, 2000; Hanahan ve Weinberg, 2011). Bu yetenekler; kanser hücrelerinin kendi büyümelerini stimüle edebilme (Self-sufficiency in growth signals), büyümelerini engelleyecek inhibitörlere karşı direnebilme (insensitivity to anti-growth signals), apoptozdan kaçınabilme (evading apoptosis), anjiyogenesisi stimüle edebilme (sustained angiogenesis), sınırsız çoğabilme (limitless replicative potential) ile metastaz ve doku invazyonunu sağlayabilme yetenekleridir (Şekil 1.9).



**Şekil 1.9.** Kanser hücrelerinin tümör oluşturmalarını sağlayan özellikleri; Kendi büyümlerini stimüle edebilme (Self-sufficiency in growth signals), büyümlerini engelleyecek inhibitörlere karşı direnebilme (insensitivity to anti-growth signals), apoptozdan kaçınabilme (evading apoptosis), anjiyogenesi stimüle edebilme (sustained angiogenesis), sınırsız çoğalabilme (limitless replicative potential) ile metaztaz ve doku invazyonunu sağlayabilme (Hanahan ve Weinberg, 2011).

Ancak somatik mutasyonlar sonucu kanser hücrelerinin yukarıda bahsedilen yetenekleri kazanması uzun yıllar sürebilir. Erken yaş meme kanserine yakalanan bireylerde yaş ortalamaları göz önüne alındığında, genç bireylerdeki meme kanserinin etkeninin somatik mutasyonlardan ziyade germline kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Bu düşüncenin önemine binaen çalışmamızda erken yaş meme kanserli bireylerde yatkınlığın belirlenmesi, risk faktörlerinin ortaya konması ve tedavinin yönlendirilmesinde etkin olabilecek çeşitli gen polimorfizimleri araştırılmıştır.

Genom Çapında İlişkilendirme Çalışmaları (GWAS) genetik varyantların belirli bir karakterle ilişkili olup olmadığını genom çapında araştıran çalışmaları kapsar. GWAS' lar tipik olarak tek nükleotid polimorfizimleri (SNP' ler) ile kanser v.b. insan hastalıkları gibi özellikler arasındaki ilişkilere odaklanmaktadır. Son zamanlarda postmenopozal veya hem postmenopozal hemde premenopozal hastaları da içeren GWAS araştırmalarıyla meme kanseri gelişiminden sorumlu yaklaşık 70 riskli SNP varyant ve gen bölgeleri belirlenmiş olup, bunların bir kısmı meme kanseri alt tipleri ile ilişkilendirilmiştir (Easton vd., 2007; Hunter vd., 2007; Stacey vd., 2007; Ahmed vd., 2009; Fletcher et al., 2011; Garcia-Closas vd., 2013). Bu varyantlar genomda yaygın olarak görülmelerine rağmen penetransları düşüktür. Bu durum her bir varyantın bireysel olarak hastalık riski oluşturma olasılıklarının

düşük olduğunu ancak birden fazla varyantın kombine riskinin hastalık belirtilerinin görülmesine neden olabileceğini göstermektedir. Ancak tek nükleotid polimorfizmlerinin erken yaş meme kanserli bayanlarda risk faktörü oluşturup oluşturmadığına yönelik çalışmalar oldukça sınırlıdır. 2008 yılında 30 genin dahil edildiği 206 gen polimorfizmin araştırıldığı bir çalışmada 40 yaş altı bayanlarda *CASP8*, *TOX3* ve *ESR1* gen polimorfizmlerinin erken yaş meme kanseri ile ilişkili oldukları, klinik prognostik faktörlerden bağımsız olarak *MMP7*, *TOX3* ve *MAP3K1* gen polimorfizmlerinin sağkalım ile ilişkili olduğu, *FGFR2* ve *TOX3* gen polimorfizmlerinin ER (+) hastalarda, *ATM* gen polimorfizmlerinin ise ER (-) hastalarda risk faktörü oluşturdukları saptanmıştır (Tapper vd., 2008). 2015 yılında Smyth ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada erken yaş meme kanserli bireylere ait genomlardaki tek nükleotid polimorfizmleri kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, erken yaş meme kanserli bireylerde hastalık riskinin çok daha yüksek olduğu saptanmıştır. 2012 yılında Al-Qasem ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada *Tp53* geni kodon 72 (rs1042522) polimorfizmin 50 yaş altı premenopozal Saudi bayanlarda risk faktörü oluşturduğu saptanmıştır (Al-Qasem vd., 2012). Yine 2012 yılında Fu ve arkadaşları tarafından yürütülen araştırmada *Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptör 2 (FGFR2)* genin ikinci intronunda yer alan rs11200014 (AA), rs1219648 (GG), rs2420946 (TT), and rs2981582 (TT) polimorfizmlerinin Çin Han bayanlarda erken yaş meme kanserinde risk oluşturdukları belirtilmiştir (Fu vd., 2012). İran Azeri popülasyonuna ait bir çalışmada 50 yaş altı bayanlarda *FGFR2* rs1219648 polimorfizmi erken yaş meme kanseri ile ilişkilendirilmiş olup, Saudi popülasyonun aksine *Tp53* rs1042522 polimorfizmi ile ilişkilendirilmemiştir (Saadatian vd., 2014) Başka bir çalışmada 2016 yılında Tayvanlı luminal A tipi erken yaş meme kanserli bireylerde DNA mismatch repair protein Msh2 rs2303425 (CC) polimorfizminin risk faktörü oluşturduğu belirtilmiştir (Hsieh vd., 2016).

#### **1.10. Erken Yaş Meme Kanserinde Tedavi**

Günümüzde mastektomi ve meme koruyucu ameliyatı ileri yaş meme kanserli bayanlarda olduğu gibi genç bayanlardada lokal tedavi seçeneklerinin başında yer almaktadır (Gabriel ve Domchek, 2010). Ancak genç bayanlarda koruyucu meme ameliyatı sırasında negatif cerrahi sınırın elde edilmesinin zor olması ve memenin yüksek miktarda intraduktal bileşenlere sahip olması nedeniyle genç meme kanserli bireylerde nüksetme

olasılığını yaşlı bireylere oranla 9 kat arttırmaktadır (Freedman vd., 2002; Voogd vd., 2001).

Cerrahi yöntemlere ve radyasyona ek olarak, genç bireylere adjuvan terapi, hormonal tedavi ve kemoterapide uygulanır. Ancak hormonal tedaviye duyarlı hastalarda kemoterapi uygulanması yeterli olmamaktadır. HR (+) olan genç bayanlarda 5 yıllık adjuvan tamoxifen ve ovaryumda meydana gelen östrojen sentezini baskılayıcı ilaç kullanımı standart endokrin terapilerden biridir (Christinat vd., 2013). Tamoxifen ile karşılaştırıldığında exemestan gibi aromataz inhibitörü olarak bilinen ilaç gruplarının kullanımında yaygındır. Bu ilaçlar özellikle menopoz sonrası dönemdeki kadınlarda, cinsiyet hormonlarının östrojenlerin üretimi için gerekli olan aromataz denilen bir maddeyle etkileşirler. Vücuttaki östrojen düzeylerinin azaltılması, hormona bağımlı meme kanseri tedavisinde kullanılan bir yoldur. Ancak premenopozal bayanlarda ovaryum stimülasyonundan dolayı aromataz inhibitörü ile tedavinin uygun olmadığı gösterilmiştir (Dowsett vd., 2005; Gabriel ve Domchek, 2010; Christinat vd., 2013). Bu nedenle HR(+) premenopozal bayanlarda randomize faz III çalışmaları yürütülmüştür. Faz 2 çalışmaları aşamasında 4690 hastaya exemestane uygulanıp ovaryum fonksiyonları bastırılarak (TEXT) yada tamoxifen kullanılıp ovaryum fonksiyonları bastırılarak (SOFT) 5 yıllık adjuvant terapi uygulanmıştır. Çalışmalar SOFT ile karşılaştırıldığında TEXT uygulanan premenopozal hastaların invaziv kanser riskinin %28 oranında azaldığı ve hastalığın nüksetme olasılığının %37 azaldığı saptanmıştır (Pagani vd., 2014).

Uzun dönem tedavi şekilleri ile terapi kazanımları arasındaki dengeyi sağlamak son derece önemli olup (Tichy vd., 2013), bu süre zarfında genç bayanlarda diğer memede de kanser gelişme olasılığının olduğu unutulmamalıdır (Healey vd.,1993). Aynı zamanda DCIS veya invaziv karsinomlu koruyucu meme ameliyatı uygulanmış adolosan ve yetişkin genç bayanlarda nüksetme olasılığı ileri yaştaki hastalara oranla çok daha yüksektir (Goldhirsch vd., 2013). Çoğunluğunun gebe kalmayı düşündüğü meme kanserli genç bayanlarda anti kanser tedavisinin menstrüal fonksiyonların ve doğurganlık özellikleri üzerindeki olası etkileri göz ardı edilmemelidir (Christinat ve Pagani, 2012).

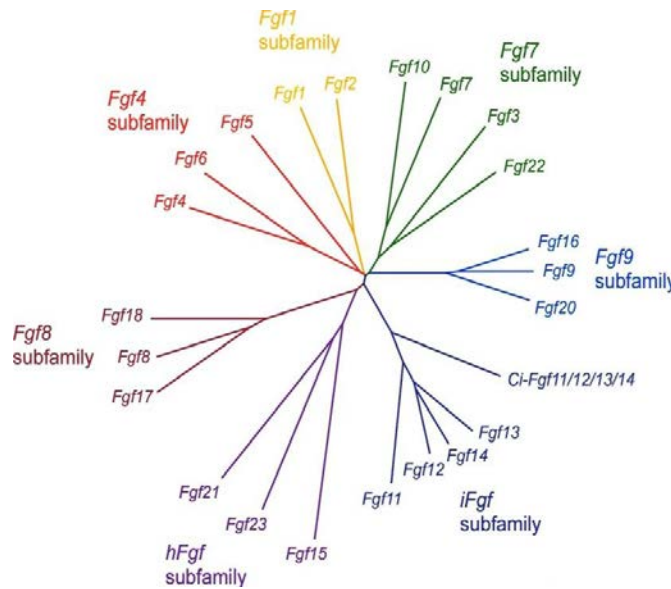
Kemoterapi veya ovaryum sitümülasyonu gibi adjuvan endokrin terapiler genç bayanlarda amenore veya kalıcı menopoza ve sonrasında infertiliteye neden olabilir. Kamoterapiye bağlı infertilite riski yaşa ve tedavinin yoğunluğuna bağlı olarak değişmektedir (Christinat vd., 2013). Kemoterapi sonucu 35 yaş altı bayanlarda menopoz riski kemoterapi yoğunluğuna bağlı olarak %15 iken, 40 yaş ve üzeri bayanlarda bu

oran %40' ı bulmaktadır (Gabriel ve Domchek, 2010; Christinat ve Pagani, 2012). Meme kanserinde standart radyasyon terapisinin, yoğunluğu pelviks ve yumurtalıklara ulaşmadığı sürece, ovaryum üzerinde herhangi bir toksik etkisinin olmadığı belirtilmiştir (Goodwin vd.,1999). Genç kadınlardaki meme kanseri olgularında kullanılan tedavi yöntemleri sonucu oluşan, kemoterapiye bağlı doğurganlık bozukluğu, erken menopoz riski, mastektomi sonrasında tekrar nüksetme gibi bir dizi özel sorunlar, bu tür kanserlerin tedavisinde başarının artırılması için hastalığın oluşum mekanizmasının daha iyi anlaşılması, risk grubundaki bireylerin önceden belirlenmesi ve hastalara yönelik acil özel tanı ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır.

## 1.11. Fibroblast Büyüme Faktörleri ve Reseptörleri

### 1.11.1. Fibroblast Büyüme Faktörleri (FGFs)

Memeli fibroblast büyüme faktörü (FGFs) ailesi hücre içi ve hücreler arası sinyal moleküllerini içeren 22 üyeden oluşur. Bu üyelerden FGF1-10 ve FGF16 -23 olmak üzere 18' i fibroblast büyüme faktör reseptörleri (FGFRs) için aktif ligant olarak görev alır. FGFs ailesi sekans benzerliklerine ve reseptör bağlanma afinitelerine göre 7 farklı alt gruba ayrılmışlardır (Itoh ve Ornitz, 2008) (Şekil 1.10).



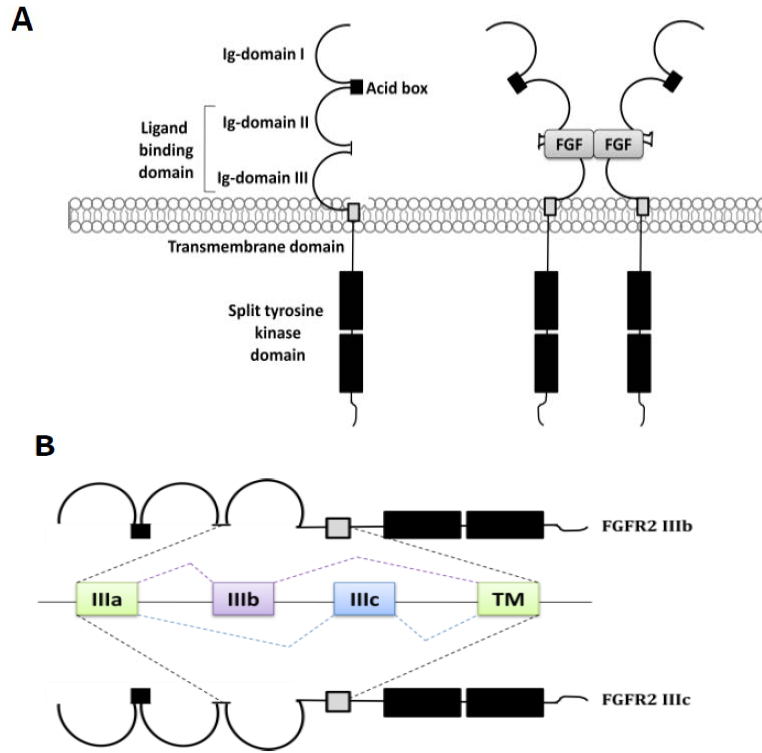
Şekil 1.10. FGFs ailesi alt grupları

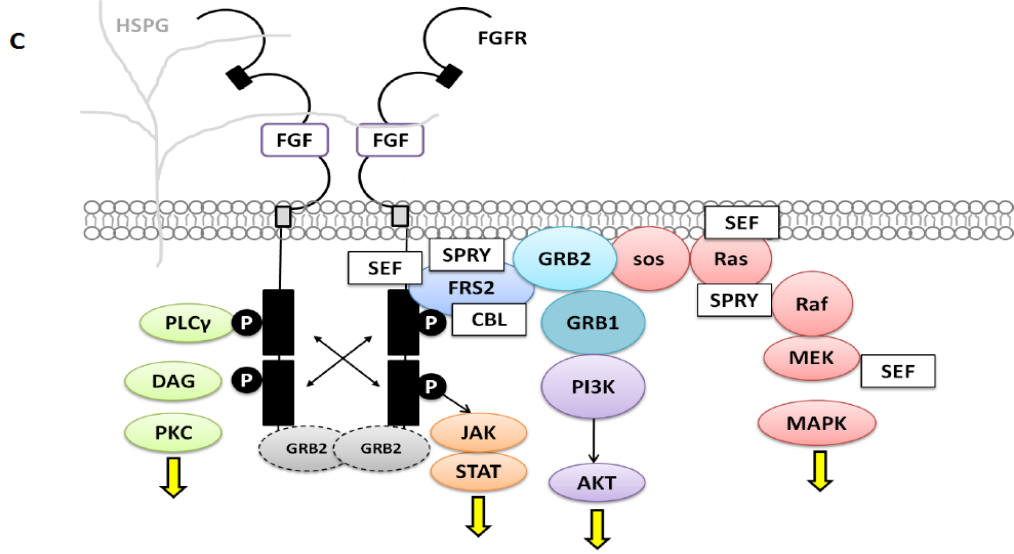
FGF gen ailesi nematodlardan insana kadar birçok organizmada saptanmış olup, yapısal ve işlevsel fonksiyonları evrimsel süreç içerisinde büyük oranda korunmuştur (%71) (Ornitz ve Itoh, 2001). FGF' lerin çoğu reseptörler ile etkileşimden sorumlu yüksek oranda korunumlu 28 aminoasit ve 6 aynı aminoasiti içermektedir (Plotnikov vd., 2000). FGF1 ve FGF2 dışında kalan üyeler salgı proteinleri olup, endoplazmik retikulum ve golgi aparatı aracılığıyla ilerlemelerini sağlayan N-terminal uçlarında sinyal peptitleri taşımaktadırlar (Ornitz ve Itoh, 2001). Ayrıca FGF' ler ekstraselüler matrikste ve hücre yüzeyinde bulunan heparan sülfat-proteoglikan (HSPG) ve heparine bağlanabilme özelliğine sahiptirler. HSPG'lerin düşük affiniteli reseptör gibi davranarak, FGF' leri termal denatürasyondan ve protezalardan koruduğu düşünülmektedir (Copeland vd., 1991). HSPG' ler FGF' leri fiziksel olarak plazma zarına yakın tutup, reseptörlerle etkileşimlerini hızlandırarak FGFR/FGF kompleksinin oluşumunu ve aktivasyonunu sağlarlar. Hücre kültürü analizlerinde, FGF' lerin hücre büyümesi, hücre göçü ve farklılaşmayı uyardıkları tespit edilmiştir (Eswarakumar vd., 2005). İn vivo olarak başta gelişim sürecinde olmak üzere birçok farklı hücresel fonksiyonlardan sorumludurlar. Embriyonik gelişim süresince FGF' ler, hücre proliferasyonunu, farklılaşmasını ve hücre migrasyonunu düzenleyerek, morfogenezde kritik bir rol oynarlar. Ayrıca yetişkin organizmalarda yara iyileşmesinde, doku onarımında, anjiyogenezde önemli bir rol alırlar (Turner vd., 2010a).

#### **1.11.2. Fibroblast Büyüme Faktör Reseptörleri(FGFRs)**

Fibroblast büyüme faktör reseptör (FGFRs) genleri transmembran reseptör tirozin kinazları (RTKs) kodlarlar. Bütün reseptör tirozin kinazlar (RTK' lar) gibi FGFR1-FGFR4' de bir ekstraselüler ligand-bağlayıcı domain, bir transmembran domain ve katalitik protein tirozin kinaz (PTK) kor ve ek regülatör sekanslara sahip olan bir stoplazmik domainden oluşur. FGFR' nin ekstraselüler ligand-bağlayıcı domaini D1-D3 olarak adlandırılan üç immunoglobulin (Ig) benzeri domain içerir; bağlayıcı (linker)' daki D1 ve D3' ü bağlayan yedi, sekiz rezidüden oluşan kısım —asit kutusu (acid box) olarak adlandırılır ve D2' deki pozitif yüklü korunmuş bir bölge heparin için bağlanma bölgesi olarak iş görür (Schlessinger vd., 2000). FGFR1-3' ün üçüncü immünoglobulin benzeri domainlerinin ikinci yarısında alternatif mRNA splicing ile ligand bağlanma affiniteleri birbirinden farklı olan FGFR izoformları oluşur (Zhang vd., 2006) (Şekil 1.11). Bu alternatif splicing daha çok doku ve hücre tipine özgün olarak gerçekleşir; IIIB izoformu

epitelyal kökenli doku ve hücrelerde eksprese edilirken, IIIc formu ise mezankimal kökenli doku ve hücrelerde eksprese edilir (Orr-Urtreger vd., 1993). FGFR' lerin IIIb ve IIIc izoformlarının kökene-spesifik ekspresyonu, farklı FGF' lere cevap olarak, gelişme süresince epitelyal ve mezenkimal tabakalar arasında parakrin sinyal iletimi sağlar (Eswarakumar vd., 2005). FGFR1 olarakta bilinen FGFR5, FGF' ye bağlanma özelliğine sahiptir ancak tirozin kinaz domaini içermediğinden FGF sinyal iletiminde negatif regülatör olarak rol alır (Steinberg vd., 2009). Her ne kadar FGFR' ler ekspresyon paterni ve fonksiyonel olarak benzerlik gösterebilir de, hücresel farklılaşmaya bağlı olarak spesifik etkilere aracılık ederler.





**Şekil 1.11.** FGF-FGFR kompleksinin temel yapısı; **A)** İki reseptör molekülü, iki FGFs ve bir heparan sülfat proteoglikan zinciri içermektedir. FGFR üç extracellüler imminoglobulin domaini (Ig), tek transmembran domaini ve intrasellüler tirozin kinaz domaininden oluşmuştur. **B)** Ligand bağlanma özgülüğü Ig III domaininin alternatif splicing'i ile gerçekleşir. Ig III' ün ilk yarısı, değişmez bölge exon IIIa' nın splicingi sonucu her ikisinde transmembran bölgesini (TM) kodlayan IIb ve IIc' yi kodlar. **C)** FGFR sinyalinin dört farklı metabolik yolağı ile iletimi; MAPK yolağı (kırmızı), PI3K/AKT yolağı (mor), JAK/STAT yolağı (turuncu) ve PLC $\gamma$  yolağı (yeşil). MAPK ve AKT sinyal yolağlarının herikisinde spesifik FGFR adaptör proteininin varlığını gerektirir: FRS2. Siyah kutularda gösterilen proteinler FGFR sinyal yolağının inhibitörlerini göstermektedir.

FGFR' ler yoluyla sinyal iletimi, ligand ile etkileşim sonucu hücre yüzeyinde yer alan HSPG' lar ve dimerik GRB2 ile stabilize olmuş (Lin vd., 2012) reseptör dimer yapısında konformasyonel değişime neden olarak, intrasellüler kinaz domaininin transfosforilizasyonu teşvik eder (Mohammadi vd., 1996; Furdui vd., 2006). Reseptörün stoplazmada yer alan fosforilizasyona uğramış bölümü Src homology-2 (SH2) ve fosfotirozin bağlanma (PTB) domainlerini içeren adaptör proteinler için docking bölgesi olarak işlev görebilir (Mohammadi vd., 1996).

FGFR' ler hücrel farklılaşma, sağkalım ve hücre proliferilasyonunu MAPK (Mitojen aktive edilmiş protein kinaz), PI3K (Phosphoinositide 3-kinase)/AKT, JAK(Janus kinaz ailesi) /STAT (Transkripsiyonun sinyal ileticileri ve aktivatörleri) ve PLC $\gamma$  (Fosfolipaz C $\gamma$ ) sinyal yolağlarını aktive ederek başlatırlar. Gelişim evresinde hücre proliferasyonu baskın olarak MAPK sinyal yolağı ile gerçekleştirilir (Corson vd.,2003).

FRS2, ERK (Ekstraselüler sinyalle düzenlenen kinaz) ve PI3K/AKT sinyal yolağında FGFR sinyal iletiminde aktif kinaz domainine bağlanmak suretiyle, spesifik tirozin rezidülerin posforilizasyonunu sağlayan adaptörlerin başında yer alır (Ong vd., 2001).

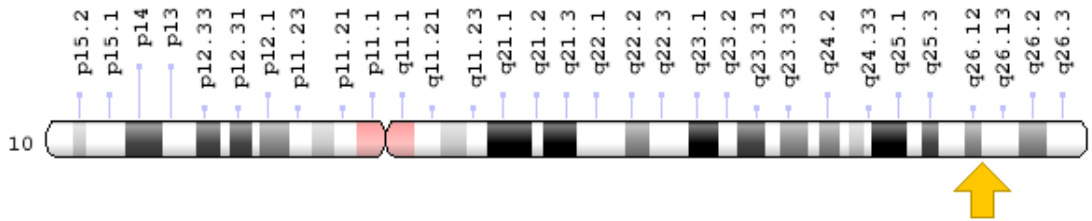
GRB2 sonradan sinyal iletimine katılan, ERK ve PI3K/AKT sinyal yolağını aktive edebilen diğer bir modülatördür. AKT yolağının aktive edilmesi hücre büyümesi ve çağılmasının yanı sıra anti-apoptik sinyal üretimini (Gotoh, 2008) ve MAPK yolağı hücre döngüsünde rol alan transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunu sağlar. Hücre döngüsünün ana düzenleyicileri olan siklin D1 ve siklin D2' nin MAPK bağımlı FGFR sinyal inhibisyonunda down regüle edildiği belirtilmiştir (Koziczak vd., 2004).

Adaptör proteinlerden bağımsız olarak, aktif reseptör PLC $\gamma$ 'ye bağlanabilir ve fosforilize ederek, diaçilgliserol (DAG) aracılığıyla protein kinaz C (PKC)' yi aktive ederek MAPK yolağını güçlendirebilir.

Yine JAK/STAT yolağı aracılığıyla sinyal iletimi adaptör proteinlerinden bağımsız gerçekleşir. STAT' ın çekirdeğe direk olarak translokasyonu hücre proliferasyonu, farklılaşması ve apoptoz ile ilişkili hedef genlerin transkripsiyonunu yönlendirir (Darnell, 1997).

### 1.11.3. *FGFR2* Geni

İnsanda *FGFR2* geni 10. kromozomun uzun kolunda (10q26) lokalize olmuştur ve 21 ekson içerir (Şekil 1.12). *FGFR2* geni, birbirini dışlayan eksonların alternatif splicingi sonucu Fgfr2 IIIb (Fgfr2b) ve Fgfr2 IIIc (Fgfr2c) izoformlarını kodlamaktadır.



Şekil 1.12. *FGFR2* geninin lokalizasyonu (URL-9)

*FGFR2b* izoformu daha çok epitelial hücrelerde eksprese edilirken, *FGFR2c* izoformu ise daha çok mezenşimal hücrelerde eksprese edilir. Yapılan affinite çalışmalarında *FGFR2b*' nin FGF22, FGF10, FGF7, FGF3 ve FGF1 için yüksek affiniteli bir reseptör olduğu saptanırken; *FGFR2c*' nin , FGF20, FGF16, FGF9, FGF6, FGF4, FGF2 ve FGF1 için yüksek affiniteli bir reseptör olduğu saptanmıştır (Ornitz ve Itoh, 2001; Zhang vd., 2006).

**Tablo 1.1.** FGFR2 izoform ve ligandları

|              |          |                                                                      |
|--------------|----------|----------------------------------------------------------------------|
| <b>FGFR2</b> | <b>b</b> | FGF1, FGF3, FGF7, FGF10, FGF22                                       |
|              | <b>c</b> | FGF1, FGF2, FGF4, FGF5, FGF6, FGF8, FGF9, FGF16, FGF17, FGF18, FGF20 |

FGF10 ve ana reseptörü FGFR2-IIIb' nin embriyonik meme bezi gelişiminde önemli rolleri vardır. Farelerde embriyonik gelişimin 10.5 gününde ektodermden FGF10 FGFR2-IIIb ile etkileşime geçerek ileride gerçekleşecek meme bezi oluşumunu başlatır. Ligand ve reseptör etkileşimi embriyonik endotermal doku kalınlaşması için son derece önemlidir. Memede duktal büyüme sırasında FGFR1 ve FGFR2 yanısıra FGF1, FGF2, FGF4, FGF7 ve FGF10 ekspresyonu gözlenmiştir (Mailleux vd., 2002; Veltmaat vd., 2006). Aynı zamanda epitelyal spesifik FGFR2-IIIb izoformunun duktal gelişimden sorumlu olduğu ve TEB' lerden yüksek düzeyde FGFR2 ekspresyonu saptanmıştır (Parsa vd., 2008). Özellikle *FGFR2* null bezlerin meme gelişimi sırasında yağ dokusuna daha az nüfuz ettikleri ve kontrollerle karşılaştırıldığında dallanmanın daha az olduğu saptanmıştır (Lu vd., 2008). Ayrıca gebelik ve emzirme döneminde bazı FGF' lerin ekspresyonlarının gerçekleştiği saptanmış olup, görevleri tam olarak belirlenememiştir (Coleman-Krnacik ve Rosen, 1994).

#### **1.11.4. Meme Kanserinde *FGFR2* Gen Mutasyonları ve Polimorfizmleri**

Easton ve ekibi (Easton vd., 2007) ile Hunter ve ekibinin (Hunter vd., 2007) yürüttükleri genom çapında ilişkilendirme çalışmalarında, *FGFR2* geni tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) meme kanserine yakalanma riski ile ilişkili olduklarını belirtmişlerdir. Bu ilişki Huijts ve arkadaşlarının aday-gen yaklaşımı kullanarak yürüttükleri çalışmalar ile doğrulanmıştır (Huijts vd., 2011). Meme kanseri ile ilişkilendirilmiş 5 SNP' nin *FGFR2* geninin 2. intronunda yer aldığı saptanmıştır. Ancak bu SNP' lerin meme karsinogenezi mekanizmasındaki rolleri tam olarak bilinmemektedir (Katoh., 2008).

Meme kanseri, mide kanseri, akciğer kanseri, ovaryum kanseri ve endometriyum kanserinde *FGFR2* geninde meydana gelen missense mutasyonlar saptanmıştır. Mide kanserinde S267P mutasyonu, akciğer kanserinde D283N ve W290C mutasyonları, S252W, K310R, A315T, S372C ve Y375C mutasyonları uterus kanserlerinde, G272V mutasyonu ise ovaryum kanserlerinde görülmüş olup, bu mutasyonlar *FGFR2* geninin menteşe bölgesi ve üçüncü Ig-benzeri bölgesinde kümelenmiştir (Pollock vd., 2007; Jang vd., 2001). Endometriyum kanserindeki I547V, N549K ve K659E mutasyonları *FGFR2* geninin kinaz domaininde kümelenmiştir. *FGFR2*' nin üçüncü Ig-benzeri domaininde oluşan missens mutasyonlar, FGF otokrin ilmeği oluşturarak ligand reseptör özgüllüğünün değişmesine neden olmak suretiyle onkogenik FGFR aktivasyonunu indükler. Ayrıca tirozin kinaz domaininde oluşan mutasyonlar ligand bağımsızlığı özelliği kazandırdıkları için onkogenik FGFR aktivasyonunu indüklerler (Katoh, 2008).

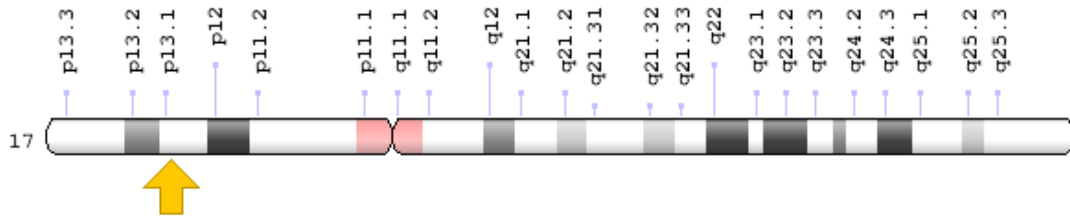
Meme kanserinde *FGFR2* geninin amplifikasyonu ve aşırı ekspresyonu gözlenmiştir. Triple negatif meme kanserli hastaların %4' ünde *FGFR2* gen amplifikasyonu saptanmış olup (Turner vd., 2010b), Triple negatif SUM52PE ve MFM223 hücre hatlarında da bu amplifikasyon konstitüf *FGFR2* aktivasyonuna neden olmuştur. *FGFR2* gen amplifikasyonu, downstream sinyallerin kalitatif ve kantitatif değişiminin yanı sıra ligand bağımsızlığı özelliğinin de kazanılmasıyla, daha malign bir fenotipe yol açar. Mesane kanseri ve prostat kanseri ilerlemesi sırasında *FGFR2b*' nin *FGFR2c*' ye dönüşümü saptanmıştır (Chaffer vd., 2007). Çok basamaklı karsinogenez süresince *FGFR2*' nin dönüşüm mekanizması tam olarak bilinmemesine rağmen, FGF otokrin ilmeğinin oluşumuna neden ligand reseptör özgüllüğü değişikliği daha malign fenotip oluşumu ile sonuçlanır (Katoh, 2008).

*FGFR2* gen amplifikasyonu ve aşırı ekspresyonunun yanında, *FGFR2* geninde yer alan çeşitli SNP' lerin meme kanserinde risk faktörü olabilecekleri belirtilmiştir. *FGFR2* geninin 2. intronunda bulunan SNP' lerin yüksek meme kanseri riskiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (Easton vd., 2007; Hunter vd., 2007; Meyer vd., 2008; Huijts vd., 2011). Meyer ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada *FGFR2* geninin 2. intronunda yer alan polimorfizmlerin OCT1, RUNX2 ve C/EBP $\beta$  transkripsiyon bağlanma affinitelerinde değişikliklere neden oldukları ve *FGFR2* gen ekspresyonunu artırarak meme kanseri yatkınlığını arttırdığını göstermişlerdir (Meyer vd., 2008). *FGFR2* gen polimorfizmlerinin meme kanseri ile ilişkisi bir çok popülasyonda araştırılmış olup, Arap (%12), Aşkenazi (%15) ve Sefarad Yahudi (%22) popülasyonundaki meme kanserinin

önemli bir bölümü *FGFR2* rs1219648 ile ilişkilendirilmiştir (Raskin vd., 2008). Ancak *FGFR2* gen polimorfizmleri ile meme kanseri arasındaki ilişkinin saptanmasına yönelik çalışmaların çoğu post menopozal bayanlara yönelik araştırmaları içermektedir. Erken yaş meme kanseri ile ilgili çalışmalar sınırlı olup, Chuan-Lian Liu ve arkadaşları tarafından premenopozal bayanlarda yürütülen çalışmada *FGFR2* rs1219648'nin meme kanserinde risk oluşturduğu saptanmıştır (Liu vd., 2013). Yine 2012 yılında Fu ve arkadaşlarının premenopozal Çin Han bayanlarında (Fu vd., 2012) ve 2014 yılında Saadatian ve arkadaşlarının premenopozal İran-Azeri bayanlarını kapsayan çalışmalarda rs1219648' nin meme kanserinde yüksek risk oluşturduğu belirtilmiştir (Saadatian vd., 2014). Ancak ülkemizde erken yaş meme kanseri ile *FGFR2* gen polimorfizmleri arasındaki ilişkinin belirlenmesine yönelik herhangi bir çalışma mevcut değildir.

### 1.12. TP53 Geni

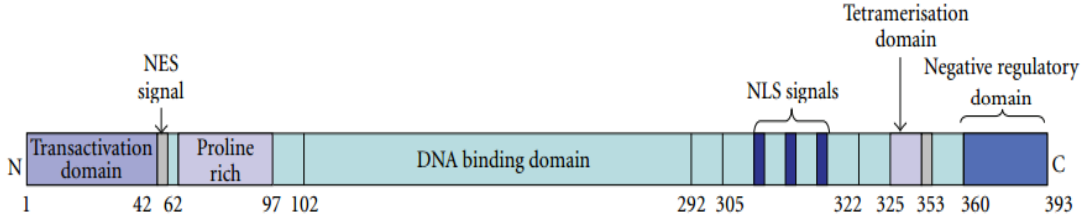
1979 yılında Levine, May ve Old'un liderliğindeki 3 ekip tarafından keşfedilen Tp53 proteini çoğu hayvan türleri arasında korunumludur. Bu proteini kodlayan *Tp53* geni 17. kromozomun kısa kolunda lokalize olmuştur. Yaklaşık 20 kb büyüklüğünde olan gen dizisi, 11 ekzon içermektedir. Fakat 10 kb civarında olan ilk ekzon kodlanmamaktadır (Lacroix vd., 2006) (Şekil 1.13).



Şekil 1.13. *Tp53* geninin lokalizasyonu (URL-10)

Evrimsel süreç boyunca yüksek oranda korunmuş bölgeler içeren Tp53 proteini 393 aminoasit (aa) içermektedir (Soussi vd., 1990). Protein bir N terminal bölgesi(1-42 aa), prolin redüzleri bakımından zengin apoptoz indüksiyonunda rol alan bölge (63-97 aa) (Slee vd., 2004), bir çok kanser türlerinde proteinin inaktivasyonuna neden olan çoğu mutasyonların yer aldığı DNA' ya bağlanmak için önemli olan kor domeyn (102-292 aa) (Soussi, 2000), tetramerizasyon domeyni (323-356 aa), ve C-terminal bölgesinden (363-393 aa) oluşmaktadır. Tp53' ün C-terminal bölgesi Mdm2' nin (murine double minute 2) N- terminal bölgesine bağlanır. Ayrıca *Tp53* geninin subselüler lokalizasyonu belirleyen N

ve C terminal uçlarında proteinin stoplazmaya taşınmasını sağlayan NES (nuclear export signal) ile C terminalinde nükleer lokalizasyon sekansı (NLS, nuclear localization signal) yer almaktadır (Lohrum vd., 2001; Poyurovsky vd., 2010) (Şekil 1.14). 1989’da Vogelstein ve ekibi insan kanserlerinde *Tp53* geninin inaktive olduğunu bulmuşlardır (Vogelstein ve ark., 1990).



**Şekil 1.14.** *Tp53* protein yapısı; N terminal bölgesi transaktivasyon bölgesi (1-62 aa) ile apoptozda görev alan proline zengin bölgeyi (63-97 aa) içerir. Merkez domain ise DNA bağlanma bölgesini içerir (102-292 aa). C terminali tetramerizasyon domaini (325–360 aa) ile negatif regülatör domainini içerir. NES sinyali hem N hemde C grubunda yer alırken, NLS sinyalleri ise sadece C terminalinde yer alır (Varna vd., 2011).

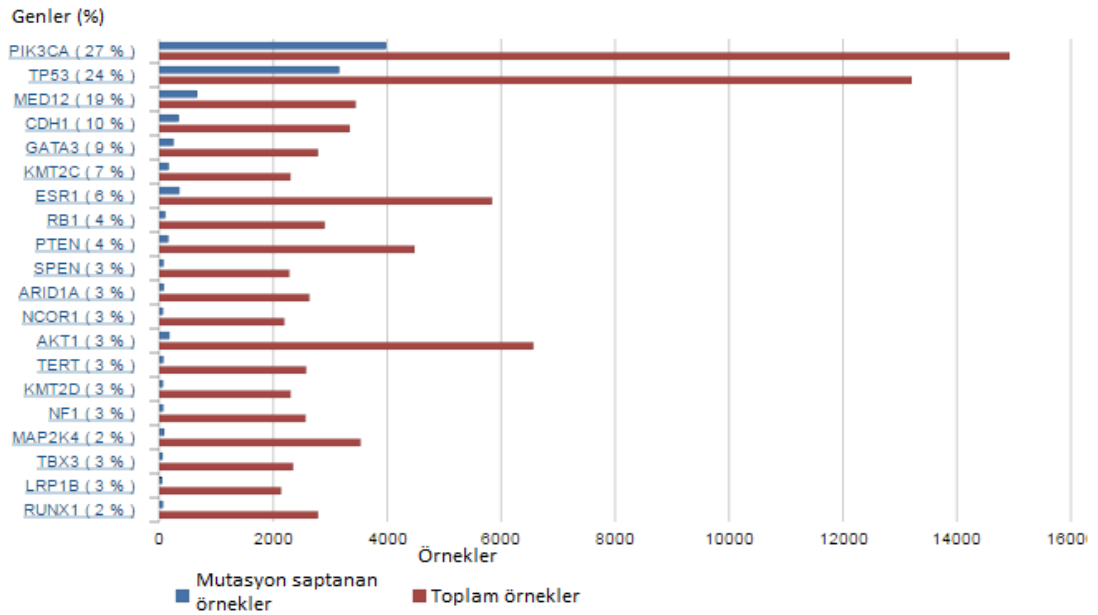
*Tp53* geni iyonize radyasyon, DNA lezyonları, nitrik oksit, hipoksi, kemoterapötik maddeler veya onkojenik uyarılar tarafından aktive edilebilir. Bu uyarılara cevap olarak *Tp53* geninde çeşitli değişiklikler meydana gelir ve her bir uyarana farklı cevaplar verebilir. Ayrıca hücre döngüsünün G1/S ve G2/M fazlarına geçişinde, DNA tamirinde, gen ifadesinin düzenlenmesinde, apoptozda, yaşlanmada, hücre döngüsünün durmasında, otofajide ve angiyojenezde görev alan transkripsiyon faktörüdür (Varna vd., 2011).

*Tp53* proteini hücre döngüsünün G0/G1 evresinde rol alan birçok siklin bağımlı kinazın işlevini engelleyen p21 proteininin ifadesini, p21WAF2/Cip1 geninin transkripsiyonunu uyarak düzenlemekte ve böylece p21 proteini aracılığı ile hücre döngüsünü G1 aşamasında durdurmaktadır (Harris, 1996). *Tp53* ayrıca, mitoz bölünme için gerekli proteinleri kodlayan c-myc ve c-fos gibi genlerin transkripsiyonlarını düzenleyen E2F transkripsiyon faktörü ile fiziksel olarak etkileşerek hücre döngüsünün G2 evresinde durdurulmasında da rol almaktadır. *Tp53*, DNA tamiri ve DNA sentez mekanizmasında rol alan PCNA (proliferating cell nuclear antigen), GADD45 (growth arrest and DNA damage inducible 45) proteinlerini ve programlı hücre ölümünde rol alan PUMA (*Tp53* up-regulated modulator of apoptosis), Noxa (Latin for “damage”), Bax (Bcl-2-associated X protein) ve Fas gibi proteinlerin transkripsiyonlarını da düzenlenmektedir (Bunz, 1998).

### 1.12.1. Meme Kanserinde *Tp53* Gen Mutasyonları ve Polimorfizmleri

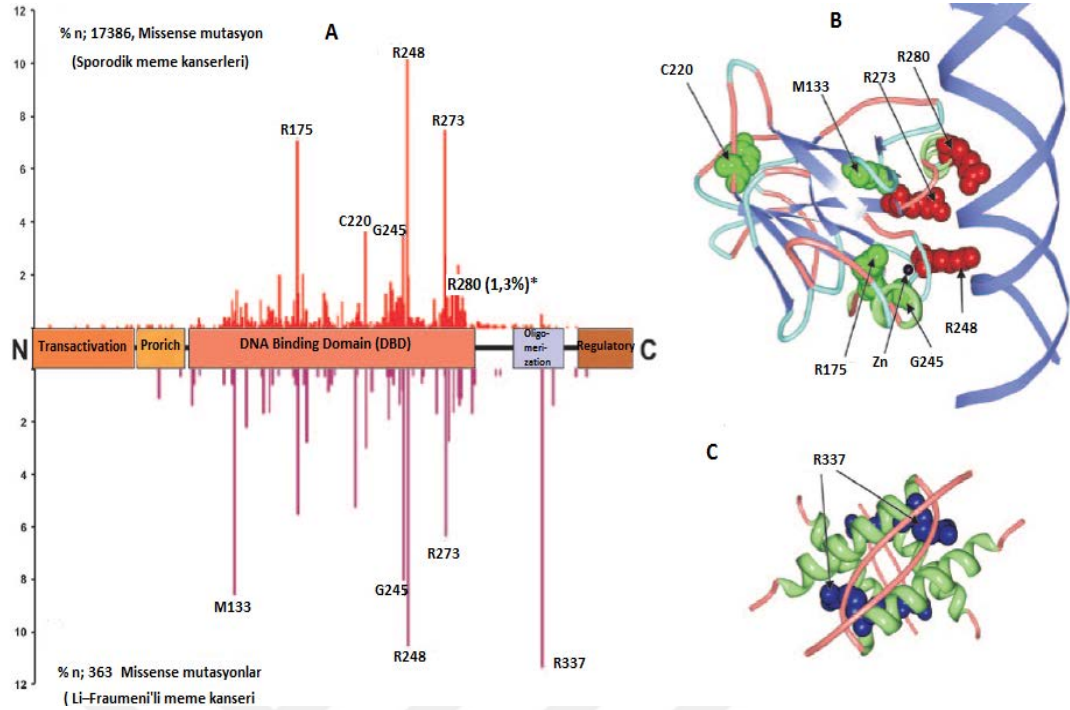
*Tp53* geni insan kanserlerinde en sık mutasyon gözlenen genlerden biridir . *Tp53* yokluğu ve fonksiyon kaybı ile sonuçlanan *Tp53*' ün somatik mutasyonları, tümör oluşumundaki en yaygın mekanizmadır. *Tp53*' ün doğrudan kaybı bazı kanser türlerinde istenmeyen prognozlarla ilişkilidir.

Kanser Somatik Mutasyon Kataloğu' na (COSMIC) göre sporadik meme kanseri örneklerinin %24' ünde *Tp53* gen mutasyonları saptanmış olup, *PIK3CA* proto-onkogeninden sonra en çok mutasyonun saptandığı ikinci gendir (Şekil 1.15).



Şekil 1.15. Meme kanserinde somatik mutasyonların en sık görüldüğü genler (URL-11)

Her ne kadar yumurtalık kanseri (%50), kalın bağırsak kanseri (%43) ve akciğer kanseri (%36) *Tp53* mutasyonunun en sık görüldüğü kanser türleri olsada, *Tp53* gen mutasyonları meme tümörlerinin moleküler karakterleri arasında yer almaktadır. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) *Tp53* veri tabanına göre (URL-8) meme kanserinde gözlenen *Tp53* gen mutasyonlarının yaklaşık %70'i missense mutasyonlardan oluşmaktadır (Petitjean vd., 2007). *Tp53* geninde diğer DNA bölgelerine oranla daha fazla mutasyon frekansına sahip olan bu bölgeler (hot spot) tümörlere özgü mutasyon paternlerini oluştururlar. *Tp53* geninde sıklıkla mutasyona uğrayan bu bölgeler arasında R175, G245, R248, R249, R273 vb. bölgeler bulunur. Meme kanserinde bu mutasyonlar DNA bağlanma bölgesinde (DBD) yoğunlaşmıştır (Şekil 1.16).



**Şekil 1.16.** Meme kanserinde missense mutasyonların yapısı ve sıklığı: **A)** İnsan *TP53* geninde meydana gelen mutasyonlar; üste sporadik meme kanserleri, altta ise Li-Fraumeni sendromlu meme kanserleri belirtilmiştir. En sık mutasyona uğrayan kodonların numaraları ile rezidü isimleri gösterilmiştir. **B)** İnsan *TP53* geninin DNA bağlanma bölgesinde meydana gelen mutasyonların proteinin 3D yapısı üzerinde gösterilmesi; DNA ile etkileşime geçen Arjinin yan zincirleri kırmızı ile, DBD bölgesinde yapısal mutantlar oluşturan kısımlar ise yeşil renkte gösterilmiştir. **C)** Li-Fraumeni sendromlu meme kanserlilerde *TP53* geninde yapısal değişiklikler oluşturan Arginine-337 (yan zincirler mavi ile gösterilmiştir) aminoasitin oligomerizasyon domaininde gösterilmesi(Walerych ve ark., 2012).

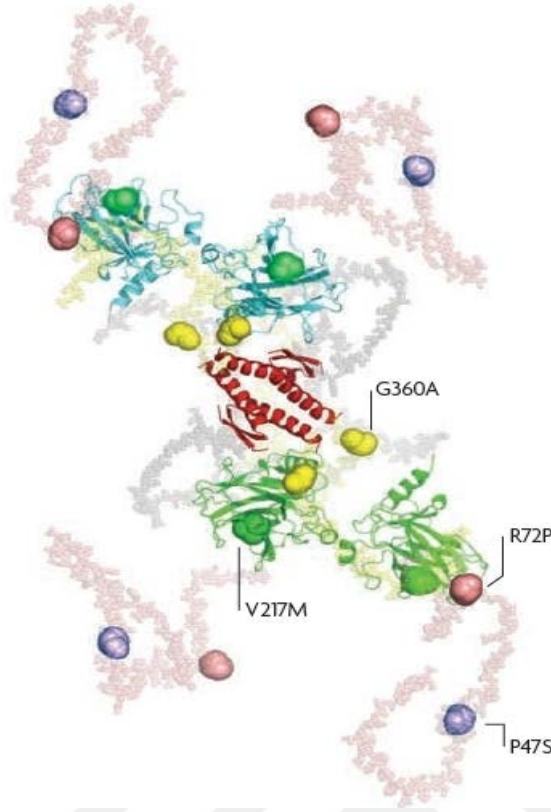
Bu mutasyonlardan en dikkat çeken kodon 220 mutasyonu olup, sporadik meme kanserinde en sık görülen 4. missense mutasyon iken (%3,6), diğer kanser türlerinde ilgili mutasyonun görülme oranı açısından 7. sıradadır (%2). Aynı şekilde meme kanserinde frekansı yüksek olan missense mutasyonlardan biride kodon 163 mutasyonudur. Bu mutasyon sıklığı meme kanserinde %2 iken diğer kanser türlerinde %1 civarındadır (Feki vd., 2004).

Germline *TP53* mutasyonları sonucu ortaya çıkan Li-Fraumeni sendromu *TP53* gen mutasyonlarının meme kanserindeki rolünü net bir şekilde ortaya koymaktadır (Malkin, 2011). Ailesel kaynaklı kanser türleri ele alındığında %25 görülme oranı ile Li-Fraumeni sendromlu meme kanseri ilk sırada yer almaktadır (Olivier vd., 2010). Li-Fraumeni sendromunda görülen mutasyon çeşitleri sporadik meme kanserinde olduğu gibi daha çok

missense mutasyonlardır (%65) (Şekil 1.16), ancak hotspot bölgeler farklılık göstermektedir. Bunun nedeni ise Li-Fraumeni sendromlu meme kanserli hastalarda kodon 337 mutasyonunun %11' lik oranla olağandışı bir frekansa sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Kalıtsal kodon 337 mutasyonu görülme sıklığı böbrek üstü bezi tümörlerinde %67 iken, meme kanserinde %1,6 civarındadır (IARC TP53). Bu durum *Tp53* geninde meydana gelen değişikliklerin meme kanseri gelişiminde farklı etkileri olabileceğinin altını çizmektedir (Walerych vd., 2012).

Bu güne kadar *Tp53* lokusunda 200 SNP ve diğer sekans varyasyonları saptanmış olup (URL-8), GWAS çalışmaları sayesinde insan genomunda yer alan yaklaşık 3.1 milyondan fazla SNP saptanmıştır (Whibley vd., 2009). *Tp53* geninde meydana gelen varyantların proteinin biyokimyasal yapısı veya biyolojik fonksiyonu üzerindeki etkileri ve bunların populasyon bazında kanser hastalıklarıyla ilişkisine yönelik çalışmalar sınırlıdır (Whibley vd., 2009).

Amino asit dizilimindeki değişiklikler, *Tp53*' ün hedef genlerin yanıt elementlerine bağlanma kabiliyetinin, post-transkripsiyonel modifikasyon için gerekli tanıma motiflerinin, proteinin stabilitesinin veya diğer proteinler ile etkileşiminin değişmesine neden olabilir. Bu polimorfizmlerden 11 tanesinin aminoasit kompozisyonunda değişiklik meydana getirdiği bilinmektedir. Buna karşılık sadece 4 tanesine TP53 veri bankalarında yer almış olup, bu durum polimorfizm frekans raporları HAPMAP veri tabanına eklenmek suretiyle doğrulanmıştır (Whibley vd., 2009). Bunlardan P47S (Felley-Bosco vd., 1993) ve R72P (Matlashewski vd., 1987) polimorfizimlerinin *Tp53* metabolik yolağında fonksiyonel değişikliklere neden oldukları kanıtlanmıştır. Ancak V217M ve G360A polimorfizimleri *Tp53* aminoasit sekansında değişiklik meydana getirdikleri halde herhangi bir kanser türüyle ilişkilendirilmemişlerdir (Şekil. 1.17).



**Şekil 1.17.** Tetramerik yapıdaki Tp53 proteininin 3 boyutlu yapısında G360A, V217M, R72P, P47S polimorfizimlerinin gösterilmesi: Glisin360 (polimorfik varyantı alanindir) sarı renkle, Valin 217 (polimorfik varyantı metiyonindir) yeşil renkte gösterilmiştir; Arginin 72 (polimorfik varyantı prolindir) pembe renkte gösterilmiştir; Prolin 47 (polimorfik varyantı serin) mor renkte gösterilmiştir (Whibley vd., 2009).

### 1.12.2. Tp53 Kodon72 (R72P) polimorfizmi

İnsanlarda *Tp53* geninin 72. kodonu ya arjinin kodlayan CGC ya da prolin kodlayan CCC dizisine sahiptir. Bu varyantlar Tp53-P72 ve Tp53-R72 olarak ifade edilmektedir. Bazı populasyonlarda Tp53-R72 yüksek frekansa sahip olmasına rağmen (> %50), insan dışı primatlara ait karşılaştırılmalı sekans sonuçları atasal formu Tp53-P72 olarak öngörmektedir (Puente vd., 2006). Tp53 kodon 72 Arjinin/Prolin (Arg-CGC/Pro-CCC) polimorfizminin görülme sıklığı etnik grup ve coğrafyaya göre değişkenlik göstermektedir. Ekvatora doğru Tp53-72 varyantının artan sıklığı, Tp53-P72' nin güneş ışığı ya da diğer çevresel kanser risk faktörlerinin olumsuz sonuçlarına karşı koruyucu olabileceğine dair hipotezleri doğurmuştur (Whibley ve ark., 2009).

Kodon72 *Tp53* geninde ekzon 4' te tümörlerle ilgili mutasyonların çok sık görüldüğü DNA Binding Domain'i (DBD) ile N-terminal transactivating bölgesi arasında uzanan

poliprolin (proline rich) domaininde yer alır. Poliprolin bölgesinin Tp53 fonksiyonu ve regülasyonundaki yeri tam olarak bilinmemektedir. Poliprolin bölgesi DBD' nin aksine türler arasında daha az korunumludur.

Kodon 72 polimorfizminin *Tp53*' ün poliprolin bölgesinde yer aldığı, bu bölgenin *Tp53*' e bağlı apoptozda önemli bir rol oynadığı ve *Tp53*' ün baskılayıcı aktivitesini arttırdığı bilinmektedir (Sakamuro vd., 1997). Bu bölge beş tane PxxP SH3 (SRC-homology-3) bağlanma motifi içermektedir. Kodon 72' de prolinin arjinin ile yer değiştirmesi durumunda bu motif ortadan kalkar. Bu durumda poliprolinin biyolojik rolü de değişmektedir. Her ne kadar DNA bağlanma kabiliyetleri aynı olsada, *Tp53* proteininin *Tp53*-P72 ve *Tp53*-R72 varyantlarının transkripsiyonel mekanizmaya bağlanma kabiliyetleri, transkripsiyonu aktive etmeleri, apoptozu indüklemeleri ve birincil hücrelerin transformasyonlarını baskılamaları birbirinden farklıdır (Thomas vd., 1999). PP bölgesi özellikle apoptozu indüklemek için önemli bir bölgedir. Hücre kültürü ve farelerdeki delesyon çalışmalarında, *Tp53* poliprolin bölgesinin strese verilen apoptotik cevapta ve tümör oluşumunun inhibisyonunda gerekli olduğu ortaya konmuştur (Walker ve Levine, 1996; Sakamuro vd., 1997; Roth vd., 2000; Toledo vd., 2007).

*Tp53*-null hücrelerin *Tp53*-R72 varyantı ile transfeksiyonu sonucu mitokondriyal apoptotik cevapta ve *Tp53* pro-apoptotik hedef gen ekspresyonlarında artış gözlenmiştir. Bu durum apoptozda *Tp53*-R72 varyantın *Tp53*-P72' den daha güçlü bir uyarıcı olduğunu göstermektedir (Dumont vd., 2003). Ayrıca *Tp53*-P72 varyantın *Tp53*-P72 varyantına göre pozitif regülatör protein PIN1' e daha zayıf bağlanıp, inhibitör proteini ASPP ile daha kolay etkileşime girmesine neden olmaktadır. Bu özellikler *Tp53*-P72' nin *Tp53*-R72' den zayıf bir apoptotik potansiyele sahip olduğunu öngörmektedir (Bergamaschi vd., 2006).

1998 yılında Storey ve arkadaşları servikal kanser riskinde p53 kodon 72 polimorfizminin dramatik bir etkisi olduğunu belirtmişlerdir (Storey vd., 1998). Bu etki, yüksek riskli mukozal insan papilloma virüslerinden (HPV' ler) gelen E6 onkoproteininin varlığının *Tp53*-P72' den ziyade *Tp53*-R72' nin daha etkili şekilde parçalanmasına, *Tp53*' ün hücrese seviyelerinin düşürülmesine neden olduğu şeklinde açıklanmıştır. Bu nedenle HPV ile ilişkili kanserlere *Tp53*-R72 homozigot varyanta sahip bireylerin HPV ilişkili kanser türlerine yakalanma risklerinin daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Bu bulgular günümüzde de devam eden meme kanserinin de dahil olduğu *Tp53* kodon 72 polimorfizminin çeşitli kanserlerle ilişkisinin ortaya konmasına yönelik çalışmaların hız kazanmasına neden olmuştur.

### 1.13. Çalışmanın Amacı

Bu çalışmada Türk popülasyonunda *FGFR2* rs1219648 ve *Tp53* rs1042522 tek nükleotid polimorfizimlerinin erken yaş meme kanseri ile ilişkisini saptamak ve çeşitli klinikopatolojik özellikler ile ilişkisini açığa çıkarmak hedeflenmiştir. Bu genlerdeki varyantların ülkemizde görülen erken yaşta meme kanserlerinde risk oluşturup oluşturmadıklarının belirlenmesi, ülkemizde erken yaşta görülen meme kanseri olgularının araştırılmasına yönelik ilk çalışma olması açısından son derece önemlidir. Bu gen varyantlarının belirlenmesi ve risk faktörlerinin ortaya konması, genç bireylerde meme kanseri riskinin azaltılması ile ilgili stratejilerin ve uygun tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine katkı sağlayacağı açıktır.

## 2. MATERYAL ve METOT

Çalışmamız için Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Kurumu' nun 24.11.2015 tarihli 10 numaralı toplantısı ile (97132852/050.01.04/) etik kurul onayı alınmış olup, çalışma Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından MF.16.31 nolu proje ile desteklenmiştir.

### 2.1. Hasta Grubu

İlk etapta çalışmamıza dahil edilmek üzere Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında, 2010-2015 yılları arasında, arşiv kayıtlarından, meme kanseri tanısı konmuş, 40 yaş altı 200 farklı hastaya ait parafin blok seçilmiştir. Hasta grubunda yer alan bireyler Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgesinde doğan ve yetişen bireylerden seçilmiştir. Bu hastalara ait tüm preparatlar ışık mikroskobu (nikon-eclipse 80i) ile tekrar değerlendirilip, canlı tümör oranı en az %50 olan 96 blok seçilmiştir. *FGFR2* rs1219648 için 75 hastanın genotiplendirilmesi yapılmışken, *Tp53* rs1042522 analizi için 96 hastanın genotiplendirilmesi yapılmıştır. Olgularımızın ER, PR, Cerb-B2 sonuçları daha önceden Dicle Üniveritesi Tıp Fakültesi laboratuvarında Ventana Benchmark XT (Ventana, Tucson, AZ) cihazı ile çalışılmış ve raporlarında mevcuttur. DNA izolasyonu için olguların parafine gömülü doku bloklarından her olgu için ayrı olmak üzere, 1.5 ml' lik ependorf tüplere 5µm' lik kesitler alınıp + 4 °C de saklanmıştır.

### 2.2. Kontrol Grubu

Yaşam alışkanlıkları benzer, yaş ve cinsiyetleri hasta grubu ile uyumlu, kendisinde ve ailesinde bilinen herhangi bir kanser türü tespit edilmemiş, toplam 96 sağlıklı gönüllü erişkin kadınlar arasından kontrol grubu oluşturulmuştur. Kontrol grubunda yer alan bireyler hasta grubunda olduğu gibi Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgesinde doğan ve yetişen bireylerden seçilmiştir. Kan örnekleri alınmadan önce kontrol grubunda belirtilen kriterlere sahip bireylerden, etik kurul kararı ile izin alınarak hazırlanan bilgilendirilmiş olur formu imzalatılmıştır. DNA izolasyonu için kontrol grubunda yer alan bireylerden 4 ml periferik venöz kan alınarak -20 °C' de derin dondurucuda çalışma yapılncaya kadar saklanmıştır.

### 2.3. Parafine Gömülü Dokulardan Genomik DNA İzolasyonu

96 olguya ait genomik DNA izolasyonu %10' luk formaldehitte tespit edilmiş parafine gömülü doku örneklerinden, cobas DNA Sample Preparation Kiti (Roche) kullanılarak aşağıda belirtilen şekilde gerçekleştirilmiştir;

1. Her hastaya ait parafin bloklardan 5 µm kalınlıkta 2-6 adet kesit alınıp 1.5 ml'lik ependorf tüpü içerisine aktarıldı.
2. Deparafinizasyon amacıyla, tüm örneklerle 500 µl ksilen eklenip, 2-3 saniye boyunca vortekslendi. Daha sonra 5 dakika süresince oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.
3. İnkübasyon sonrası, örneklerle 500 µl saf etanol eklenip, 10 saniye vortekslendi ve oda sıcaklığında 5 dakika süresince inkübasyona bırakıldı.
4. İnkübasyon süresi sonunda 16000xg' de 2 dakika boyunca santrifüj edildi.
5. Mikropipet yardımıyla pelete dokunulmadan süpernatant uzaklaştırıldı.
6. Rezidüe ksileni uzaklaştırmak için tüm örneklerle tekrar 1000 µl saf etanol eklendi, 10 saniye boyunca vortekslendi.
7. Oda sıcaklığında 16000xg' de 5 dk süresince santrifüj edildi. Mikropipet yardımıyla pelete dokunulmadan etanol uzaklaştırıldı.
8. Etanolün tamamen uzaklaşması için ependorf tüplerin ağzı açık bırakılarak, 56 °C' de ısıtıcı bloklarda 10 dakika boyunca inkübe edildi.
9. İnkübasyon sonrası doku peleti, 180 µl doku lizis tamponunda (Tissue Lysis Buffer) süspanse edildi. 70 µl proteinaz K eklendi ve vortekslenerek karıştırıldı. Dokunun lizise uğraması için 56°C' ye ayarlı ısıtıcı bloklarda 1 saat inkübasyona bırakıldı.
10. İnkübasyon süresi sonunda tüpler vortekslenerek, 90°C' ye ayarlı ısıtıcı bloklara aktarılıp tekrar 1 saat boyunca inkübasyona bırakıldı.
11. Süre sonunda tüpler oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı ve spin yapıldı.
12. Spin sonrası örneklerle 200 µl DNA PBB (parafin binding buffer) eklendi. 3 kez pipetlenerek iyice etkileşimi sağlandı ve oda sıcaklığında 10 dakika boyunca inkübe edildi.
13. İnkübasyon süresi sonunda tüm tüplere sırasıyla 100 µl izopropanol eklenip, 3 kez pipetlenerek etkileşimi sağlandı.
14. Yaklaşık 550 µl' lik karışım, kitle sağlanan spin kolonlara aktarıldı ve 8000xg' de 1 dk santrifüj edildi. Kolonlar kitle sağlanan temiz toplama tüplerine yerleştirildi ve filtrat içeren toplama tüpleri atıldı.

15. Dikkatlice yeni toplama kolonları açıldı ve filtre tüpler yeni toplama kolonlarına aktarıldı. Her bir örneğin üzerine 500 µl yıkama tamponu (Wash buffer I) eklendi. 8000xg' de 1 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası kolonlarda toplanan filtrat dökülerek, toplama kolonlarının uçları peçete ile kurutuldu. Filtreler temizlenen toplama tüplerine yerleştirildi.
16. Üzerlerine 500 µl yıkama tamponu (Washing buffer II) eklendi. 8000xg' de 1 dakika santrifüj edildi ve filtreler yeni toplama kolonlarına aktarıldı.
17. Tüpler 16000xg' de 1 dakika santrifüj edildi.
18. Filtreler steril önceden etiketlenmiş mikrosantrifüj tüplerine yerleştirildi ve filtrat içeren toplama tüpleri atıldı. 80 µl elüsyon tamponu (Elution buffer) filtreler eklendi. Oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi ve 8000xg' de 1 dakika santrifüj edildi.
19. Elde edilen DNA örnekleri -20 °C' de saklandı.

#### **2.4. Kandan Genomik DNA izolasyonu**

Kontrol grubuna ait 96 bireyden alınan kan örneklerinden genomik DNA izolasyonu QIAamp Blood Mini kiti (Qiagene, Almanya) kullanılarak aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir;

İzolasyon aşamasından önce kit ile beraber sağlanan liyofilize Qiagene proteaz üzerine 1.2 ml proteaz solüsyonu eklenip, -20 °C' de saklandı.

1. 1.5 ml' lik santrifüj tüplerine 20 µl proteaz eklendi.
2. Kontrol grubuna ait kan örneğinden, içerisinde proteaz bulunan tüplere 200 µl aktarıldı. Kan örneğinin 200 µl' den az olması durumunda PBS ile 200 µl' ye tamamlandı.
3. İçerisinde proteaz ve kan örneği karışımının bulunduğu santrifüj tüplerine 200 µl AL tamponu aktarılıp, 15 saniye vortekslendi.
4. Lizis aşaması için 56°C' ye ayarlı ısıtıcı bloklarda 10 dakika inkübasyona bırakıldı.
5. Santrifüj tüpleri kapağında biriken örneklerin toplanması amacıyla kısa süreli santrifüj işlemi gerçekleştirildi.
6. Örnekler 200 µl etanol (%96-100) eklendi ve 15 saniye vortekslenerek karıştırıldı. Tüplerin kapağında biriken örneklerin toplanması için tekrar kısa süreli santrifüj işlemi gerçekleştirildi.
7. 2 ml toplama tüpü içerisindeki mini spin kolona 6. adımda elde ettiğimiz karışım pipetlendi. 8000 rpm' de 1 dakika santrifüjlendi ve filtrat içeren tüp atıldı.

8. Yeni 2 ml' lik toplama tüpü içerisine mini spin kolonu yerleştirilip üzerine 500 µl AW1 tamponu eklendi. 8000 rpm' de 1 dakika santrifüjlendi.
9. Yeni 2 ml' lik toplama tüpü içerisine mini spin kolonu yerleştirilip, üzerine 500 µl AW2 tamponu eklendi. 14000 rpm' de 3 dakika santrifüjlendi.
10. Temiz 1.5 ml' lik mikrosantrifüj tüpünün içerisine mini spin kolonu yerleştirildi. 200 µl AE tamponu direk olarak mini spin kolon membranının içerisine pipetlendi. Oda sıcaklığında 1 dakika bekletildikten sonra 8000 rpm' de 1 dakika santrifüjlendi

## 2.5. DNA Saflığının ve Miktarının Belirlenmesi

Kandan ve parafine gömülü dokulardan elde DNA örneklerinin Real-time PCR' da kullanılabilir kalitede ve miktarda olup olmadığı BioDrop µLITE spektrofotometre ile (BioDrop µLITE Product Code 80-3006-51/United Kingdom) 260nm / 280nm dalga boyunda ölçülüp değerlendirildi. Optik dansite 260 / Optik dansite 280 oranının 1,8 olması DNA' nın saflığını gösterir. Çalışmamızda saflık oranları 1,8 civarı olan DNA' lar kullanıldı.

## 2.6. Real-Time PCR (Gerçek Zamanlı PCR)

*FGFR2* geni rs1219648 ve *Tp53* geni rs1042522 SNP analizleri, LightCycler 480 II Real-Time PCR sistemi (Roche, Almanya) kullanılarak yapıldı. Hedef rs1219648 ve rs1042522 SNP' lerinin belirlenmesi amacıyla, ilgili gen bölgelerinin çoğaltılmasında kullanılan primerler ve hibridizasyon problemlerinin dizaynı Tıbbi Molbiol (Berlin, Almanya) tarafından yapıldı. Gerçek-zamanlı PCR' da her bir SNP analizi için hazırlanan reaksiyon karışımları Tablo 2.1' de gösterildi. Her bir karışım Tablo 2.1' de belirtilen sıra ve miktarlarda 50µl' lik ependorf tüpüne aktarıldı ve pipetlenerek homojenize edildikten sonra 96' lık kapiller plakalara 15µl olacak şekilde paylaştırıldı. Her bir kapiller tüpe 5 µl DNA örneği eklendi. Toplam 20 µL reaksiyon karışımı içeren kapillerler, hedef bölgenin çoğaltılması ve SNP analizi için LightCycler 480 II Real-Time PCR sistemine yerleştirildi.

**Tablo 2.1.** *FGFR2* geni rs1219648 ve *Tp53* geni rs1042522 SNP analizleri için hazırlanan PCR reaksiyon karışımları

| İçerik               | Hacim<br>(rs1219648) | Hacim<br>(rs1042522) |
|----------------------|----------------------|----------------------|
| H <sub>2</sub> O     | 10,4 µl              | 10,4 µl              |
| LightSNiP            | 1 µl                 | 1 µl                 |
| FastStart DNA master | 2 µl                 | 2 µl                 |
| MgCl (25mM)          | 1,6 µl               | 1,6 µl               |
| DNA                  | 5 µl                 | 5 µl                 |
| Toplam               | 20 µl                | 20 µl                |

*FGFR2* geni rs1219648 ve *Tp53* geni rs1042522 SNP analizlerine özgün primer-prob setleri ile optimizasyon çalışmaları yapılmış olup, bu optimizasyonlar hem amplifikasyon hemde erime eğrisi analizleri için PCR koşulları belirlendi. İlk olarak hedef bölgenin amplifikasyonu sağlandı ve daha sonra ampikonun identifikasyonu erime eğri analizi (melting curve analysis) ile yapıldı. Her iki SNP analizi için optimize edilen gerçek-zamanlı PCR protokolleri aynı olup Tablo 2.2’ de verilmiştir.

**Tablo 2.2.** rs1219648 ve rs1042522 SNP analizleri için Real-Time PCRprotokolü

| Analiz Aşamaları                                                | Döngü Sayısı | Real-Time PCR aşamaları             | Sıcaklık (°C)  | Süre                                |
|-----------------------------------------------------------------|--------------|-------------------------------------|----------------|-------------------------------------|
| Ön inkübasyon                                                   | 1            |                                     | 95             | 10 dakika                           |
| PCR döngüsü                                                     | 45           | Denatürasyon<br>Bağlanma<br>Uzama   | 95<br>60<br>72 | 10 saniye<br>10 saniye<br>15 saniye |
| Melting curve analizi<br>(Amplikona ait genotipin belirlenmesi) | 1            | Denatürasyon<br>Bağlanma<br>Melting | 95<br>40<br>75 | 30 saniye<br>2 dakika<br>0 saniye*  |
| Soğutma                                                         | 1            |                                     | 40             | 30 saniye                           |

\*0,3 °C/sn artışlarla sürekli okuma yaptırıldı.

## 2.7. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler SPSS version 16 (SPSS Inc. Chicago IL USA) ile gerçekleştirilmiştir. Elde edilmiş olan allel ve genotip frekansları Ki-kare ( $\chi^2$ ) testi kullanılarak Hardy-Weinberg Denge analizi açısından karşılaştırıldı ve farklılıklar değerlendirildi. Hasta ve kontrol grupları arasındaki allel ve genotip frekanslarını karşılaştırmak için  $\chi^2$ , p değeri, odds değeri (OR) ve %95 güven aralıkları (CI) hesaplandı.  $p$  değerinin  $< 0,05$  olması istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi. Elde edilen bulgular incelenerek, erken yaş meme kanserinin analizi yapılan polimorfizmlerle ilişkisinin olup olmadığı belirlendi.



### 3. BULGULAR

#### 3.1. *FGFR2* rs1219648 Polimorfizm Analizi İçin Çalışmaya Dahil Edilen Hasta ve Kontrol Grubunun Özellikleri

Diyarbakır Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı' na 2010-2015 yılları arasında gönderilmiş, meme kanseri tanısı konmuş toplamda 96 adet materyal çalışmaya alındı. Ancak PCR aşamasında 75 hastanın genotiplendirilmesi yapılabildi. Kontrol grubuna hepsi bayanlardan oluşmuş, ne kendilerinde nede ailelerinde kanser öyküsü olmayan, hasta grubu ile benzer kökenlere sahip toplam 96 birey dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen hastaların hepsi kadın hastalardan oluşmaktadır. Hastalara ait materyallerin tümör lokalizasyonları 35 tanesi sağ meme, 39 tanesi sol meme, 1 tanesi de sağ ve sol meme şeklindeydi. Çalışmaya dahil edilen hasta gruplarının yeni ve eski WHO (Dünya Sağlık Örgütü) sınıflamalarına göre tümör histomorfolojik tipleri ve sayıları Tablo 2' de gösterildi. Hastaların 56 (%75,7)' sı invaziv duktal karsinom, 6' sı (%8) malign epitelyal tümör, 1' i (%1,3) mikropapiller karsinom, 2' si (%2,7) medüller karsinom, 2' si (% 2,7) tübülobülöler karsinom, 1'i (%1,3) invaziv musinoz karsinom, 1'i (%1,3) mikst duktal ve lobüler karsinom, 2' si (%2,7) invaziv kribriform karsinom, 1' i (%1,3) malign mezenkimal tümör, 1' i (%1,3) invaziv lobüler karsinom, 2' si (%2,7) invaziv meme karsinom histomorfolojik alt tipe sahiptir (Tablo 3.1).

**Tablo 3.1.** *FGFR2* rs1219648 polimorfizm analizi için çalışmaya dahil edilen hastalara ait meme tümörlerinin histomorfolojik alt tipleri

| Histomorfolojik alt tipleri      | Sayı      | Yüzde (%) oranı |
|----------------------------------|-----------|-----------------|
| İnvaziv Duktal Karsinom          | 56        | 75,7            |
| Malign Epitelyal Tümör           | 6         | 8,0             |
| Mikropapiller Karsinom           | 1         | 1,3             |
| Medüller Karsinom                | 2         | 2,7             |
| Tübülobülöler Karsinom           | 2         | 2,7             |
| İnvaziv Musinoz Karsinom         | 1         | 1,3             |
| Mikst Duktal ve Lobüler Karsinom | 1         | 1,3             |
| İnvaziv Kribriform Karsinom      | 2         | 2,7             |
| Malign Mezenkimal Tümör          | 1         | 1,3             |
| İnvaziv Lobüler Karsinom         | 1         | 1,3             |
| İnvaziv Meme Karsinomu (Nos)     | 2         | 2,7             |
| <b>Toplam</b>                    | <b>75</b> | <b>100</b>      |

FGFR2 rs1219648 genotiplleme çalışmasına dahil edilen meme kanserli hastaların alt yaş sınırlaması 18, üst yaş sınırlaması 40 olarak belirlendi. Meme kanserli hastaların yaş ortalamaları  $33.56 \pm 5.08$  olarak saptandı. Çalışmaya dahil edilen kontrol grubundaki sağlıklı bireylerin yaş aralıkları hasta grubu ile benzer olup, en düşük 18 yaş en yüksek 40 yaş olarak sınırlandırıldı. Meme kanserli hastalara ait 75 adet rezeksiyon materyalinin bilgilerine ulaşılmış olup, modifiye bloom richardson sınıflamasına göre 27 adedi Grade III (%36), 36 adedi Grade II (%48), 12 adedi Grade I (%16) idi. Olgulardan 21 (%28) hastanın tümör boyutu 2 cm ve altı, 34 (%45,3) olgunun tümör boyutu 2 cm' den büyük 5 cm'den küçük, 20 (%26,6) hastanın ise 5 cm'den büyüktür (Tablo 2). 66 hastanın ER durumu, PgR durumu ve Her-2 durumu saptanmış olup, bunlardan; 37'si (%49,3) ER (+), 29' u (%38,7 ) ER (-), 9' u (%12) ise belirlenemedi, 33' ü (%44) PgR (+), 33' ü (%44) PgR (-), 9' u (%12) belirlenemedi, 36' sı (%48) Her-2 (+), 30' u (%40) Her-2 (-), 9' u (% 12) ise belirlenemedi. Çalışmaya dahil edilen hastaların ve kontrol grubunun hepsi premenopozal evrededir (Tablo 3.2).

**Tablo 3.2.** *FGFR2* rs1219648 polimorfizm analizi çalışmaya dahil edilen hastaların sosyodemografik ve tümör özellikleri

| Değişkenler                                  | Total hasta<br>(n) = 75 | Yüzde (%)* |
|----------------------------------------------|-------------------------|------------|
| <b>Tümör boyutu</b>                          |                         |            |
| ≤ 2 cm                                       | 21                      | 28         |
| > 2 cm to ≤ 5 cm                             | 34                      | 45,3       |
| > 5 cm                                       | 20                      | 26,6       |
| <b>Grade</b>                                 |                         |            |
| 1                                            | 12                      | 16         |
| 2                                            | 36                      | 48         |
| 3                                            | 27                      | 36         |
| <b>Östrojen Reseptör (ER)<br/>Durumu</b>     |                         |            |
| ER (+)                                       | 37                      | 49,3       |
| ER (-)                                       | 29                      | 38,7       |
| Bilinmeyen                                   | 9                       | 12         |
| <b>Progesteron Reseptör<br/>(PgR) Durumu</b> |                         |            |
| PgR (+)                                      | 33                      | 44         |

**Tablo 3.2.** ‘nin devamı

|                        |    |     |
|------------------------|----|-----|
| PgR (-)                | 33 | 44  |
| Bilinmeyen             | 9  | 12  |
| <b>Her-2 Durumu</b>    |    |     |
| Her-2 (+)              | 36 | 48  |
| Her-2 (-)              | 30 | 40  |
| Bilinmeyen             | 9  | 12  |
| <b>Menopozal durum</b> |    |     |
| Premenopozal           | 75 | 100 |
| Postmenopozal          | 0  | 0   |

\*Kayıp değerler yüzünden totali %100 olmayabilir.

### **3.2. *Tp53* rs1042522 Polimorfizm Analizi İçin Çalışmaya Dahil Edilen Hasta ve Kontrol Grubunun Özellikleri**

*Tp53* rs1042522 polimorfizm analizi için Diyarbakır Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı’ na 2010-2015 yılları arasında gönderilmiş, meme kanseri tanısı konmuş toplamda 96 bayan hasta çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubuna ise hepsi bayanlardan oluşmuş, ne kendilerinde nede ailelerinde kanser öyküsü olmayan, hasta grubu ile benzer kökenlere sahip toplam 96 birey dahil edildi. Hasta grubuna ait materyallerin tümör lokalizasyonları 47 tanesi sağ meme, 48 tanesi sol meme, 1 tanesi de sağ ve sol meme şeklindeydi. Çalışmaya dahil edilen hasta gruplarının yeni ve eski WHO (Dünya Sağlık Örgütü) sınıflamalarına göre tümör histomorfolojik tipleri ve sayıları Tablo 3.3’ te gösterildi. Hastaların 71’ i (%74) invaziv duktal karsinom, 10’ u (%10,5) malign epitelyal tümör, 2’ si (%2,1) invaziv mikropapiller karsinom, 1’ i (%1) mikropapiller karsinom, 2’ si (%2,1) medüller karsinom, 2’ si (%2,1) tübülolobüler karsinom, 1’ i (%1) invaziv musinoz karsinom, 1’ i (%1,3) mikst duktal ve lobüler karsinom, 2’ si (%2,7) invaziv kribriform karsinom, 1’ i (%1) malign mezenkimal tumor, 1’ i (%1) invaziv lobüler karsinom, 2’ si (%2,1) invaziv meme karsinom histomorfolojik alt tipe sahiptirler.

**Tablo 3.3.** *Tp53* rs1042522 polimorfizm analizi için çalışmaya dahil edilen hastalara ait meme tümörlerinin histomorfolojik alt tipleri

| Histomorfolojik alt tipleri      | Sayı      | Yüzde(%) oranı |
|----------------------------------|-----------|----------------|
| İnvaziv Duktal Karsinom          | 71        | 74             |
| Malign Epitelyal Tümör           | 10        | 10,5           |
| İnvaziv Mikropapiller Karsinom   | 2         | 2,1            |
| Mikropapiller Karsinom           | 1         | 1              |
| Medüller Karsinom                | 2         | 2,1            |
| Tubülobülöler Karsinom           | 2         | 2,1            |
| İnvaziv Musinoz Karsinom         | 1         | 1              |
| Mikst Duktal ve Lobüler Karsinom | 1         | 1              |
| İnvaziv Kribriform Karsinom      | 2         | 2,1            |
| Malign Mezenkimal Tümör          | 1         | 1              |
| İnvaziv Lobüler Karsinom         | 1         | 1              |
| İnvaziv Meme Karsinomu (Nos)     | 2         | 2,1            |
| <b>Toplam</b>                    | <b>96</b> | <b>100</b>     |

*Tp53* rs1042522 polimorfizm genotipleme çalışmasına dahil edilen meme kanserli hastaların alt yaş sınırlaması 18 yaş olup ve üst yaş sınırlaması ise 40 yaş olarak belirlendi. Meme kanserli hastaların yaş ortalamaları  $33,59 \pm 5,52$  olarak saptandı. Çalışmaya dahil edilen kontrol grubundaki sağlıklı bireylerin yaş aralıkları hasta grubu ile benzer olup, en düşük 18 yaş en yüksek 40 yaş olarak sınırlandırıldı. Modifiye bloom richardson sınıflamasına göre 30 tanesi Grade III (%31,2), 41 adedi Grade II (%42,7), 12 adedi Grade I (%12,5) iken, 13 (%13,5) hastanın bilgisine ulaşamadı. Olgulardan 27 (%28,1) olgunun tümör boyutu 2 cm ve altı, 31 (%42,7) olgunun tümör boyutu 2 cm' den büyük 5 cm' den küçük, 26 (%27,1) olgunun 5 cm' den büyük, 2 olgunun ise (%2,1) ise bilgilerine ulaşamadı (Tablo 3.4). 83 hastanın ER durumu, PgR durumu ve Her-2 durumu saptanmış olup, bunlardan 46' sı (%48) ER (+), 37' si (%38,5 ) ER (-), 13 (%13,5) hastanın ise ER durumu belirlenemedi. 44' ü (%45,8) PgR (+), 39' u (%40,6) PgR (-), 13 (%13,5) hastanın ise PgR durumu belirlenemedi. 42' si (%43,7) Her-2 (+), 41' i (%42,7) Her-2 (-), 13' ünün (%13,5) ise Her-2 durumu belirlenemedi. Çalışmaya dahil edilen hastaların ve kontrol grubunun hepsi premenopozal evrededir (Tablo 3.4).

**Tablo 3.4.** *Tp53 rs1042522* polimorfizm analizi çalışmaya dahil edilen hastaların sosyodemografik ve tümör özellikleri

| Değişkenler                                  | Total hasta<br>(n) = 96 | Yüzde (%)* |
|----------------------------------------------|-------------------------|------------|
| <b>Tümör boyutu</b>                          |                         |            |
| ≤ 2 cm                                       | 25                      | 26,04      |
| > 2 cm to ≤ 5 cm                             | 37                      | 38,54      |
| > 5 cm                                       | 23                      | 23,95      |
| Bilinmeyen                                   | 11                      | 11,45      |
| <b>Grade</b>                                 |                         |            |
| 1                                            | 12                      | 12,5       |
| 2                                            | 41                      | 42,7       |
| 3                                            | 30                      | 31,2       |
| Bilinmeyen                                   | 13                      | 13,5       |
| <b>Östrojen Reseptör (ER)<br/>Durumu</b>     |                         |            |
| ER (+)                                       | 46                      | 48         |
| ER (-)                                       | 37                      | 38,5       |
| Bilinmeyen                                   | 13                      | 13,5       |
| <b>Progesteron Reseptör<br/>(PgR) Durumu</b> |                         |            |
| PgR (+)                                      | 44                      | 45,8       |
| PgR (-)                                      | 39                      | 40,6       |
| Bilinmeyen                                   | 13                      | 13,5       |
| <b>Her-2 Durumu</b>                          |                         |            |
| Her-2 (+)                                    | 42                      | 43,7       |
| Her-2 (-)                                    | 41                      | 42,7       |
| Bilinmeyen                                   | 13                      | 13,5       |
| <b>Menopozal durum</b>                       |                         |            |
| Premenopozal                                 | 96                      | 100        |
| Postmenopozal                                | 0                       | 0          |

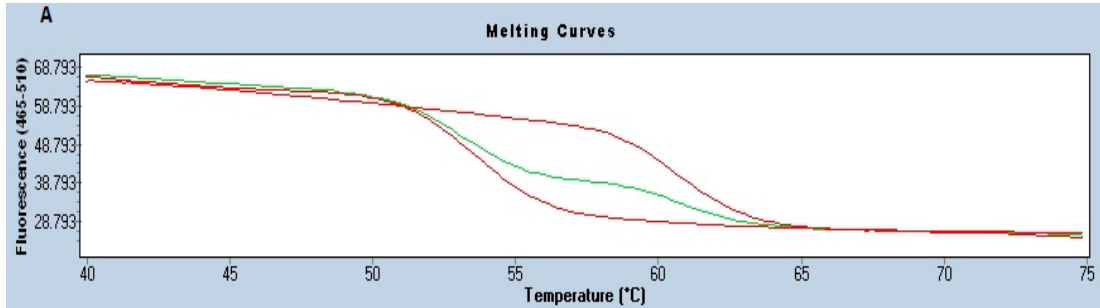
\*Kayıp değerler yüzünden totali %100 olmayabilir.

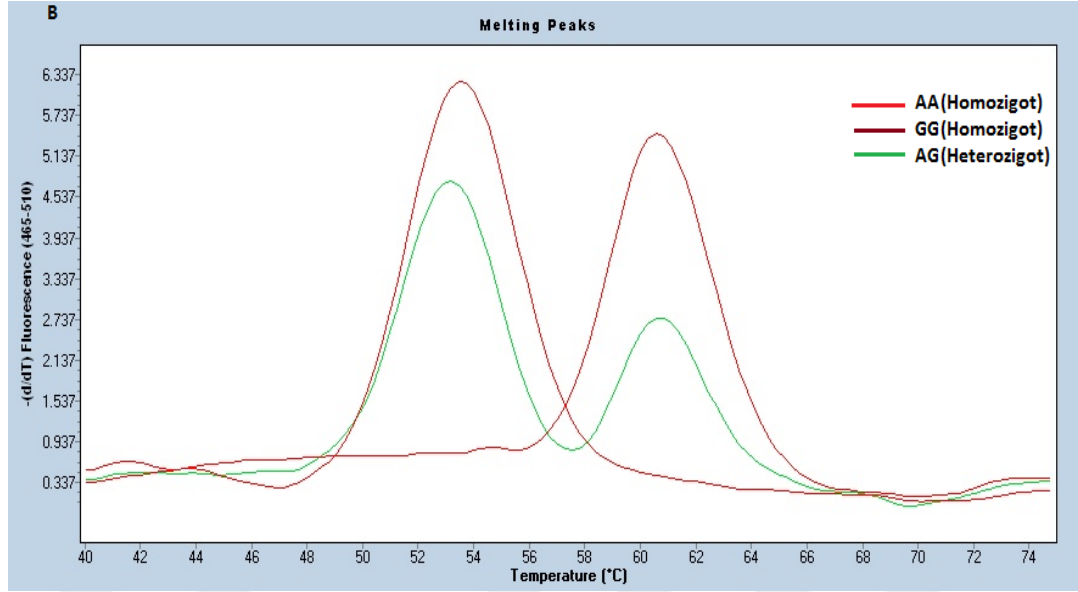
### 3.3. Real –Time PCR ile *FGFR2* ve *Tp53* Gen Polimorfizmlerinin Analizi

#### 3.3.1. *FGFR2* rs1219648 Polimorfizminin Hasta Grubunda Analizi

40 yaş altı meme kanserli hastalara ait 75 adet parafine gömülü dokulardan izole edilen DNA örnekleri konsantrasyonları belirlendikten sonra Real-Time PCR aşamasına kadar -20 °C de saklandı. *FGFR2* geni ikinci intronunda yer alan ve hedef SNP' yi içeren bölge primer ve prob seti kullanılarak, optimize edilmiş protokolde belirtilen reaksiyon koşullarına göre çoğaltıldı. Çoğaltılan hedef bölgenin varlığı, özgün hibridizasyon prob çifti ile gerçekleşen floresan artışı ile belirlendi.

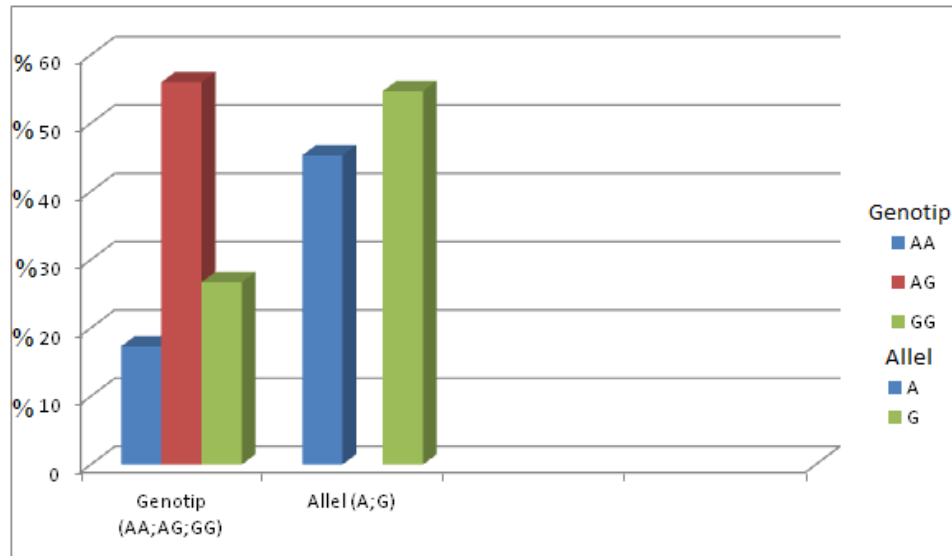
Amplikonun identifikasyonu ise Roche Light Cycler 480 Real-Time PCRYazılım programında yer alan erime eğrisi analizi ile yapıldı. Her bir örneğe ait 640 nm dalga boyunda ölçülen floresanın negatif türevini ısıya göre değerlendiren ve amplikona özgün erime derecesini ( $T_m$ ) gösteren grafik elde edildi. Buna göre *FGFR2* rs1219648 polimorfizmi için sadece  $53 \pm 1$  °C' de erime eğrisi gözlenen örneklerin AA genotipine,  $53 \pm 1$  °C ve  $61 \pm 1$  °C' de erime eğrisi gözlenen örneklerin AG genotipine ve sadece  $61 \pm 1$  °C' de erime eğrisi gözlenen örneklerin GG genotipine sahip oldukları saptandı (Şekil 3.1).





**Şekil 3.1.** Hasta grubunda yer alan olgularda FGFR2 geni 2.intronda yer alan rs1219648 polimorfizim analizine özgün erime eğrisi; **A:** Analizi gerçekleştirilen hasta grubunda melting curve değerleri **B:** Analizi gerçekleştirilen hasta grubunda erime eğrileri ve Tm değerleri

Analizi gerçekleştiren 75 hastanın 13 (%17,3)' ünün AA genotipine, 42 (%56)' sinin AG genotipine, 20 (%26,7)' sinin GG genotipine sahip olduğu belirlendi. Tüm olgular allel bazında değerlendirildiğinde A alleli sayısının 68 (%45,3) olduğu, G alleli sayısının ise 82 (%54,7) olduğu saptandı (Şekil 3.2).

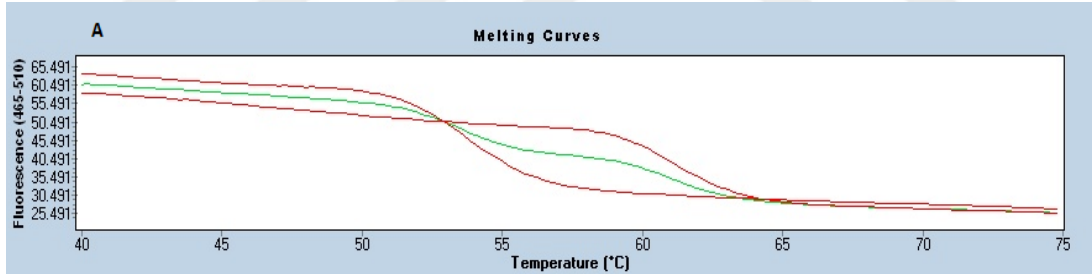


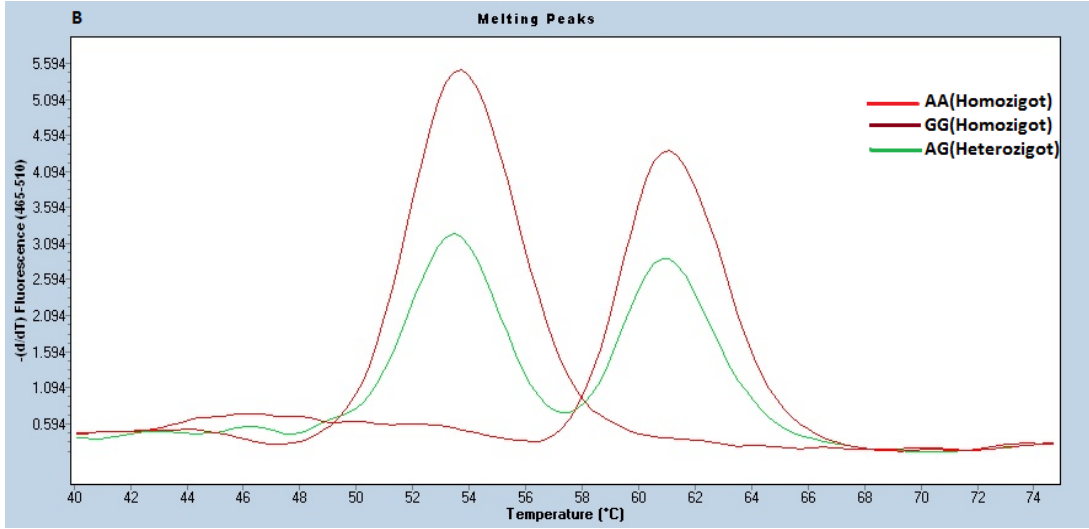
**Şekil 3.2.** Hasta grubunda yer alan olgularda FGFR2 rs1219648 genotip (AA; AG; GG) ve allel (A;G) dağılımı

### 3.3.2. *FGFR2* rs1219648 Polimorfizminin Kontrol Grubunda Analizi

40 yaş altı 96 gönüllü bayanın kanından DNA izolasyonu sonucu elde edilen genomik DNA örneklerinin konsantrasyonları belirlendikten sonra gerçek zamanlı PCR aşamasına kadar -20 °C derecede saklandı. *FGFR2* geni ikinci intronunda yer alan ve hedef SNP' yi içeren bölge primer ve prob seti kullanılarak, optimize edilmiş protokolde belirtilen reaksiyon koşullarına göre çoğaltıldı. Çoğaltılan hedef bölgenin varlığı, hasta grubunda olduğu gibi özgün hibridizasyon prob çifti ile gerçekleşen floresan artışıyla belirlendi.

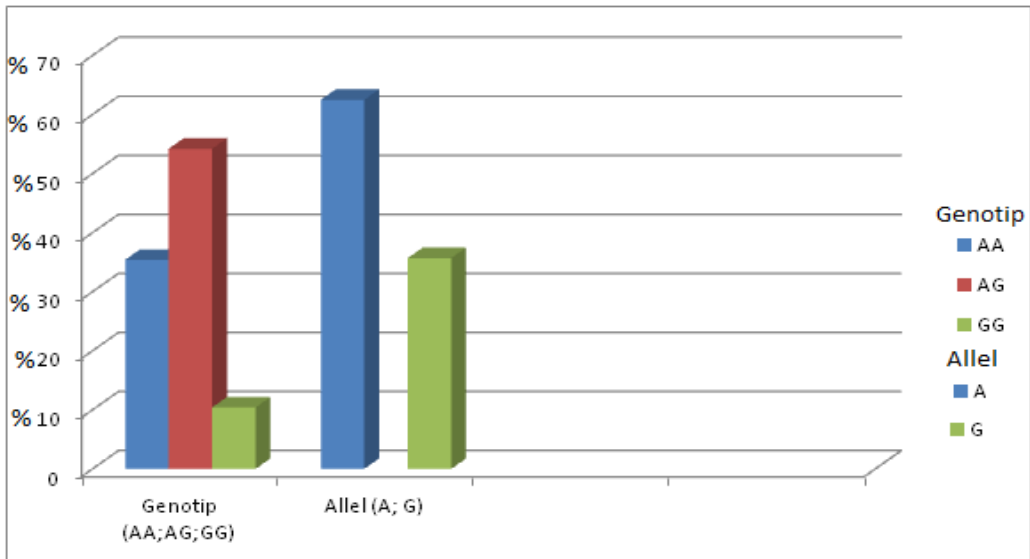
Amplikonun identifikasyonu ise Roche Light Cycler 480 Real-Time PCRYazılım programında yer alan erime eğrisi analizi ile yapıldı. Her bir örneğe ait 640 nm dalga boyunda ölçülen floresanın negatif türevini ısıya göre değerlendiren ve amplikona özgün erime derecesini ( $T_m$ ) gösteren grafik elde edildi. Buna göre *FGFR2* rs1219648 polimorfizmi için sadece  $53\pm1$  °C' de erime eğrisi gözlenen örneklerin AA genotipine,  $53\pm1$  °C ve  $61\pm1$  °C' de erime eğrisi gözlenen örneklerin AG genotipine ve sadece  $61\pm1$  °C' de erime eğrisi gözlenen örneklerin GG genotipine sahip oldukları saptandı (Şekil 3.3).





**Şekil 3.3.** Kontrol grubuna ait olgularda *FGFR2* geni 2.intronda yer alan rs1219648 polimorfizm analizine özgün erime eğrisi; **A:** Analizi gerçekleştirilen kontrol grubunda melting curve değerleri**B:** Analizi gerçekleştirilen kontrol grubunda erime eğrileri ve Tm değerleri

Analizi gerçekleştiren 96 bireyden oluşan kontrol grubunda 34' ünün (%35,4) AA genotipine, 52' sinin (%54,2) AG genotipine, 10' unun (%10,4) GG genotipine sahip olduğu belirlendi. Tüm olgular allel bazında değerlendirildiğinde A alleli sayısının 120 (%62,5), G alleli sayısının ise 72 (%35,7) olduğu belirlendi (Şekil 3.4).

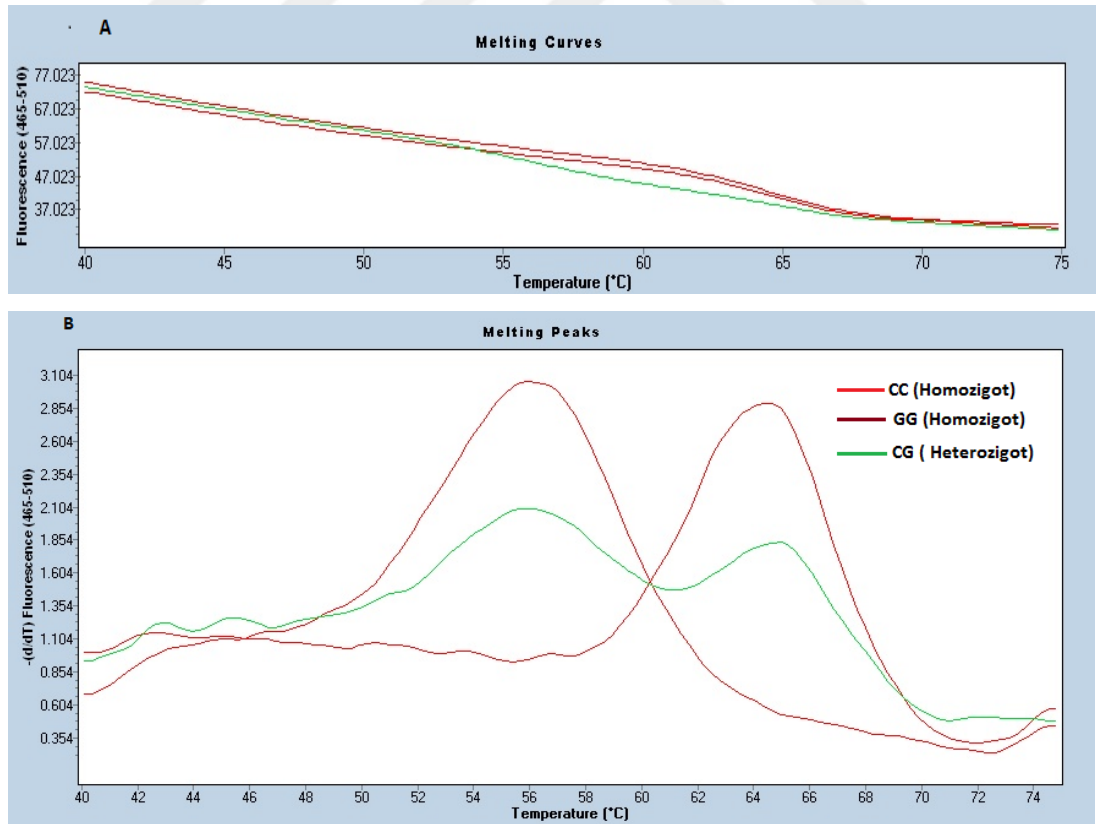


**Şekil 3.4.** Kontrol grubunda yer alan olgularda *FGFR2* rs1219648 genotip (AA; AG; GG) ve allel (A;G) dağılımı

### 3.3.3. *Tp53* rs1042522 Polimorfizminin Hasta Grubunda Analizi

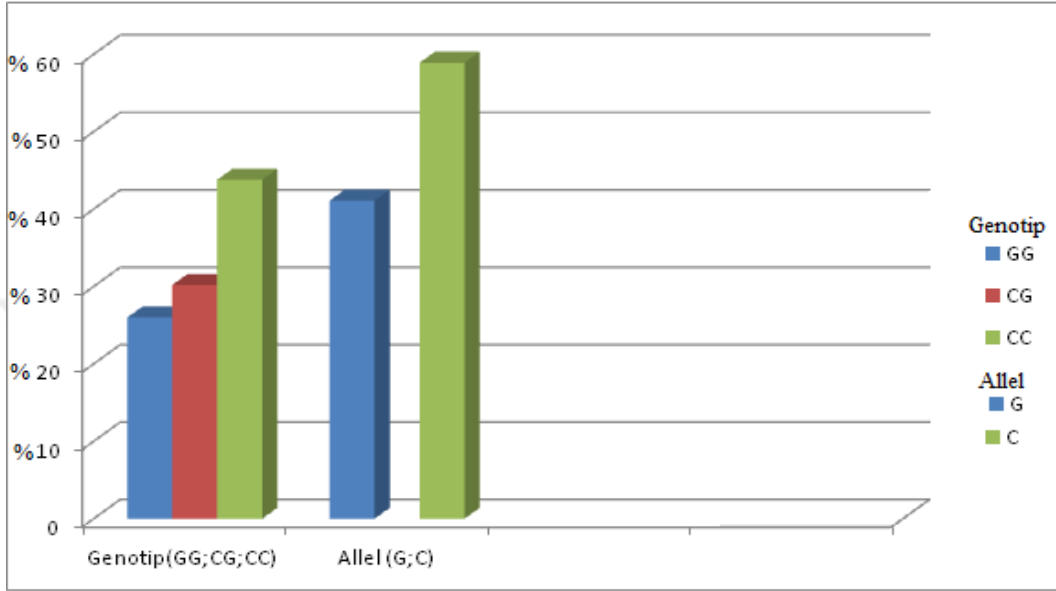
40 yaş altı meme kanserli hastalara ait 96 adet parafine gömülü dokulardan izole edilen DNA örnekleri konsantrasyonları belirlendikten sonra, *Tp53* rs1042522 polimorfizmin gerçek zamanlı PCR ile analizine kadar -20 °C de saklandı. *Tp53* geninde yer alan ve hedef SNP' yi içeren bölge primer ve prob seti kullanılarak, optimize edilmiş protokolde belirtilen reaksiyon koşullarına göre çoğaltıldı. Çoğaltılan hedef bölgenin varlığı, özgün hibridizasyon prob çifti ile gerçekleşen floresan artışı ile belirlendi.

Çoğaltılan bölgenin identifikasyonu ise Roche Light Cycler 480 Real-Time PCR yazılım programında yer alan erime eğrisi analizi ile yapıldı. Her bir örneğe ait 640 nm dalga boyunda ölçülen floresanın negatif türevini ısıya göre değerlendiren ve amplicona özgün erime derecesini ( $T_m$ ) gösteren grafik elde edildi. Buna göre *Tp53* rs1042522 polimorfizmi için sadece  $56 \pm 2$  °C' de erime eğrisi gözlenen örneklerin CC genotipine,  $56 \pm 2$  °C ve  $65 \pm 2$  °C' de erime eğrisi gözlenen örneklerin CG genotipine ve sadece  $65 \pm 2$  °C' de erime eğrisi gözlenen örneklerin GG genotipine sahip oldukları saptandı (Şekil 3.5).



**Şekil 3.5.** Hasta grubuna ait olgularda *Tp53* rs1042522 polimorfizm analizine özgün erime eğrisi; **A:** Analizi gerçekleştirilen hasta grubunda melting curve değerleri **B:** Analizi gerçekleştirilen hasta grubunda erime eğrileri ve  $T_m$  değerleri

*Tp53* rs1042522 analizi için 96 olgudan oluşan hasta grubunun 25' inin (%26) GG genotipine, 29' unun (%30,2) CG genotipine, 42' sinin (%43,8 ) CC genotipine sahip olduğu saptandı. Allel bazında değerlendirildiğinde ise G alleli sayısının 79 (%41,1), C allel sayısının ise 113 (%58,9) olduğu saptandı (Şekil 3.6).



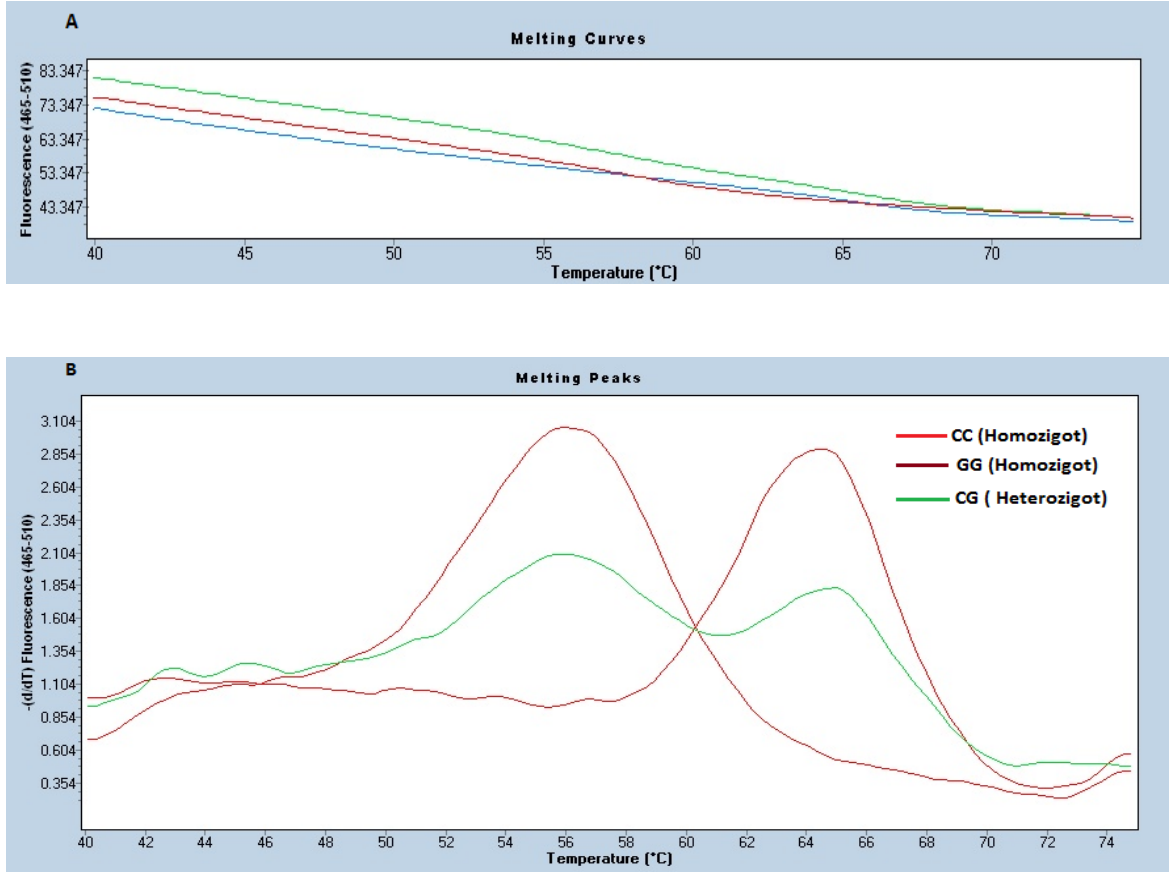
Şekil 3.6. Hasta grubunda yer olgularda *Tp53* rs1042522 genotip (GG; CG; CC) ve allel(G;C) dağılımı

### 3.3.4. *Tp53* rs1042522 Polimorfizminin Kontrol Grubunda Analizi

40 yaş altı 96 bayana ait kandan izole edilen genomik DNA örnekleri, konsantrasyonları belirlendikten sonra Real-Time PCR analizine kadar -20 °C' de saklandı. *Tp53* geninde yer alan ve rs1042522 polimorfizmini içeren bölge primer ve prob seti kullanılarak, hasta grupları için belirtilen reaksiyon koşullarına göre çoğaltıldı. Çoğaltılan hedef bölgenin varlığı, özgün hibridizasyon prob çifti ile gerçekleşen floresan artışı ile belirlendi.

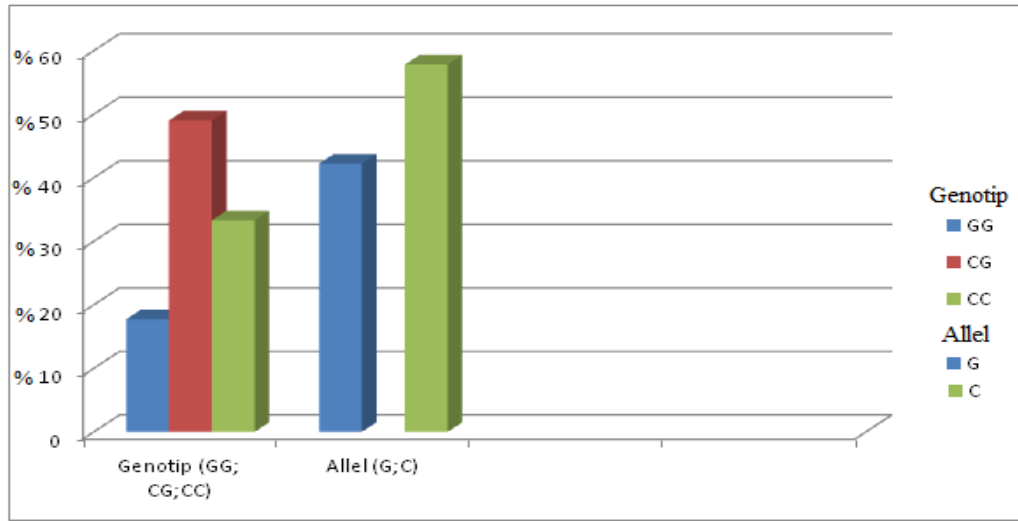
Çoğaltılan bölgenin identifikasyonu ise Roche Light Cycler 480 Real-Time PCRYazılım programında yer alan erime eğrisi analizi ile yapıldı. Her bir örneğe ait 640 nm dalga boyunda ölçülen floresanın negatif türevini ısıya göre değerlendiren ve amplicona özgün erime derecesini (Tm) gösteren grafik elde edildi. Buna göre *Tp53* rs1042522 polimorfizmi için sadece 56±2 °C'de erime eğrisi gözlenen örneklerin CC genotipine, 56±2 °C ve 65±2 °C' de erime eğrisi gözlenen örneklerin CG genotipine ve

sadece  $65 \pm 2$  °C’ de erime eğrisi gözlenen örneklerin GG genotipine sahip oldukları saptandı (Şekil 3.7).



**Şekil 3.7.** Kontrol grubuna ait olgularda Tp53 rs1042522 polimorfizm analizine özgün erime eğrisi; **A:** Analizi gerçekleştirilen kontrol grubunda melting curve değerleri **B:** Analizi gerçekleştirilen kontrol grubunda erime eğrileri ve Tm değerleri

96 bayandan oluşan kontrol grubunun 17’ sinin (%17,7) GG genotipine, 47’ sinin (%49) CG genotipine ve 32’ sinin (%33,3) CC genotipine sahip olduğu saptandı. Allel bazında değerlendirildiğinde G alleli sayısının 81 (%42,2), C alleli sayısının ise 111 (%57,8) olduğu saptandı (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. Kontrol grubunda yer olgularda *Tp53* rs1042522 genotip (GG; CG; CC) ve allel (G;C) dağılımı

### 3.4. Hasta ve Kontrol Gruplarının Hardy-Weinberg Denge Analizi Açısından Karşılaştırılması

Çalışmamızda hasta ve kontrol grubunda yer alan örneklerin *FGFR2* rs1219648 genotip frekanslarının Hardy-Weinberg eşitliğinden sapması ki-kare ( $\chi^2$ ) testi ile değerlendirildi. Hem hasta hemde kontrol grupların analizi sonucunda beklenen ve gözlenen genotip değerleri arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı, genotip dağılımlarının Hardy-Weinberg eşitliğine uygun olduğu saptandı ( $p > 0,05$ ) ( Tablo 3.5).

**Tablo 3.5.** *FGFR2* geni rs1219648 polimorfizmi analizinde yer alan hasta ve kontrol gruplarının Hardy-Weinberg eşitliğine uygunluğu

| Genotip                     | AA            | AG             | GG            | p değeri |
|-----------------------------|---------------|----------------|---------------|----------|
| <b>Hasta Grubu (n: 75)</b>  |               |                |               | 0,2608   |
| Gözlenen                    | 13 (%17,3)    | 42 (%56)       | 20 (%26,7)    |          |
| Beklenen                    | 15,41(%20,55) | 37,17 (%49,56) | 22,41 (%29,8) |          |
| <b>Kontrol Grubu (n:96)</b> |               |                |               | 0,1275   |
| Gözlenen                    | 34 (%35,4)    | 52 (%54,2)     | 10 (%10,4)    |          |
| Beklenen                    | 37,5 (%39,06) | 45 (%46,88)    | 13,5 (%14,06) |          |

*Tp53* geni rs1042522 polimorfizmi analizi için çalışmamıza dahil edilen sağlıklı kontrol grubunun beklenen ve gözlenen genotip frekansları arasında fark istatistiksel olarak önemli olmayıp Hardy-Weinberg eşitliğine uygun dağılım gösterirken ( $p > 0,05$ ), hasta grubunun genotip frekanslarında Hardy-Weinberg eşitliğinden bir sapma olduğu tespit edildi ( $p < 0,05$ ) (Tablo 3.6).

**Tablo 3.6.** *Tp53* geni rs1042522 polimorfizmi analizinde yer alan hasta ve kontrol gruplarının Hardy-Weinberg eşitliğine uygunluğu

| Genotip               | GG             | GC             | CC             | *p değeri |
|-----------------------|----------------|----------------|----------------|-----------|
| Hasta Grubu (n: 96)   |                |                |                |           |
| Gözlenen              | 25 (%26)       | 29 (%30,2)     | 42 (%43,8)     | 0,0002    |
| Beklenen              | 16,25 (%16,93) | 46,49 (%48,43) | 33,25 (%34,64) |           |
| Kontrol Grubu (n: 96) |                |                |                |           |
| Gözlenen              | 17 (%17,7)     | 47 (%49)       | 32 (%33,3)     | 0,9713    |
| Beklenen              | 17,09 (%17,8)  | 46,83 (%48,78) | 32,09 (%33,42) |           |

\*İstatistiksel olarak anlamlı *p* değerleri koyu yazılmıştır.

### 3.5. Genotip Dağılımlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

#### 3.5.1. *FGFR2* rs1219648 Polimorfizmine Ait Genotip Dağılımlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

*FGFR2* rs1219648 polimorfizmi açısından değerlendirilen hasta ve kontrol gruplarında AA, AG ve GG genotip sıklıkları  $\chi^2$  testi ile hesaplandı. Hasta grubunda AA, AG, GG genotip dağılımları sırasıyla %17,3, %56 ve %26,7 olarak belirlendi. Bu değerler kontrol grubunda sırasıyla, %35,4, %54,2 ve %10,4 olarak ölçüldü. Allel frekansları ise hasta grubunda sırasıyla A alleli frekansı 0,453 iken G alleli frekansı 0,547 olarak belirlendi. Kontrol grubunda ise A alleli için 0,625 iken, G alleli için 0,375 olarak saptandı (Tablo 3.7). Hasta ve kontrol gruplarına ait genotip dağılımları, allel sıklıkları ve OR değerleri Tablo 3.7’ de verildi. *FGFR2* rs1219648 polimorfizmi için AA genotipi doğal tip

olduğundan çalışmamızda referans olarak ele alındı. AA, AG, GG ve AG+GG genotip dağılımları ile A ve G allel dağılımları karşılaştırılarak erken yaş meme kanserinin ortaya çıkmasında risk faktörü olup olmadıkları araştırıldı. Genotiplerin dağılımı açısından hasta ve kontrol grupları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunduğu belirlendi ( $p= 0,001$ ) ( $p< 0,05$ ). İstatistiksel değerlendirme sonucunda OR değerleri incelendiğinde GG genotipi için “1” in üzerinde olduğu ve bu genotipe sahip olanların erken yaş meme kanserine yakalanma risklerinin yaklaşık 5 kat daha yüksek olduğu saptandı. Ayrıca AG+GG genotipleri için yapılan analizde kontrol ve hasta grupları arasında da anlamlı bir fark saptandı ( $p=0,0098$ ) ( $p< 0,05$ ). Allel dağılımı açısından hasta ve kontrol grupları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunduğu belirlendi ( $p=0,002$ ) ( $p< 0,05$ ).

**Tablo 3.7.** Erken yaş meme kanserinde hasta ve kontrol gruplarında *FGFR2* rs1219648 polimorfizmi genotip dağılımları, allel frekansları, OR ve  $p$  değerleri

| Genotip      | Hasta<br>(n) = 75 | %    | Kontrol<br>(n) = 96 | %    | #OR (95%CI)              | * $p$ değeri  |
|--------------|-------------------|------|---------------------|------|--------------------------|---------------|
| AA           | 13                | 17,3 | 34                  | 35,4 | Referans                 | -             |
| AG           | 42                | 56   | 52                  | 54,2 | 2,1124 (0,9904-4,5058)   | 0,053         |
| GG           | 20                | 26,7 | 10                  | 10,4 | 5,2308 (1,9391 -14,1102) | <b>0,001</b>  |
| AG+GG        | 62                | 82,7 | 62                  | 64,6 | 2,6154 (1,2608- 5,4253)  | <b>0,0098</b> |
| <b>Allel</b> |                   |      |                     |      |                          |               |
| A            | 68                | 45,3 | 120                 | 62,5 | Referans                 | -             |
| G            | 82                | 54,7 | 72                  | 37,5 | 2,0098 (1,3016-3,1032)   | <b>0,002</b>  |

\*İstatistiksel olarak anlamlı  $p$  değerleri koyu yazılmıştır.

### 3.5.2. *Tp53* rs1042522 Polimorfizmine Ait Genotip Dağılımlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

*Tp53* rs1042522 polimorfizmi açısından değerlendirilen hasta ve kontrol gruplarında GG, CG ve CC genotip sıklıkları  $\chi^2$  testi ile hesaplandı. Hasta grubunda GG, CG ve CC

genotip dağılımları sırasıyla %26, %30,2 ve %43,8 olarak tespit edildi. Bu değerler kontrol grubu için sırasıyla %17,7, % 49 ve %33,3' olarak ölçüldü. Allel frekansları ise hasta grubunda sırasıyla G alleli için 0,411 iken C alleli için 0,589 olarak belirlendi. Kontrol grubunda ise G alleli frekansı 0,422 iken, C alleli frekansı 0,578 olarak belirlendi (Tablo 3.8). Hasta ve kontrol gruplarına ait genotip dağılımları, allel sıklıkları ve OR değerleri Tablo 3.8' de verildi. *Tp53* rs1042522 polimorfizmi için GG genotipi doğal tip olduğundan çalışmamızda referans olarak ele alındı. GG, CG, CC ve CG+CC genotip dağılımları ile G ve C allel dağılımları karşılaştırılarak erken yaş meme kanserinin ortaya çıkmasında risk faktörü olup olmadıkları araştırıldı. Genotiplerin dağılımı açısından hasta ve kontrol grupları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunduğu belirlendi ( $p= 0,027$ ) ( $p< 0,05$ ). İstatistiksel değerlendirme sonucunda OR değerleri incelendiğinde CG genotipi için "1" in altında olduğu ve bu CG genotipinin erken yaş meme kanserine karşı koruyucu olduğu saptandı. Allel dağılımı açısından ise hasta ve kontrol grupları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlenmedi ( $p=0,836$ ) ( $p>0,05$ ) (Tablo 3.8).

**Tablo 3.8.** Erken yaş meme kanserinde hasta ve kontrol gruplarında *Tp53* rs1042522 polimorfizmi genotip dağılımları, allel frekansları, OR ve  $p$  değerleri

| Genotip      | Hasta<br>(n) = 96 | %    | Kontrol<br>(n) = 96 | %    | #OR (95%CI)            | * $p$<br>değeri |
|--------------|-------------------|------|---------------------|------|------------------------|-----------------|
| GG           | 25                | 26   | 17                  | 17,7 | Referans               | -               |
| CG           | 29                | 30,2 | 47                  | 49   | 0,4196 (0,1941-0,9067) | <b>0,027</b>    |
| CC           | 42                | 43,8 | 32                  | 33,3 | 0,8925 (0,4137-1,9254) | 0,772           |
| CG+CC        | 71                | 74   | 79                  | 82,3 | 0,6111 (0,3051-1,2240) | 0,165           |
| <b>Allel</b> |                   |      |                     |      |                        |                 |
| G            | 79                | 41,1 | 81                  | 42,2 | Referans               | -               |
| C            | 113               | 58,9 | 111                 | 57,8 | 1,0438 (0,6956-1,5662) | 0,836           |

\*İstatistiksel olarak anlamlı  $p$  değerleri koyu yazılmıştır.

### 3.6. Genotip Dağılımlarının Klinikopatolojik Parametreler İle Karşılaştırılması

*FGFR2* rs1219648 polimorfizmi ile *Tp53* rs1042522 polimorfizminin östrojen reseptör durumu, progesteron reseptör durumu, Her-2 durumu, tümör boyutu, histolojik grade, tümör lokalizasyonu gibi klinikopatolojik parametreler ile ilişkisi değerlendirildi. Elde edilen veriler aşağıda ayrı başlıklar halinde verildi.

#### 3.6.1. *FGFR2* rs1219648 Polimorfizminin Klinikopatolojik Özellikler İle İlişkisi

*FGFR2* geni 2. intronda yer alan rs1219648 polimorfizminin ER (+/-), PgR (+/-) ve Her-2 (+/-) üzerine etkisi  $\chi^2$  ile hesaplandı. Buna göre ER (+) olan bireylerin AA, AG, GG, AG+GG genotip sıklıkları sırasıyla %8,1, %56,8, %35,1 ve %91,9 olarak tespit edilirken, ER (-) olanların AA, AG, GG, AG+GG genotip sıklıkları ise sırasıyla %31, %51,7, %17,3 ve %69 olarak tespit edildi. PgR (+) olan bireylerde AA, AG, GG, AG+GG genotip sıklıkları sırasıyla %9,1, %54,5, %36,4 ve %91 olarak saptanırken, PgR (-) olan bireylerde AA, AG, GG, AG+GG genotip sıklıkları sırasıyla %27,3, %54,5, %18,2 ve %72,7 olarak saptadı. Her-2 (+) olan bireylerde AA, AG, GG, AG+GG genotip sıklıkları sırasıyla %13,9, %50, %36,1 ve %86,1 iken, Her-2 (-) olan olgularda AA, AG, GG, AG+GG genotip sıklıkları %23,3, %60, %16,7 ve %76,7 olarak saptandı. İstatistiksel analizler sonucu genotip farklılıklarının ER üzerinde etkisi olduğu saptanırken ( $p=0,019$ ), PgR ve Her-2 durumu ile genotip farklılıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ( $p=0,055$  ve  $p=0,321$ ) (Tablo 3.9).

**Tablo 3.9.** *FGFR2* rs1219648 polimorfizmin ER, PgR ve Her-2 üzerine etkisi

| Genotip | ER(+)      | ER(-)      | $\chi^2$ ve * $p$          |
|---------|------------|------------|----------------------------|
|         | n ( %)     | n ( %)     |                            |
| AA      | 3 (%8,1 )  | 9 (%31)    | 5,4986;<br><b>0,019032</b> |
| AG      | 21 (%56,8) | 15 (%51,7) |                            |
| GG      | 13 (%35,1) | 5 (%17,3)  |                            |
| AG+GG   | 34 (%91,9) | 20 (%69)   |                            |
|         | PgR(+)     | PgR(-)     |                            |
|         | n ( %)     | n ( %)     |                            |
| AA      | 3 (%9,1)   | 9 (%27,3)  | 3,6667;                    |
| AG      | 18 (%54,5) | 18 (%54,5) |                            |

**Tablo 3.9.** 'un devamı

|       |                 |                 |          |
|-------|-----------------|-----------------|----------|
|       |                 |                 | 0,055511 |
| GG    | 12 (%36,4)      | 6 (%18,2)       |          |
| AG+GG | 30 (% 91)       | 24 (%72,7 )     |          |
|       | <b>Her-2(+)</b> | <b>Her-2(-)</b> |          |
|       | <b>n ( %)</b>   | <b>n ( %)</b>   |          |
| AA    | 5 (%13,9)       | 7 (%23,3)       |          |
| AG    | 18 (%50)        | 18 (%60)        | 0,9812;  |
| GG    | 13 (%36,1)      | 5 (%16,7)       | 0,321909 |
| AG+GG | 31 (%86,1)      | 23 (%76,7)      |          |

\*AA genotipi ile AG+GG genotipleri karşılaştırılmıştır.

*FGFR2* rs1219648 tek nükleotid polimorfizminin histolojik grad üzerine etkisi  $\chi^2$  testi ile hesaplandı. Buna göre histolojik gradları 1 olan hastalarda AA, AG, GG, AG+GG genotip sıklıkları sırasıyla %16,6, %41,7, %41,7 ve %83,4 olarak belirlendi. Histolojik gradları 2 olan hastalarda AA, AG, GG, AG+GG genotip sıklıkları sırasıyla %5,5, %66,7, %27,8 ve %94,5 olarak saptanırken, histolojik gradları 3 olanlarınki ise sırasıyla %33,3, %48,1, %18,6 ve %66,7 olarak saptandı. İstatistiksel analizler sonucunda histolojik gradlar ile genotipler arasında anlamlı bir ilişki olduğu belirlendi ( $p=0,015$ ) (Tablo 3.10).

**Tablo 3.10.** *FGFR2* rs1219648 tek nükleotid polimorfizminin histolojik grad üzerine etkisi

| <b>Genotip</b> | <b>Histolojik<br/>Grade 1<br/>n ( %)</b> | <b>Histolojik<br/>Grade 2<br/>n ( %)</b> | <b>Histolojik<br/>Grade 3<br/>n ( %)</b> | <b>X<sup>2</sup> ve * p</b> |
|----------------|------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------|
| AA             | 2 (%16,6)                                | 2 (% 5,5)                                | 9 (%33,3)                                |                             |
| AG             | 5 (%41,7 )                               | 24 (%66,7)                               | 13 (%48,1)                               | 8,3127;                     |
| GG             | 5 (% 41,7)                               | 10 (% 27,8)                              | 5 (%18,6)                                | <b>0,015665</b>             |
| AG+GG          | 10 (% 83,4)                              | 34 (% 94,5)                              | 18 (%66,7)                               |                             |

\*AA genotipi ile AG+GG genotipleri karşılaştırılmıştır.

*FGFR2* rs1219648 tek nükleotid polimorfizminin tümör çapı üzerine etkisi  $\chi^2$  testi ile hesaplandı. Buna göre tümör çapı  $\leq 2$  cm olanlarda AA, AG, GG, AG+GG genotip sıklıkları sırasıyla %9,6, % 57,1, % 33,3 ve % 90,4 olarak saptandı. Tümör çapı  $> 2$  cm  $\leq 5$  cm olanlarda ise genotip sıklıkları sırasıyla %29,4, %41,2, %29,4 ve %70,6 olarak tespit edilirken, tümör çapı  $> 5$  cm olan hastalarda ise %5, %80, %15 ve %95 olarak tespit edildi. İstatistiksel analizler sonucunda tümör çapları ile genotipler arasında anlamlı bir ilişki olduğu ( $p=0,039$ ) görüldü (Tablo 3.11).

**Tablo 3.11.** *FGFR2* rs1219648 tek nükleotid polimorfizminin tümör çapları üzerine etkisi

| Genotip | Tümör çapı<br>( $\leq 2$ cm)<br>n ( %) | Tümör çapı<br>( $> 2$ cm $\leq 5$ cm)<br>n ( %) | Tümör çapı<br>( $> 5$ cm)<br>n ( %) | $\chi^2$ ve * $p$         |
|---------|----------------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------|
| AA      | 2 (%9,6)                               | 10 (% 29,4)                                     | 1 (%5)                              |                           |
| AG      | 12 (%57,1)                             | 14 (%41,2)                                      | 16 (%80)                            |                           |
| GG      | 7 (% 33,3)                             | 10 (%29,4)                                      | 3 (%15)                             | 6,4787;<br><b>0,03919</b> |
| AG+GG   | 19 (% 90,4)                            | 24 (%70,6)                                      | 19 (%95)                            |                           |

\* AA genotipi ile AG+GG genotipleri karşılaştırılmıştır.

*FGFR2* rs1219648 tek nükleotid polimorfizminin tümör lokalizasyonu ile ilişkisi  $\chi^2$  testi ile hesaplandı. Elde edilen bulgulara göre tümör lokalizasyonu sağ meme olan olguların AA, AG, GG, AG+GG genotip dağılımları sırasıyla %17,1, %60, %22,9 ve % 82,9 olarak saptandı. Tümör lokalizasyonu sol meme olan olguların AA, AG, GG, AG+GG genotip dağılımları sırasıyla %17,9, %53,9, %28,2ve %82,1 iken, tümör lokalizasyonu hem sağ hem sol meme olan tek olgunun GG genotipine sahip olduğu ve genotip sıklığının %100 olduğu tespit edildi. İstatistiksel analizler sonucunda tümör lokalizasyonları ile genotipler arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ( $p=0,895$ ) (Tablo 3.12).

**Tablo 3.12.** *FGFR2* rs1219648 tek nükleotid polimorfizminin tümör lokalizasyonu ile ilişkisi

| Genotip | Tümör<br>lokalizasyonu<br>(Sağ meme)<br>n ( %) | Tümör<br>lokalizasyonu<br>(Sol meme)<br>n ( %) | Tümör<br>lokalizasyonu<br>(Sağ +Sol meme)<br>n ( %) | X <sup>2</sup> ve * p |
|---------|------------------------------------------------|------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|-----------------------|
| AA      | 6 (%17,1)                                      | 7(% 17,9)                                      | 0 (%0)                                              |                       |
| AG      | 21 (%60)                                       | 21 (%53,9)                                     | 0 (%0)                                              | 0,2209;               |
| GG      | 8 (%22,9)                                      | 11 (%28,2)                                     | 1(%100)                                             | 0,895444              |
| AG+GG   | 29 (%82,9)                                     | 32 (%82,1)                                     | 1(%100)                                             |                       |

\* AA genotipi ile AG+GG genotipleri karşılaştırılmıştır.

### 3.6.2. *Tp53* rs1042522 Polimorfizminin Klinikopatolojik Özellikler İle İlişkisi

*Tp53* rs1042522 polimorfizminin ER (+/-), PgR (+/-) ve Her-2 (+/-) üzerine etkisi  $\chi^2$  ile hesaplandı (Tablo 3.13). Buna göre ER (+) olan bireylerin GG, CG, CC, CG+CC genotip sıklıkları sırasıyla %6,1, %30,4, %43,5 ve %73,9 olarak tespit edilirken, ER (-) olanların GG, CG, CC, CG+CC genotip sıklıkları ise sırasıyla %32,4, %27, %40,6 ve %67,6 olarak saptandı. PgR(+) olan bireylerde GG, CG, CC, CG+CC genotip sıklıkları sırasıyla %18,2, %31,8, %50 ve %81,8 olarak tespit edilirken, PgR (-) olan bireylerde genotip sıklıkları ise sırasıyla %41, % 25,7, %33,3 ve %59 olarak ölçüldü. Her-2 (+) olan bireylerde GG, CG, CC, CG+CC genotip sıklıkları %28,6, %31, %40,4 ve %71,4 olarak saptanırken, Her-2 (-) olan hastalarda GG, CG, CC, CG+CC genotip sıklıkları sırasıyla %29,3, %26,8, %43,9 ve %70,7 olarak saptandı. İstatistiksel analizler sonucu genotip farklılıklarının PgR üzerinde etkisi olduğu saptanırken ( $p= 0,021$ ), ER ( $p= 0,526$ ) ve Her-2 ( $p= 0,944$ ) durumu ile genotip farklılıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmedi (Tablo 3.13).

**Tablo 3.13.** *Tp53* rs1042522 polimorfizmin ER, PgR ve Her-2 üzerine etkisi

| <b>Genotip</b> | <b>ER(+)</b><br><b>n ( %)</b>     | <b>ER(-)</b><br><b>n ( %)</b>     | <b>X<sup>2</sup> ve * p</b> |
|----------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|
| GG             | 12 (%26,1)                        | 12 (%32,4)                        |                             |
| CG             | 14 (%30,4)                        | 10 (%27)                          | 0,4017;                     |
| CC             | 20 (%43,5)                        | 15 (%40,6)                        | 0,526212                    |
| CG+CC          | 34 (%73,9)                        | 25 (%67,6 )                       |                             |
|                | <b>PgR (+)</b><br><b>n ( %)</b>   | <b>PgR (-)</b><br><b>n ( %)</b>   |                             |
| GG             | 8 (%18,2)                         | 16 (%41)                          |                             |
| CG             | 14 (%31,8)                        | 10 (%25,7)                        | 5,2489;                     |
| CC             | 22 (%50)                          | 13 (%33,3)                        | <b>0,02196</b>              |
| CG+CC          | 36 (%81,8)                        | 23 (% 59)                         |                             |
|                | <b>Her-2 (+)</b><br><b>n ( %)</b> | <b>Her-2 (-)</b><br><b>n ( %)</b> |                             |
| GG             | 12 (%28,6)                        | 12 (%29,3)                        |                             |
| CG             | 13 (% 31)                         | 11 ( %26,8)                       | 0,0049;                     |
| CC             | 17 (% 40,4)                       | 18 (% 43,9)                       | 0,944184                    |
| CG+CC          | 30 (% 71,4)                       | 29 (% 70,7)                       |                             |

\*GG genotipi ile CG+CC genotipleri karşılaştırılmıştır.

*Tp53* rs1042522 tek nükleotid polimorfizminin histolojik grad üzerine etkisi  $\chi^2$  testi ile hesaplandı (Tablo 3.14). Buna göre histolojik gradları 1 olan hastalarda GG, CG, CC, CG+CC genotip sıklıkları sırasıyla %25, %50, %25 ve %75 olarak belirlendi. Histolojik gradları 2 olan hastalarda GG, CG, CC, CG+CC genotip sıklıkları sırasıyla %31,7, %26,8, %41,5 ve %68,3 olarak saptanırken, histolojik gradları 3 olanlarınki ise sırasıyla %23,3, %30, %46,7 ve %76,7 olarak saptandı. İstatistiksel analizler sonucunda histolojik gradlar ile genotipler arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ( $p=0,719$ )(Tablo 3.14).

**Tablo 3.14.** *Tp53* rs1042522 tek nükleotid polimorfizminin histolojik grad üzerine etkisi

| Genotip | Histolojik<br>Grade 1<br>n ( %) | Histolojik<br>Grade 2<br>n ( %) | Histolojik<br>Grade 3<br>n ( %) | $\chi^2$ ve *p     |
|---------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------|
| GG      | 3 (%25)                         | 13 (% 31,7)                     | 7 (%23,3)                       | 0,6579;<br>0,71967 |
| CG      | 6 (% 50)                        | 11 (% 26,8)                     | 9 (% 30)                        |                    |
| CC      | 3 (% 25)                        | 17 (% 41,5)                     | 14 (%46,7)                      |                    |
| CG+CC   | 9 (% 75)                        | 28 (% 68,3)                     | 23 (%76,7)                      |                    |

\*GG genotipi ile CG+CC genotipleri karşılaştırılmıştır.

*Tp53* rs1042522 tek nükleotid polimorfizminin tümör çapı üzerine etkisi  $\chi^2$  testi ile hesaplandı (Tablo 16). Buna göre tümör çapı  $\leq 2$  cm olanlarda GG, CG, CC, CG+CC genotip sıklıkları sırasıyla %14,8, %33,3, %51,9 ve %85,2 olarak saptandı. Tümör çapı  $> 2$  cm  $\leq 5$  cm olanlarda ise genotip sıklıkları sırasıyla %32,4, %21,6, %46 ve %67,6 olarak tespit edilirken, tümör çapı  $> 5$  cm olan hastalarda ise %30,4, %43,5, %26,1 ve %69,6 olarak tespit edildi. İstatistiksel analizler sonucunda tümör çapları ile genotipler arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ( $p=0,253$ ) (Tablo 16).

**Tablo 3.15.** *Tp53* rs1042522 tek nükleotid polimorfizminin tümör çapları üzerine etkisi

| Genotip | Tümör çapı<br>(≤ 2 cm)<br>n ( %) | Tümör çapı<br>(> 2 cm ≤ 5 cm)<br>n ( %) | Tümör çapı<br>(> 5 cm)<br>n ( %) | X <sup>2</sup> ve *p |
|---------|----------------------------------|-----------------------------------------|----------------------------------|----------------------|
| GG      | 4 (%14,8)                        | 12 (%32,4)                              | 7 (%30,4)                        |                      |
| CG      | 9 (%33,3)                        | 8 (%21,6)                               | 10 (%43,5)                       |                      |
| CC      | 14 (%51,9)                       | 17 (%46)                                | 6 (%26,1)                        | 2,7482;              |
| CG+CC   | 23 (%85,2)                       | 25 (% 67,6)                             | 16 (%69,6)                       | 0,25307              |

\*GG genotipi ile CG+CC genotipleri karşılaştırılmıştır.

*Tp53* rs1042522 tek nükleotid polimorfizminin tümör lokalizasyonu ile ilişkisi  $\chi^2$  testi ile hesaplandı (Tablo 3.16). Elde edilen bulgulara göre tümör lokalizasyonu sağ meme olan olguların GG, CG, CC, CG+CC genotip dağılımları sırasıyla %25,5, %32, %42,5 ve %74,5 olarak saptandı. Tümör lokalizasyonu sol meme olan olguların GG, CG, CC, CG+CC genotip dağılımları sırasıyla %27,1, %29,2, %43,7 ve %72,9 iken, tümör lokalizasyonu hem sağ hem sol meme olan tek olgunun CC genotipine sahip olduğu olduğu tespit edildi. İstatistiksel analizler sonucunda tümör lokalizasyonları ile genotipler arasında anlamlı bir ilişki görülmedi ( $p=0,824$ ) (Tablo 3.16).

**Tablo 3.16.** *Tp53* rs1042522 tek nükleotid polimorfizminin tümör lokalizasyonu ile ilişkisi

| <b>Genotip</b> | <b>Tümör<br/>lokalizasyonu<br/>(Sağ meme)<br/>n ( %)</b> | <b>Tümör<br/>lokalizasyonu<br/>(Sol meme)<br/>n ( %)</b> | <b>Tümör<br/>lokalizasyonu<br/>(Sağ+Sol meme)<br/>n ( %)</b> | <b>X<sup>2</sup> ve *p</b> |
|----------------|----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|----------------------------|
| GG             | 12 (%25,5)                                               | 13 (%27,1)                                               | 0 (%0)                                                       |                            |
| CG             | 15 (%32)                                                 | 14 (%29,2)                                               | 0 (%0)                                                       | 0,3855;                    |
| CC             | 20 (%42,5)                                               | 21(%43,7)                                                | 1(%0)                                                        | 0,82469                    |
| CG+CC          | 35 (%74,5)                                               | 35 (%72,9)                                               | 1(%100)                                                      |                            |

\*GG genotipi ile CG+CC genotipleri karşılaştırılmıştır.

#### 4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Meme kanseri, dünyada akciğer kanserinden sonra en sık görülen kanser türlerinden biri olup, kadınlarda en yaygın görülen bu kanser türü tüm kadın kanserlerinin % 23' ünü oluşturmaktadır (Greenlee vd., 2000; Contesso vd., 2001). Ülkemizdeki durum da, sıralama olarak bundan farklı değildir. T.C. Sağlık Bakanlığı'nın 2008 yılında gerçekleştirdiği istatistiksel analizlerde, Türkiye'de meme kanserinin kadınlarda en sık karşılaşılan kanser türü olduğu görülmüştür (Sağlık Bakanlığı, Sağlık istatistikleri yaylığı 2008; Sağlık Bakanlığı, Türkiye kanser istatistikleri 2014). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) GLOBOCAN verilerine göre Türkiye' de 2012 yılında 15230 olan yeni meme kanserli sayısının, 2020 yılında 19.205 kişiye ulaşacağı ifade edilmektedir (URL-12).

Meme kanseri vakalarının genetik ve epigenetik değişimler ile ilişkili olduğuna inanılmakta, ve gelişmekte olan ülkelerde erken yaşta meme kanserine yakalanma sıklığı % 25' e ulaşmaktadır (Claus vd., 1991; El Saghir vd., 2007; Akarolo-Anthony vd., 2010). Azim ve arkadaşları tarafından 2012 yılında yürütülen çalışmalar erken yaşta görülen meme kanserlerinin farklı gen ekspresyon profiline sahip olduklarını göstermiştir (Azim vd., 2012 ). Aynı zamanda diğer meme kanserlerine oranla daha agresif özellikler sergiledikleri (Azim vd., 2014), genç yaşta görülen meme kanserlerinin tedaviye cevap verme olasılıklarının düşük oldukları saptanmıştır (Goldhirsch vd., 2001; Panel NIOHCD 2001). Bunun yanında erken yaş meme kanserli hastalar ileri yaştaki meme kanserli hastalarla karşılaştırıldıklarında, kemoterapiye bağlı doğurganlık bozukluğu, erken menopoz riski, koruyucu meme ameliyatı geçirenlerde tekrar nüksetme gibi bir dizi özel sorunlarla karşılaşmaktadırlar (Haffty vd., 1991; Elkhuizen vd., 1998; Gajdos vd., 2000; Voogd vd., 2001; Arriagada vd., 2002; Christinat vd., 2012; Buchanan vd., 2013). Bu durum genç kadınlardaki meme kanseri olgularının normal meme kanseri vakalarından farklı biyolojik özelliklere sahip olduğunu ve bu tür kanserlerin tedavisinde başarının artırılması için hastalığın oluşum mekanizmasının daha iyi anlaşılması, bunlara yönelik acil özel tanı ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

Meme kanseri günümüzde farklı tekniklerle değerlendirilmektedir. Bunlardan bir de SNP (Single Nükleotit Polimorfizm) analizleridir. SNP, belirli bir baz pozisyonunda meydana gelen tek nükleotid değişiklikleridir. Bir popülasyonda sıklığı en az (> %1) olan ve tüm genetik varyasyonların %90' ını oluşturan genetik polimorfizmlerdir. Son

zamanlarda yeni nesil sekans yöntemleri kullanılarak meme kanserinde etkili olabilecek baz değişimleri saptanmış ve bunların anlamlı bir risk oluşturdukları gösterilmiştir (Nik-Zainal vd., 2012; Shah vd., 2012; Stephens vd., 2012; Azim vd., 2014). Ancak genç hastalarla gözlenen mutasyonlarla ilgili bilgiler oldukça sınırlıdır. Yapılan çalışmalar genç kadınlardaki meme kanseri olgularının sadece %3-10' u, *BRCA1* ve *BRCA2* gibi nadir, penetransı yüksek genlerdeki mutasyonlardan kaynaklandığını ve etnik kökenlere göre farklılık gösterdiğini (Malone vd., 2000; Li vd., 2007; Ma vd., 2007; Gewefel vd., 2014) ortaya koymuştur. *BRCA1* ve *BRCA2* gibi penetransı yüksek genlerdeki mutasyonların yüksek risk oluşturmalarına rağmen, erken yaşta görülen meme kanseri olgularının sadece küçük bir kısmından sorumludurlar. Bu durum hastalığın oluşumunda ve tümör gelişiminden sorumlu olan, bu konuda etkin rol olabilecek farklı genlerin varlığını ortaya koymaktadır. Bunun yanında erken yaş meme kanseri riskini belirlemek amacıyla geliştirilen genetik testlerin çoğunluğu *BRCA1* ve *BRCA2* genlerinin taranmasına yöneliktir (Gewefel vd., 2014). Ancak hastalığın büyük bir bölümünden sorumlu genlerdeki mutasyonlarla ilgili çalışmaların sınırlı ve yetersiz olması, bu genlere yönelik hızlı tanı testlerinin geliştirilmesini engellemektedir.

İnsanda 10. kromozomun uzun kolunda (10q26) yer alan *FGFR2* geni, FGFR reseptörleri olarak işlev gören farklı ekspresyon domainleri ile ligand spesifiteleri olan FGFR2b ve FGFR2c izoformlarını kodlar (Katoh ve Katoh, 2009). FGF-reseptörleri, hücre proliferasyonu, farklılaşması, hücre göçü ve hücrel homeostasinin korunması gibi pek çok hücrel aktivitenin kontrolünde önemli bir rol oynar (Lew vd., 2007). *FGFR2* geni şartlara ve çevresel koşullara bağlı olarak hem onkojenik hemde anti-onkojenik gen olarak işlev görebilir. Bu genin 2. intronunda yer alan SNP' lerin allelik upregülasyon ile meme kanseriyle ilişkili oldukları saptanmıştır. *FGFR2* geninin kopya sayısı kazanımları ve missense mutasyonları *FGFR2* sinyalini aktive etmek üzere meme kanserinde ve gastrik kanserde oluşmaktadır. Anormal *FGFR2* sinyal aktivasyonu tümör hücrelerinin proliferasyon ve canlı kalma yeteneklerini uyarmaktadır. Spliceosome disregülasyonu nedeniyle mesane ve prostat kanseri ilerleme sürecinde FGFR2b formundan FGFR2c formuna geçiş görülür. Ayrıca FGFR2b knockout farelerde reaktif oksijen türlerinin (ROS), Nfe2l2 (Nrf2)-aracılı detoksifikasyon yetmezliği nedeniyle kimyasal karsinojenlere karşı aşırı duyarlılık gösterdikleri saptanmıştır. FGFR2b sinyal kaybı epitelyalden-mezenkimale geçişi ve ROS salınımını tetikler. Kronik inflamasyon, sigara kullanımı, artan kalori alımında ortaya çıkan epigenetik modifikasyonların ve genetik değişimlerin birikmesi

*FGFR2* sinyalinin düzenlenmemesine ve kanser oluşumuna neden olur (Katoh ve Katoh, 2009).

Son zamanlarda gerçekleştirilen GWA araştırmalarında pek çok polimorfik bölgenin meme kanseri riski ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Bu bölgelerden en güçlü ilişki *FGFR2* geninde saptanmıştır (Hunter vd., 2007; Easton vd., 2007). Hem GWA hem de sonrasında yapılan araştırmalar, ilişkili bölgenin intron 2' deki ~20 kb' ı kapsayan bir bağlantı dengesizliği ile (LD=linkage disequilibrium) sınırlı olduğunu düşündürmüştür. Ancak meme kanserinde etkin olabilecek intron 2' de yer alan asıl varyantın hangisi olduğu konusundaki veriler net değildir. Easton ve arkadaşlarının yürüttükleri çalışmada intron 2' nin upstream sınırında bulunan rs2981582 en anlamlı ilişki gösteren SNP olurken (Easton vd., 2007), Hunter ve arkadaşlarının meme kanseri riskiyle en fazla ilişkilendirdikleri SNP rs1219648 olmuştur (Hunter vd., 2007). Raskin ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışmada Hunter ve çalışma arkadaşlarının meme kanseri riskiyle ilişkili olduğunu bildirdikleri dört SNP ile (rs11200014, rs2981579, rs1219648, rs2420946) Easton ve arkadaşlarının ilişkili olduğunu saptadıkları rs2981582' nin yüksek bağlantı dengesizliği (LD) içinde olduğunu, dolayısıyla her iki GWA çalışmasının da aynı asosiasyonu bulduğunu belirtmişlerdir (Raskin vd., 2008).

Bügüne kadar yürütülen bir çok çalışmada farklı populasyonlarda *FGFR2* gen polimorfizmleri ile meme kanseri riski ilişkisi değerlendirilmiştir. Bunlardan Liang ve ark Çin populasyonunda (Liang vd., 2008), Raskin ve arkadaşları Arap-İsrailileri ve Yahudi populasyonunda (Raskin vd., 2008), Kawase ve ark. Japon populasyonunda (Kawase vd., 2009), Rebbeck ve çalışma arkadaşları Afrika-Amerikalıları ve Avrupa-Amerikalılarında (Rebbeck vd., 2009), Siddiqui ve arkadaşları Kuzey Hindistanlılarda (Siddiqui vd., 2014) , Liu ve arkadaşları Çin Han populasyonunda (Liu vd., 2013) rs1219648' inde dahil olduğu *FGFR2* gen polimorfizmlerinin meme kanseri ile ilişkisini belirlemeye çalışmışlardır.

Liang ve çalışma arkadaşlarının 1049 meme kanserli, 1073 kanserli olmayan kontrol grubunda yürüttükleri araştırmada rs1219648 A/G varyant genotiplerinin Çin populasyonunda yüksek meme kanseri riskiyle ilişkili olduğunu saptamışlardır (Liang vd., 2008). Çalışmaya hem premenopozal hemde postmenopozal hastalar dahil edilmiştir. rs1219648 polimorfizmi için meme kanserli hastalarda AA genotipli hasta sayısı 327 (%31,81), AG genotipli hasta sayısı 517 (%50,29), GG genotipli hasta sayısı 184 (%17,90) olarak saptanmış, G allel frekansı (AG+GG) ise %68,19 (701) olarak belirlenmiştir. Kontrol grubunda ise AA genotipli birey sayısı 393 (%37,01), AG genotipli birey sayısı

520 (%48,96), GG genotipli birey sayısı ise 140 (%14,03) olarak bulunmuş, G allel frekansı (AG+GG) %62,99 (669) olarak tespit edilmiştir. İlgili çalışmada yer alan rs1219648 analizinde AA genotipine kıyasla AG genotipinde, GG genotipinde ve kombine AG+GG genotiplerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede artmış risk gözlenmiştir.

Raskin ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışmaya 1529 meme kanserli hasta ile 1528 kontrolden oluşan birey dahil edilmiştir. Çalışmada rs1219648 polimorfizminde dahil olduğu çeşitli *FGFR2*' nin gen polimorfizmlerinin İsrail popülasyonunda farklı etnik gruplarda meme kanseri riski ile ilişkileri araştırılmıştır. Hunter ve arkadaşlarının GWA çalışmaları ile meme kanseri riskiyle en fazla ilişkili olduğunu bildirdikleri rs1219648 polimorfizmi için, Raskin ve arkadaşları Aşkenazi Yahudilerinde 729 meme kanserli hastayı içeren grupta AA genotipli hasta sayısını 233 (%31,9), GG genotipli hasta sayısını 146 (% 20), AG genotipli hasta sayısını 350 (%48) olarak belirlemişlerdir. Bu araştırmacılar 685 bireyden oluşan kontrol grubunda ise AA genotipini 250 (%36,5), GG genotipini 95 (%13,9), AG genotipi ise 340 (%49,6) kişide tespit etmişlerdir. Sefardi Yahudilerinde aynı SNP için 332 meme kanserli hastada AA genotipi 70 (%21,1), GG genotipi 106 (%31,9), AG genotipi 156 (%46,99) kişide görülmüş; 395 kişinin dahil edildiği kontrol grubunda A genotipi 112 (%28,4), GG genotipi 97(%24), AG genotipi ise 185 (%46,8) bireyde tespit edilmiştir. Arap İsrailileri popülasyonunda ise yine aynı SNP için 337 meme kanserli hastada AA genotipi 91 (%27), GG genotipi 80 (%23,7), AG genotipi ise 166 (%49,3) hastada gözlenirken; 331 sağlıklı bireyin dahil edildiği kontrol grubunda AA genotipi 107 (%32,3), GG genotipi 76 (%22,96), AG genotipi ise 148(%44,7) bireyde tespit edilmiştir. Bu çalışma, Hunter ve ark. GWA araştırmasındaki güçlü ve bağıntılı asosiasyonu doğrularak sonuçları diğer popülasyon gruplarına genişletmiştir. Aynı zamanda bu çalışma ile rs1219648 postmenopozal meme kanseri arasında ilişki olduğu bildirilmiştir. rs1219648 polimorfizmi Aşkenazi ve Sefardi Yahudilerinde meme kanserine yatkınlık faktörü olarak belirtilmiş olmasına rağmen, Arap popülasyonunda bu riskin çok daha düşük olduğu belirtilmiştir (Raskin vd., 2008).

Bu güne kadar farklı popülasyonlarda *FGFR2* rs1219648 polimorfizminin meme kanseriyle olan ilişkisi değerlendirilmiş olmasına rağmen, çalışmaların çoğu post menopozal meme kanserli hastalara yönelik gerçekleştirilmiştir. Erken yaş meme kanserli hastalarda *FGFR2* rs1219648 polimorfizminin etkisinin araştırılmasına yönelik çalışmalar oldukça sınırlıdır. Çalışmamızda 40 yaş ve altı meme kanseri teşhisi konmuş 75 hasta ile ailesinde ve kendisinde kanser öyküsü bulunmayan 96 kadın kontrol grubunda meme

kanserinde en fazla ilişkili olduğu saptanan *FGFR2* geni rs1219648 polimorfizmini değerlendirerek, bu polimorfizmin erken yaş meme kanserindeki etkisini belirlemeyi amaçladık.

Farklı populasyonlarda *FGFR2* geninin erken yaş meme kanseriyle olan ilişkisi değerlendirilmiş olmasına rağmen, literatürde Türk toplumuna ait sadece erken yaş meme kanseriyle ilgili bir çalışma bulunamamıştır. Bu çalışma Türk toplumunda erken yaş meme kanserine yönelik ilk çalışma olması açısından son derece önemlidir. Çalışmamız sonucunda *FGFR2* rs1219648 polimorfizminin genotip dağılımı hasta grubunda AA 13 (%17,3), AG 42 (%56), GG 20 (%26,7), G allel frekansı %54,7 (%82); kontrol grubunda AA 34 (%35,4), AG 52 (%54,2), GG 10 (%10,4), G allel frekansı %37,5 (%72) olarak bulunmuştur. Elde ettiğimiz sonuçlara göre rs1219648 GG genotipi ( $p=0,001$ ) ve G allel frekansının ( $p=0,002$ ) meme kanseriyle ilişkili olduğu söylenebilir ve bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Fu ve arkadaşları tarafından *FGFR2* geni rs1219648 polimorfizminin araştırıldığı bir çalışmaya Çin Hun bayanlardan oluşan, 35 yaş ve altı ailesel öyküsü olmayan 118 meme kanserli olgu ile 104 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Hasta grubunda AA genotipine sahip birey sayısı 38 (%32,4), AG genotipine sahip birey sayısı 54 (%46,2), GG genotipine sahip birey sayısı 25 (%21,4), G allel frekansı ise % 44,4 (%104) olarak gözlenmiştir; kontrol grubunda ise AA genotipli birey sayısı 48 (%46,2), AG genotipli birey sayısı 47 (%45,2), GG genotipli birey sayısı 9 (%8,6), G alleleline sahip birey sayısı ise 65 (%31,2) olarak saptanmıştır. 35 yaş altı premenopozal meme kanserli hastaların dahil edildiği bu çalışmada GG genotipin kontrollerle karşılaştırıldığında meme kanserli bireylerde daha yaygın olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (Fu vd., 2012).

Saadatian ve arkadaşları tarafından yürütülen başka bir araştırmaya 50 yaş ve altı premenopozal 100 meme kanserli olgu ile 100 kendisinde ve ailesinde kanser öyküsü olmayan kontrol grubundan oluşan İran Azerileri bayanlar dahil edilmiştir. Bu çalışmada *FGFR2* geni rs1219648 polimorfizmi genotip dağılımı olgu grubunda AA genotipi için 34, AG genotipi için 49, GG genotipi için 17 ve G alleli için 83 bulunurken, kontrol grubunda genotip dağılımı AA genotipi için 52, AG genotipi için 39, GG genotipi için 9, G alleli için ise 57 bulunmuştur. İlgili analizler sonucunda *FGFR2* geni rs1219648 polimorfizminde AG ( $p=0,033$ ) ve GG ( $p=0,02$ ) genotipleri ve G ( $p=0,006$ ) allelinin İran Azeri bayanlarda risk oluşturduğu ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır (Saadatian vd., 2014). Bizim çalışmamızda GG genotipinin ve G allel frekansının olgu grubunda fazla

olması ve risk faktörü taşıması açısından hem Fu ve arkadaşları hem de Saadatian ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

*FGFR2* geni için meme kanseri risk ilişkisi sadece intronik sekanslarda sınırlandırıldığında, meme kanseri gelişiminde *FGFR2* genini içeren olası mekanizmaların başında *FGFR2* ekspresyonu ve alternatif splicing gelmektedir. *FGFR2* geninin 2. intronunun meme kanseriyle ilişkisine yönelik ilk ve akla yatkın hipotez, *FGFR2*'nin intron 2 bölgesinin pek çok transkripsiyon bağlanma bölgesini içermesidir. Alternatif splicingle oluşan dokuz farklı izoformun anormal ekspresyonunun sinyal transdüksiyonunu aktive ettiği ve meme kanseri hücrelerinde transformasyona yol açtığı gösterilmiştir (Raskin vd., 2008). SNP'lerin yoğunlaştığı *FGFR2* geni 2. intronu, yüksek derecede korunumlu bölgeler içermekte olup, yoğun transkripsiyon bağlanma bölgeleri içermektedir. Östrojen reseptörüyle ilişkili olduğu düşünülen bölgeleri de içine alan bu bölgelerin hormon statüsünün, bu SNP'ler ve meme kanseri riski arasındaki ilişkiyi etkileyebileceğini düşündürmektedir (Carroll vd., 2006). Bu nedenle çalışmamızda *FGFR2* geni rs1219648 polimorfizminin meme tümör karakteristikleri ve hormon reseptör statüleri ile ilişkileri araştırılmıştır. Çalışmamızda ER durumu ( $p=0,019$ ), Histolojik Grad ( $p=0,015$ ) ve tümör çapları ( $p=0,039$ ) ile ilişki saptanırken, PgR, Her-2 durumu ve tümör lokalizasyonu ile ilgili istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Rebbeck ve çalışma arkadaşlarının 1225 Avrupalı-Amerika ve 584 Afrikalı-Amerikan kadından oluşan çalışmalarında *FGFR2* rs1219648 genotiplerinin meme kanseriyle sadece Avrupalı-Amerikanlarda ER (+), PR (+) ve Her-2 (-) tümörlerde istatistiksel olarak anlamlı derecede ilişkili olduğunu saptamışlardır (Rebbeck vd., 2009). Ancak çalışma sadece postmenopozal bireyleri içermesi açısından karşılaştırma yapılmamıştır. Fu ve arkadaşlarının yürüttüğü premenopozal bayanları içeren çalışmada sadece ER durumu araştırılmış olup, *FGFR2* rs1219648 polimorfizmin GG genotipinin (OR=5,330,  $p=0,0004$ ) ER(+) bayanlarda ER (-) olanlara oranla çok daha yüksek risk oluşturduğunu saptamışlardır (Fu ve vd., 2012).

Genotoksik stres, hipoksi veya onkojen aktivasyonu gibi hasar verici bazı uyaranlardan sonra, *Tp53* tümör baskılama proteinindeki posttranslasyonel stabilizasyon yardımıyla, hücre büyümesinde durma veya apoptoz meydana gelmektedir. *Tp53* yolağının tümör gelişimini baskılama özelliğinin, *Tp53*'ün transkripsiyon faktörü olarak işlev görme yeteneğine ve siklin-bağımlı kinaz inhibitörü p21 transaktivasyonuna bağlı olduğu gösterilmiştir (el-Deiry vd., 1993; Deng vd., 1995). *Tp53* yolağının apoptoz kolu bu proteinin transkripsiyonel fonksiyonlarını net bir şekilde kullanıyor olmasına karşın, bu

süreçte Tp53' ün transkripsiyondan bağımsız işlevine ilişkin de ikna edici kanıtlar bulunmaktadır. Örneğin, *Tp53* yanıt genlerinin tetiklenmesini bloke eden yeni RNA ya da protein sentezinin inhibitörleri, belli başlı hücre tiplerinde Tp53' e bağlı apoptozu inhibe etmemektedir (Caelles vd., 1994; Wagner vd., 1994) Benzer şekilde, hipoksik strese bir yanıt olarak meydana gelen *Tp53* kaynaklı apoptoz, *Tp53* hedef genlerinin transaktivasyonu olmadığında da gerçekleşir (Koumenis vd.,2001). *Tp53* ün transaktivasyonsuz mutasyonları, bazı hücrelerde apoptozu güçlü bir şekilde tetikleyebilmektedir (Haup vd., 1995). Son olarak, Tp53 proteininin proline rich alanının silinmesi apoptozu uyarabilme yeteneğini belirgin şekilde bozmaktadır; ancak, yine de BAX (Walker ve Levine, 1996; Sakamuro vd., 1997) gibi pro-apoptotik genleri transaktive edebilme yeteneği devam eder. Bu ve başka veriler, Tp53' ün transaktivasyondan bağımsız pro-apoptotik etkinliğe sahip olduğu ve bu aktivitenin muhtemelen Tp53' ün proline zengin alanına tekabül ettiği varsayımını düşündürmektedir. *Tp53* ün proline açısından zengin olduğu alan içerisinde, 72. pozisyonda proline veya arginin kodlayan yaygın bir dizi polimorfizm bulunmaktadır. Klonlanan ilk insan Tp53 formu olmasından dolayı, Tp53 üzerine pek çok çalışmada Pro72 varyantı ve az sayıda fonksiyonel çalışmada ise Arg72 formu kullanılmıştır. Kodon 72' deki polimorfizm, ilk olarak SDS-poliakrilamid jeller üzerindeki Tp53' ün mobilitesini değiştiren, tümör harici bir amino asit türevi olarak yaklaşık yirmi yıl önce fark edilmiştir (Buchman vd., 1988; Harris vd., 1986; Matlashewski vd., 1987). Değiştirilmiş mobilite, amino asit değişikliğinin bu alanın yapısını etkilediğini göstermekle birlikte, bu alandaki yapısal bilgi eksikliği yüzünden bu hipotez test edilememektedir. Özellikle, çeşitli popülasyonların bulunduğu enlem ile Pro72' yi kodlayan allel frekansı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmiştir (Beckman vd., 1994; Sjalander vd., 1995). Bu gözlemler, iki allelin işlevsel olarak farklı proteinler üretebileceğini ve Pro72' yi kodlayan allelin ultraviyole ışığa maruz kalan ortamlarda evrimsel açıdan seçilebileceğini göstermektedir. Pro72 ve Arg72 varyantlarının, fonksiyonel aktivite açısından farklılık gösterdiği bildirilmiştir. Bir çalışmada, Arg72 varyantının hücresel dönüşümü daha iyi baskıladığı bildirilmiş olup, bu hücresel dönüşümün Tp53' ün pro-apoptotik fonksiyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir (Thomas vd.,1999).

Buna ek olarak, Arg72 varyantının insan papillomavirüsü (HPV) 18 E6 proteini tarafından bozunmaya karşı daha duyarlı olduğu bulunmuştur (Storey vd., 1998). Bazı çalışmalarda, bu artmış duyarlılık daha büyük bir kanser riskiyle ilişkilendirilmiş olmasına

rağmen, kodon 72 polimorfizminin HPV ile ilişkili kansere karşı yatkınlık üzerindeki etkisi konusunda herhangi bir fikir birliğine varılmış değildir. Bazı çalışmalarda, *Tp53* homologu p73' ün, *Tp53*' ün tümör kaynaklı bazı mutant formlarına bağlanabileceği ve kodon 72 polimorfizminin bu bağlanmayı etkilediği rapor edilmiştir (Marin vd., 2000). Bu bulgular kodon 72 polimorfik varyantları arasında işlevsel farklılıkların olduğunu ortaya koymaktadır. 2003 yılında Dumont ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışmada; *Tp53*' ün eşit seviyelerde tetiklenebilen hücre dizilerinde ve endojen doğal tipli *Tp53*' e sahip tümör hücre dizilerinde, *Tp53*' ün Arg72 formunun, apoptozu tetiklemede Pro72 varyantına kıyasla en az beş kat daha iyi olduğunu gösterilmiştir. Özellikle, Arg72 varyantının bu daha ileri apoptotik potansiyeli, kısmen bu varyantın mitokondriyel lokalizasyonuna dayanmaktadır. *Tp53*' ün bu aktivitesinin *Tp53*' e bağlı apoptoz ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Arg72 varyantının mitokondriyal lokalizasyonunun, *Tp53*' ün E5 ubiquitin ligaz MDM2 tarafından bağlanması ve ubiquitinasyonu ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir. Son olarak, ortaklaşa yapılan çalışmalarda, *Tp53*' ün kodon 72'deki polimorfizmiyle ilişkili apoptotik yanıtta bireyler arası farklılıkların olabileceği de öne sürülmüştür (Dumont vd., 2003). Tüm bu sonuçlar günümüzde devam eden meme kanserinde dahil olduğu *Tp53* geni kodon 72 polimorfizminin çeşitli kanserlerle ilişkisinin ortaya konmasına yönelik çalışmaların hız kazanmasına neden olmuştur.

*Tp53* geni kodon 72 polimorfizmi ile meme kanseri arasındaki ilişki bir farklı etnik gruplara ait birçok popülasyonda detaylı olarak araştırılmasına rağmen çelişkili sonuçlar elde edilmiştir.

2003 yılında Türk popülasyonunda 115 hastanın ve sağlıklı kontrolün dahil edildiği araştırmada homozigot prolin (Pro/Pro) ile karşılaştırıldığında homozigot arjinin genotipine sahip olanların(Arg/Arg) meme kanserine yakalanma risklerinin 3 kat daha fazla olduğu saptanmıştır ( $p=0,017$ , OR= 3,05). Ancak çalışmada hasta ve kontrol grubunun yaş ve menopozal durumlarına ait bilgi verilmemiş olması, çalışmamız ile bir karşılaştırma yapılmasına imkan vermemektedir (Buyru ve ark., 2003).

Yine Üren ve arkadaşları tarafından 2016 yılında yaş ortalaması  $53,34 \pm 11,74$  olan 508 meme kanserli bireyin ve yaş ortalaması  $53,07 \pm 0,629$  olan 367 sağlıklı bireyin dahil edildiği araştırmada, meme kanseri ile *Tp53* geninde yer alan kodon 72 polimorfizminin meme kanseri riski ile ilişkisi saptanmamıştır (Üren ve ark., 2016). Bu güne kadar Türk popülasyonunda *Tp53* rs1042522 tek nükleotid polimorfizminin meme kanseriyle olan ilişkisi değerlendirilmiş olmasına rağmen, çalışmaların çoğu post menopozal meme

kanserli hastalara yönelik gerçekleştirilmiştir. Literatürde Türk populasyonunda erken yaş meme kanserli hastalarda *Tp53* rs1042522 polimorfizminin etkisinin araştırılmasına yönelik çalışmalara rastlanmamıştır. Çalışmamızda 40 yaş ve altı meme kanseri teşhisi konmuş 96 meme kanserli olgu ile ailesinde ve kendisinde kanser öyküsü bulunmayan 96 kadın kontrol grubunda farklı apoptotik potansiyeli sahip oldukları saptanan *Tp53* rs1042522 polimorfizmini değerlendirerek, bu polimorfizmin erken yaş meme kanserindeki etkisini belirlemeyi amaçladık. Çalışmamız sonucunda *Tp53* rs1042522 polimorfizminin genotip dağılımı hasta grubunda GG 25 (%26), CG 29 (%30,2), CC 42 (%43,8), G allel frekansı %41,1 (79), C allel frekansı %58,9 (113); kontrol grubunda GG 17 (%17,7), CG 47 (%49), CC 32 (%33,3), G allel frekansı %42,2 (81), C allel frekansı %57,8 (111) olarak bulundu. Elde ettiğimiz bulgulara göre rs1042522 CG genotipi ( $p=0,027$ , OR: 0,4196) meme kanserinde koruyucu olduğu söylenebilir ve bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlıdır.

2007 yılında Khadang ve arkadaşları tarafından 221 meme kanserli hasta ve 205 sağlıklı İranlı bayanların dahil edildiği bir araştırmada, *Tp53* geni kodon 72 polimorfizmi ile meme kanseri arasında herhangi bir ilişki saptanamamıştır. Hasta grupları 35 yaş altı ve 35 yaş sonrası olarak ayrılmış ancak allel dağılımları arasında bir farklılık gözlenmemiştir. Aynı durum hastalar premenopozal ve postmenopozal olarak ayrıldığında da farklılık göstermemiştir. Aynı araştırmada ER durumu, PgR durumu ve tümör histolojik tipi arasında herhangi bir ilişki gözlenmemiştir (Khadang ve ark., 2007). Çalışmamızda *Tp53* rs1042522 polimorfizminin ER durumu, PgR durumu, Her-2 durumu, histolojik grad, ve tümör çapları, tümör lokalizasyonu gibi klinikopatolojik özelliklerin erken yaş meme kanseri ile ilişkisi araştırılmış olup, PgR durumu ile ilişkisi saptanırken ( $p=0,021$ ) diğer klinikopatolojik özellikler ile ilgili istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanamamıştır.

Singh ve arkadaşlarının hindistanlı premenopozal ve postmenopozal bayanlarda MDM-2ve *Tp53* gen polimorfizmlerinin meme kanseriyle ilişkisini araştırdıkları çalışmalarında, *Tp53* heterozigot Arg/Pro (GC) varyant ile ( $p= 0,007$ , OR=0,42) Arg/Pro +Pro/Pro (GC+CC) ( $p= 0,007$ , OR=0,46) varyant kombinasyonunun çalışılan total birey (çalışmaya hem premenopozal hemde postmenopozal bireyler dahil edildiğinde) grubunda önemli bir koruyucu ilişki gösterdikleri istatistiksel olarak saptanmıştır. Aynı ilişki sadece postmenopozal bayanlar incelemeye alındığında elde edilmişken (CG varyantı için  $p= 0,009$ , OR=0,25; CG+CC varyantı için  $p= 0,013$ , OR=0,27 olarak saptanmıştır),

premenopozal bayanlarda kodon 72 gen polimorfizmi ile meme kanseri arasında herhangi bir ilişki saptanamamıştır (Singh ve ark., 2008).

Saadatian ve arkadaşları tarafından İran Azarileri ile gerçekleştirilen çalışmaya yaş ortalamaları 39,32 olan 50 yaş altı 100 premenopozal meme kanserli bayanlar ile 100 sağlıklı kontroller dahil edilmiştir. Çalışmada alleller ile meme kanseri arasında bir ilişki saptanmazken, heterozigot genotip Arg/Pro (GC) ile premenopozal meme kanseri arasında ilişki saptanmıştır ( $p= 0,043$ , OR= 0,45). Aynı çalışmada *FGFR2* rs1219648 ile *Tp53* rs1042522 genotip kombinasyonunun meme kanserli olgularda ve kontrollerde dağılımı incelenmiş olup, *FGFR2* major genotipi (AA) ile *Tp53* hetero genotipinin (GC) meme kanserinde koruyucu etkisinin olduğunu saptamışlardır (AA ve G;  $p=0,047$ , OR= 0,512).



## 5. ÖNERİLER

Çeşitli kanser türlerinin araştırılmasına yönelik yapılan genetik polimorfizm çalışmaları kişinin kansere yakalanma risklerinin ortaya konması, nasıl bir tedaviye tabi tutulması gerektiği gibi temel sorulara cevap aramak için yapılmaktadır. Türk popülasyonunda meme kanseri ile ilgili polimorfizm çalışmaları postmenopozal bayanlara yönelik olup, bugüne kadar erken yaş meme kanseri ve ileri yaş meme kanseri arasında net bir ayrım yapılmamıştır. Oysa literatürde var olan çalışmalar genç kadınlardaki meme kanseri olgularının normal meme kanseri vakalarından farklı biyolojik özelliklere sahip olduğunu ve bu hastaların ayrı değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır. İlgili çalışmalar yürütülürken premenopozal ve postmenopozal bayanlar arasında kesin bir ayrımın yapılması gerektiğini önermekteyiz. Net bir ayrımın yapılmaması polimorfizm analizlerinde farklı biyolojik özelliklere sahip hastalarda elde edilen sonuçların tutarsız olmasına neden olmaktadır.

Moleküler kanser çalışmalarında patoloji bölümlerinden elde edilen örnek kullanımının giderek artan önemi göz önüne alındığında, bu bölümlere iletilen dokuların takip ve tespit aşamalarının optimal kalitede DNA eldesine imkan verecek şekilde standardize edilmesi gereklidir. Buna alternatif olarak neoplastik doku örneklerinden taze doku ayrılarak doku bankalarının oluşturulması, yine aynı çalışmalarda kullanılmak üzere hastalara ait periferik kanların toplanması ve kan bankalarında depolanmaları potansiyel moleküler çalışmalar açısından önem arz etmektedir. Çalışmamızda kanserli olgulara ait parafine gömülmüş doku örneklerinden DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Ancak DNA izolasyon aşamasında çalışmanın sonraki aşaması olan tek nükleotid polimorfizmlerinin belirlenmesi aşamasında yeterli miktarda ve kalitede DNA elde edilemeyen örnekler çalışma dışı bırakılmak zorunda kalmıştır. Bu durum çalışılan hasta sayısının düşük olmasına neden olmaktadır.

Bu çalışmadan elde edile sonuçlar göz önüne alındığında *FGFR2* rs1219648 ve *Tp53* rs1042522 tek nükleotid polimorfizimlerinin türk popülasyonunda erken yaş meme kanseri ve çeşitli klinikopatolojik özellikler ile ilişkili olduğu söylenebilir. Fakat bu konuda kesin yargıya varabilmemiz için daha geniş tabanlı, daha büyük hasta ve kontrol gruplarını içeren çalışmalara ve tüm hastaların klinikopatolojik verilerine ulaşılmaya ihtiyaç vardır. Ayrıca çalışmamızda iki farklı gene ait polimorfizmler çalışılmış olup, birçok farklı tek nükleotid polimorfizminin birikmesi sonucu hastalığın ortaya çıkması durumu gözardı

edilmemelidir. Bu nedenle hangisinin ilgili hastalık ile ilişki içersinde olabileceğinin belirlenmesi řu ana kadar yapılan tüm bu çalışmalardaki en büyük güçlüğü oluşturmaktadır. Bu alanda elde edilen bütün sonuçların ilgili veri tabanlarına aktarılması ve yüzlerce parametre içersinden istenilen varyasyonları yorumlayabilecek algoritmaların kurgulanmasına ihtiyaç vardır. Ayrıca hastaların *FGFR2* rs1219648 ve *Tp53* rs1042522 dizisi polimorfizmlerine göre çeşitli tedavi seçeneklerine yanıtları arasında araştırmalar yapılarak, tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlanabilir.



## KAYNAKLAR

- Ademuyiwa, F. O., Groman, A., Hong, C. C., Miller, A., Kumar, S., Levine, E., Erwin, D., Ambrosone, C.,** 2013. Time-trends in survival in young women with breast cancer in a SEER population-based study, *Breast Cancer Res Tr.*, **138**, 241-248.
- Agarwal, G., Pradeep, P.V., Aggarwal, V., Yip, C.H., Cheung, P.S.,** 2007. Spectrum of breast cancer in Asian women, *World J Surg .*, **31**, 1031-40.
- Ahmed, S., Thomas, G., Ghoussaini, M., Healey, C. S., Humphreys, M. K., Platte, R., Morrison, J., Maranian, M., Pooley, K. A., Luben, R., et al.** 2009. Newly discovered breast cancer susceptibility loci on 3p24 and 17q23.2. *Nat Genet.*, **41**, 585-590.
- Akarolo-Anthony, S.N., Ogundiran, T.O., Adebamowo, C.A.,** 2010. Emerging breast cancer epidemic: Evidence from Africa, *Breast Cancer Res.*, **12**, 1-8.
- Al-Qasem, A., Toulimat, M., Tulbah, A., Elkum, N., Al-Tweigeri, T., Aboussekhra, A.,** 2012. The p53 codon 72 polymorphism is associated with risk and early onset of breast cancer among Saudi women, *Oncol Lett.*, **3**, 875-8.
- Anders, C. K., Fan, C., Parker, J. S., Carey, L. A., Blackwell, K. L., Klauber-DeMore, N., Perou, C. M.,** 2011. Breast Carcinomas Arising at a Young Age: Unique Biology or a Surrogate for Aggressive Intrinsic Subtypes?, *J Clin Oncol. ,* **29**, 18-20.
- Anders, C.K., Johnson, R., Litton, J., Phillips, M., Bleyer, A.,** 2009. Breast cancer before age 40 years, *Semin Oncol.*, **36**, 237-49.
- Anders, C. K., Hsu, D. S., Broadwater, G., Acharya, C. R., Foekens, J. A., Zhang, Y., Wang, Y. X., Marcom, P. K., Marks, J. R., Febbo, P. G., et al.** 2008a. Young age at diagnosis correlates with worse prognosis and defines a subset of breast cancers with shared patterns of gene expression, *J Clin Oncol.*, **26**, 3324-3330.
- Anders, C. K., Acharya, C. R., Hsu, D. S., Broadwater, G., Garman, K., Foekens, J. A., Zhang, Y., Wang, Y. X., Marcom, K., Marks, J. R., et al.** 2008b. Age-Specific Differences in Oncogenic Pathway Deregulation Seen in Human Breast Tumors, *Plos One.*, **3**, 1-8.

- Anderson, W.F., Rosenberg, P.S., Menashe, I., Mitani, A., Pfeiffer, R.M.,** 2008. Age-related crossover in breast cancer incidence rates between black and white ethnic groups, *J Natl Cancer Inst.*, **100**, 1804-14.
- Arriagada, R., Le, M. G., Contesso, G., Guinebretiere, J. M., Rochard, F., Spielmann, M.,** 2002. Predictive factors for local recurrence in 2006 patients with surgically resected small breast cancer, *Ann Oncol.*, **13**, 1404-13.
- Assi, H.A., Khoury, K.E., Dbouk, H., Khalil, L.E., Mouhieddine, T.H., El Saghir, N.S.,** 2013. Epidemiology and prognosis of breast cancer in young women, *J Thorac Dis.*, **5**, 2-8.
- Aydiner, A., Dinçer, M., Topuz, E.,** 2010. Meme Kanserinde Adjuvant Tedavi Abant Konsensusu. *Nobel tıp kitabevi.*, 8-10.
- Azim, H. A., Brohee, S., Peccatori, F. A., Desmedt, C., Loi, S., Lambrechts, D., Dell'Orto, P., Majjaj, S., Jose, V., Rotmensz, N., et al.** 2014. Biology of breast cancer during pregnancy using genomic profiling, *Endocr-Relat Cancer.*, **21**, 545-554.
- Azim, H. A., Jr., Michiels, S., Zagouri, F., Delaloge, S., Filipits, M., Namer, M., Neven, P., Symmans, W. F., Thompson, A., Andre, F., Loi, S., Swanton, C.,** 2013. Utility of prognostic genomic tests in breast cancer practice: The IMPAKT 2012 Working Group Consensus Statement, *Ann Oncol.*, **24**, 647-54.
- Azim, H. A., Michiels, S., Bedard, P. L., Singhal, S. K., Criscitiello, C., Ignatiadis, M., Haibe-Kains, B., Piccart, M. J., Sotiriou, C., Loi, S.,** 2012. Elucidating Prognosis and Biology of Breast Cancer Arising in Young Women Using Gene Expression Profiling, *Clin Cancer Res.*, **18**, 1341-1351.
- Barsky, S.H., Mrozek, E., Love, R.,** 2009. Inflammatory Breast Cancer. In: Bland KI, Copeland EM. eds. *The Breast, Comprehensive Management of Benign and Malignant Diseases*. 4th ed. Philadelphia., Saunders Elsevier, 1393-1401.
- Bauer, K. R., Brown, M., Cress, R. D., Parise, C. A., Caggiano, V.,** 2007. Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype - A population-based study from the California Cancer Registry, *Cancer.*, **109**, 1721-1728.

- Beckman, G., Birgander, R., Sjalander, A., Saha, N., Holmberg, P. A., Kivela, A. , Beckman, L.,** 1994. Is p53 polymorphism maintained by natural selection?, *Hum Here.*, **44**, 266-70.
- Bergamaschi, D., Samuels, Y., Sullivan, A., Zvelebil, M., Breyssens, H., Bisso, A., Del Sal, G., Syed, N., Smith, P., Gasco, M., et al.** 2006. iASPP preferentially binds p53 proline-rich region and modulates apoptotic function of codon 72-polymorphic p53, *Nat Genet.*, **38**, 1133-41.
- Buchanan, N., Roland, K.B., Rodriguez, J.L., Miller, J.W., Fairley, T.,** 2013. Opportunities for public health communication, intervention, and future research on breast cancer in younger women, *J Womens Health (Larchmt).*, **22**, 293–298.
- Buchman, V.L., Chumakov, N.N., Ninkina, N.N., Samarina, O.P., Georgiev, G.P.,** 1988. A variation in the structure of the protein-coding region of the human p53 gene, *Gene.*, **70**, 245–252.
- Bull, L.,** 2000. Genetics, Mutations, and Polymorphisms. In: Madame Curie Bioscience Database , Austin (TX): Landes Bioscience.
- Bunz, F.,** 1998. Requirement for p53 and p21 to sustain G2 arrest after DNA damage. *Science.*, **282**, 1497-501.
- Caelles, C., Helmberg, A., Karin, M.,** 1994. p53-dependent apoptosis in the absence of transcriptional activation of p53-target genes, *Nature.*, **370**, 220-3.
- Cancello, G., Maisonneuve, P., Rotmensz, N., Viale, G., Mastropasqua, M. G., Pruneri, G., Veronesi, P., Torrì, R., Montagna, E., Luini, A., et al.** 2010. Prognosis and adjuvant treatment effects in selected breast cancer subtypes of very young women (< 35 years) with operable breast cancer, *Ann Oncol.*, **21**, 1974-1981.
- Carey, L. A., Perou, C. M., Livasy, C. A., Dressler, L. G., Cowan, D., Conway, K., Karaca, G., Troester, M. A., Tse, C. K., Edmiston, S., et al.** 2006. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study, *Jama-J Am Med Assoc.*, **295**, 2492-2502.
- Carraro, D. M., Koike Folgueira, M. A., Garcia Lisboa, B. C., Ribeiro Olivieri, E. H., Vitorino Krepschi, A. C., de Carvalho, A. F., de Carvalho Mota, L. D., Puga, R. D., do Socorro Maciel, M., Michelli, R. A., et al.** 2013. Comprehensive analysis of *BRCA1*, *BRCA2* and *TP53* germline mutation and tumor

- characterization: a portrait of early-onset breast cancer in Brazil, *PLoS One.*, **8**, e57581.
- Carroll, J. S., Meyer, C. A., Song, J., Li, W., Geistlinger, T. R., Eeckhoute, J., Brodsky, A. S., Keeton, E. K., Fertuck, K. C., Hall, G. F., et al.** 2006. Genome-wide analysis of estrogen receptor binding sites, *Nat Genet.*, **38**, 1289-97.
- Chaffer, C. L., Dopheide, B., Savagner, P., Thompson, E. W. , Williams, E. D.,** 2007. Aberrant fibroblast growth factor receptor signaling in bladder and other cancers, *Differentiation.*, **75**, 831-842.
- Christinat, A. and Pagani, O.,** 2012. Fertility after breast cancer, *Maturitas.*, **73**, 191-6.
- Christinat, A., Di Lascio, S., Pagani, O.,** 2013. Hormonal therapies in young breast cancer patients: when, what and for how long?, *J Thorac Dis.*, **5**, 36-46.
- Claus, E.B., Risch, N., Thompson, W.D.,** 1991. Genetic analysis of breast cancer in the cancer and steroid hormone study, *Am J Hum Genet.*, **48**, 232-42.
- Cohn, B. A., Wolff, M. S., Cirillo, P. M., Sholtz, R. I. ,** 2007. DDT and breast cancer in young women: new data on the significance of age at exposure, *Environ Health Persp.*, **115**, 1406-1414.
- Coleman-Krnacik, S., Rosen, J. M.,** 1994. Differential temporal and spatial gene expression of fibroblast growth factor family members during mouse mammary gland development, *Mol Endocrinol.*, **8**, 218-29.
- Collins, L. C., Marotti, J. D., Gelber, S., Cole, K., Ruddy, K., Kereakoglow, S., Brachtel, E. F., Schapira, L., Come, S. E., Winer, E. P., et al.** 2012. Pathologic features and molecular phenotype by patient age in a large cohort of young women with breast cancer, *Breast Cancer Res Tr.*, **131**, 1061-1066.
- Contesso, G., Omar, S.,** 2001. Breast Cancer, National Cancer Institute, *Cairo University*, 1-8.
- Copeland, R. A., Ji, H., Halfpenny, A. J., Williams, R. W., Thompson, K. C., Herber, W. K., Thomas, K. A., Bruner, M. W., Ryan, J. A., Marquis-Omer, D., et al.** 1991. The structure of human acidic fibroblast growth factor and its interaction with heparin, *Arch Biochem Biophys.*, **289**, 53-61.
- Corson, L. B., Yamanaka, Y., Lai, K. M., Rossant, J.,** 2003. Spatial and temporal patterns of ERK signaling during mouse embryogenesis, *Development*, **130**, 4527-37.
- Darnell, J. E., Jr.,** 1997. STATs and gene regulation, *Science.*, **277**, 1630-5.

- Davies, H., Hunter, C., Smith, R., Stephens, P., Greenman, C., Bignell, G., Teague, J., Butler, A., Edkins, S., Stevens, C., et al.** 2005. Somatic mutations of the protein kinase gene family in human lung cancer, *Cancer Res.*, **65**, 7591-5.
- Deng, C., Zhang, P., Harper, J. W., Elledge, S. J., Leder, P.,** 1995. Mice lacking p21CIP1/WAF1 undergo normal development, but are defective in G1 checkpoint control, *Cell.*, **82**, 675-84.
- Deroo, B. J. and Korach, K. S.,** 2006. Estrogen receptors and human disease, *J Clin Invest.*, **116**, 561-570.
- Dowsett, M., Folkerd, E., Doody, D., Haynes, B.,** 2005. The biology of steroid hormones and endocrine treatment of breast cancer, *Breast.*, **14**, 452-457.
- Drake R., Vogl A. W., Mitchell A. W. M.,** 2009. Gray's Anatomy for Students. Second Edition. Oxford; Elsevier.
- Dumont, P., Leu, J. I., Della Pietra, A. C. 3rd, George, D. L., Murphy, M.,** 2003. The codon 72 polymorphic variants of p53 have markedly different apoptotic potential. *Nature Genet.*, **33**, 357-365.
- Easton, D., F.Pooley., K. A.Dunning., A. M.Pharaoh., P. D.Thompson., D.Ballinger., D. G.Struewing., J. P.Morrison., J. Field., H. Luben., et al.** 2007. Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci, *Nature.*, **447**, 1087-93.
- Egan, K. M., Newcomb, P. A., Longnecker, M. P., Trentham-Dietz, A., Baron, J. A., Trichopoulos, D., Stampfer, M. J., Willett, W. C.,** 1999. Jewish religion and risk of breast cancer, *Lancet.*, **347**, 1645-6.
- Eivazi-Ziaei, J., Dastgiri, S., Kermani, I. A., Nikanfar, A., Esfahani, A., Sanaat, Z., Sadeghi-Bazargani, H. & Vaez, J.,** 2011. Age pattern of the occurrence of breast cancer in the northwest of Iran, *Indian J Cancer.*, **48**, 406-409.
- El Saghir, N.S., Khalil, M.K., Eid, T., El Kinge, A.R., Charafeddine, M., Geara, F., Seoud, M., Shamseddine, AI.,** 2007. Trends in epidemiology and management of breast cancer in developing Arab countries: a literature and registry analysis, *Int J Surg.*, **5**, 225-233.
- el-Deiry, W. S., Tokino, T., Velculescu, V. E., Levy, D. B., Parsons, R., Trent, J. M., Lin, D., Mercer, W. E., Kinzler, K. W., Vogelstein, B.,** 1993. WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression, *Cell.*, **75**, 817-25.

- Elkhuizen, P.H., Van de Vijver, M.J., Hermans, J., Zonderland, H.M., Van de Velde, C.J., Leer, J.W.,** 1998. Local recurrence after breast-conserving therapy for invasive breast cancer: high incidence in young patients and association with poor survival, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **40**, 859–867.
- Eswarakumar, V. P., Lax, I., Schlessinger, J.,** 2005. Cellular signaling by fibroblast growth factor receptors, *Cytokine Growth Factor Rev.*, **16**, 139-49.
- Fabian, C. J. and Kimler, B. F.,** 2005. Selective estrogen-receptor modulators for primary prevention of breast cancer, *J Clin Oncol.*, **23**, 1644-1655.
- Feki, A., Irminger-Finger, I. ,** 2004. Mutational spectrum of p53 mutations in primary breast and ovarian tumors, *Crit Rev Oncol Hematol.*, **52**, 103-16.
- Felley-Bosco, E., Weston, A., Cawley, H. M., Bennett, W. P., Harris, C. C.,** 1993. Functional studies of a germ-line polymorphism at codon 47 within the p53 gene, *Am J Hum Genet.*, **53**, 752-9.
- Ferahman,M.,** 2006. Meme Kanserinde Güncel TNM Evrelemesi, 2006, *Sempozyum Dizisi No: 54, Aralık, s. 87 – 91.*
- Fletcher, O., Johnson, N., Orr, N., Hosking, F. J., Gibson, L. J., Walker, K., Zelenika, D., Gut, I., Heath, S., Palles, C., et al.** 2011. Novel Breast Cancer Susceptibility Locus at 9q31.2: Results of a Genome-Wide Association Study, *J Natl Cancer I.*, **103**, 425-435.
- Freedman, G. M., Hanlon, A. L., Fowble, B. L., Anderson, P. R., Nicolaou, N.,** 2002. Recursive partitioning identifies patients at high and low risk for ipsilateral tumor recurrence after breast-conserving surgery and radiation, *J Clin Oncol.*, **20**, 4015-21.
- Fu, F., Wang. C., Huang, M., Song, C., Lin, S., Huang, H.,** 2012. Polymorphisms in Second Intron of the *FGFR2* Gene Are Associated with the Risk of Early-Onset Breast Cancer in Chinese Han Women, *The Tohoku J. Exp. Med.*, **226**, 221-229.
- Furdui, C. M., Lew, E. D., Schlessinger, J., Anderson, K. S.,** 2006. Autophosphorylation of FGFR1 kinase is mediated by a sequential and precisely ordered reaction, *Mol Cell.*, **21**, 711-7.
- Gabriel, C. A. and Domchek, S. M.,** 2010. Breast cancer in young women, *Breast Cancer Res.*, **12**, 212.

- Gajdos, C., Tartter, P.I., Bleiweiss, I.J., Bodian, C., Brower, S.T.,** 2000. Stage 0 to stage III breast cancer in young women, *J. Am. Coll. Surg.*, **190**, 523–529.
- Garcia-Closas, M., Couch, F. J., Lindstrom, S., Michailidou, K., Schmidt, M. K., Brook, M. N., Orr, N., Rhie, S. K., Riboli, E., Feigelson, H. S., et al.** 2013. Genome-wide association studies identify four ER negative specific breast cancer risk loci, *Nat Genet.*, **45**, 392-398.
- Gewefel, H. and Salhia, B.,** 2014. Breast Cancer in Adolescent and Young Adult Women, *Clin Breast Cancer.*, **14**, 390-395.
- Ginsburg, O.M., Love, R.R.,** 2011. Breast cancer: a neglected disease for the majority of affected women worldwide, *Breast J.*, **17**, 289-95.
- Goldhirsch, A., Glick, J.H., Gelber, R.D., Coates, A.S., Senn, H.J.** 2001. Meeting highlights: International Consensus Panel on the Treatment of Primary Breast Cancer. Seventh International Conference on Adjuvant Therapy of Primary Breast Cancer, *J Clin Oncol.*, **19**, 3817-3827.
- Goldhirsch, A., Winer, E. P., Coates, A. S., Gelber, R. D., Piccart-Gebhart, M., Thurlimann, B., Senn, H. J., Panel members .,** 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, *Ann Oncol.*, **24**, 2206-2223.
- Goodwin, P.J., Ennis, M., Pritchard, K.I., Trudeau, M., Hood, N.,** 1999. Risk of menopause during the first year after breast cancer diagnosis, *J Clin Oncol .*, **17**, 2365-70.
- Gotoh, N.,** 2008. Regulation of growth factor signaling by FRS2 family docking/scaffold adaptor proteins, *Cancer Sci.*, **99**, 1319-25.
- Greenlee, R.T., Murray, T., Bolden, S., Wingo, P.A.,** 2008. **Cancer Statistics 2000 .** *Cancer J. Clin.*, **50**, 7-33.
- Haffty, B.G., Fischer, D., Rose, M., Beinfeld, M., McKhann, C.,** 1991. Prognostic factors for local recurrence in the conservatively treated breast cancer patient: a cautious interpretation of the data, *J. Clin. Oncol.*, **9**, 997–1003.
- Hanahan, D. , and Weinberg, R. A.,** 2000. The hallmarks of cancer, *Cell.*, **100**, 57-70.
- Hanahan, D., and Weinberg, R. A.,** 2011. Hallmarks of cancer: the next generation, *Cell.*, **144**, 646-74.

- Harris, C. C.**, 1996. Structure and function of the p53 tumor suppressor gene: clues for rational cancer therapeutic strategies, *J Natl Cancer Inst.* , **88**, 1442-55.
- Harris, N., Brill, E., Shohat, O., Prokocimer, M., Wolf, D., Arai, N., Rotter, V.**, 1986. Molecular basis for heterogeneity of the human p53 protein, *Mol Cell Biol.*, **6**, 4650-6.
- Haupt, Y., Rowan, S., Shaulian, E., Vousden, K.H. & Oren, M.**, 1995. Induction of apoptosis in HeLa cells by transactivation-deficient p53, *Genes Dev.*, **9**, 2170–2183.
- Healey, E.A., Cook, E.F., Orav, E.J., Schnitt, S.J., Connolly, J.L., Harris, J.R.**, 1993. Contralateral breast cancer: clinical characteristics and impact on prognosis. *J Clin Oncol.*, **11**, 1545-1552.
- Hsieh, Y. C., Cho, E. C., Tu, S. H., Wu, C. H., Hung, C. S., Hsieh, M. C., Su, C. T., Liu, Y. R., Lee, C. H., Ho, Y. S., Chiou, H. Y.**, 2017. MSH2 rs2303425 Polymorphism is Associated with Early-Onset Breast Cancer in Taiwan, *Ann Surg Oncol.*, **24**, 603-610.
- Huijts, P. E., van Dongen, M., de Goeij, M. C., van Moolenbroek, A. J., Blanken, F., Vreeswijk, M. P., de Kruijf, E. M., Mesker, W. E., van Zwet, E. W., Tollenaar, R. A., et al.** 2011. Allele-specific regulation of *FGFR2* expression is cell type-dependent and may increase breast cancer risk through a paracrine stimulus involving FGF10, *Breast Cancer Res.*, **13**, R72.
- Hunter, D. J., Kraft, P., Jacobs, K. B., Cox, D. G., Yeager, M., Hankinson, S. E., Wacholder, S., Wang, Z., Welch, R., Hutchinson, A., et al.** 2007. A genome-wide association study identifies alleles in *FGFR2* associated with risk of sporadic postmenopausal breast cancer, *Nat Genet.*, **39**, 870-874.
- Huzarski, T., Byrski, T., Gronwald, J., Gorski, B., Domagala, P., Cybulski, C., Oszurek, O., Szwiec, M., Gugala, K., Stawicka, M., et al.** 2013. Ten-Year Survival in Patients With BRCA1-Negative and BRCA1-Positive Breast Cancer, *J Clin Oncol.*, **31**, 3191-3196.
- Itoh, N., and Ornitz, D. M.**, 2008. Functional evolutionary history of the mouse Fgf gene family. *Dev Dyn.*, **237**, 18-27.

- Jang, J. H., Shin, K. H., Park, J. G.,** 2001. Mutations in fibroblast growth factor receptor 2 and fibroblast growth factor receptor 3 genes associated with human gastric and colorectal cancers, *Cancer Res.*, **61**, 3541-3.
- Johnson, R.H., Chien, F.L., Bleyer, A.,** 2013. Incidence of breast cancer with distant involvement among women in the United States, 1976 to 2009, *JAMA.*, **309**, 800-5.
- Johnson-Thompson M.C. and Guthrie J.,** 2000. Ongoing research to identify environmental risk factors in breast carcinoma. *Cancer.*, **88**, 1224-1229.
- Kalaycı, G., Acarlı, K., Demirkol, K., Ertekin, C.,** 2002. Meme anatomis ve gelişmesi. Genel cerrah cilt 1.Türkiye, İstanbul: Nobel. 537-42.
- Katoh, M.,** 2008. Cancer genomics and genetics of FGFR2, *Int J Oncol.*, **33**, 233-237.
- Katoh, Y., Katoh. M.,** 2009. FGFR2-related pathogenesis and FGFR2-targeted therapeutics, *Int J Mol Med.*, **23**, 307-11.
- Kawase, T., Matsuo, K., Suzuki, T., Hiraki, A., Watanabe, M., Iwata, H., Tanaka, H., Tajima, K.,** 2009. *FGFR2* intronic polymorphisms interact with reproductive risk factors of breast cancer: results of a case control study in Japan, *Int J Cancer.*, **125**, 1946-52.
- Kebudi, A. And Deveci, U.,** 2012. İltihabi Meme Kanseri, *The Journal of Breast Health.*,**8**, 55-62.
- Keegan, T. H. M., DeRouen, M. C., Press, D. J., Kurian, A. W. And Clarke, C. A. ,** 2012. Occurrence of breast cancer subtypes in adolescent and young adult women, *Breast Cancer Res.*, **14**.
- Khadang, B., Fattahi, M. J., Talei, A., Dehaghani, A. S., Ghaderi, A.,** 2007. Polymorphism of *TP53* codon 72 showed no association with breast cancer in Iranian women, *Cancer Genet Cytogenet.*, **173**, 38-42.
- Kim, H. S., Park, I., Cho, H. J., Gwak, G., Yang, K., Bae, B. N., Kim, K. W., Han, S., Kim, H. J. & Kim, Y. D.,** 2012. Analysis of the Potent Prognostic Factors in Luminal-Type Breast Cancer, *J Breast Cancer.* **15**, 401-406.
- Koumenis, C., Alarcon, R., Hammond, E., Sutphin, P., Hoffman, W., Murphy, M., Derr, J., Taya, Y., Lowe, S. W., Kastan, M., Giaccia, A.,** 2001 Regulation of p53 by hypoxia: dissociation of transcriptional repression and apoptosis from p53-dependent transactivation, *Mol Cell Biol.*, **21**, 1297-310.

- Koziczak, M., Holbro, T., Hynes, N. E.,** 2004. Blocking of FGFR signaling inhibits breast cancer cell proliferation through downregulation of D-type cyclins, *Oncogene.*, **23**, 3501-8.
- Krstic, R.V.,** 2004. Human Microscopic Anatomy: An Atlas for Students of Medicine and Biology. *Springer.* 466.
- Lacroix, M., Toillon, R. A., Leclercq, G.,** 2006. p53 and breast cancer, an update, *Endocr Relat Cancer.*, **13**, 293-325.
- Lange, C.A., and Yee, D.,** 2008. Progesterone and breast cancer. *Women's Health.*, **4**, 151-162.
- Lee, J. H., Yim, S. H., Won, Y. J., Jung, K. W., Son, B. H., Lee, H. D., Lee, E. S., Yoo, K. Y., Ahn, S. H., Shin, H. R.,** Members of Korean Breast Cancer., 2007. Population-based breast cancer statistics in Korea during 1993-2002: incidence, mortality, and survival, *J Korean Med Sci.*, **22** , S11-6.
- Leung, G. M., Thach, T. Q., Lam, T. H., Hedley, A. J., Fielding, R., Yip, P. S. F., Lau, E. M. C. & Wong, C. M.,** 2002. Trends in breast cancer incidence in Hong Kong between 1973 and 1999: an age-period-cohort analysis, *Brit J Cancer.*, **87**, 982-988.
- Lew, E. D., Bae, J. H., Rohmann, E., Wollnik, B. , Schlessinger, J.,** 2007. Structural basis for reduced FGFR2 activity in LADD syndrome: Implications for FGFR autoinhibition and activation, *Proc Natl Acad Sci U S A.*, **104**, 19802-7.
- Li, W. F., Hu, Z., Liu, X. Y., Zhang, B., Cao, M. Z., Wang, Y. S., Zhao, L., Liu, Y. B., Yuan, W. T., Shen, Z. Z., Huang, W. & Shao, Z. M.,** 2007. [BRCA1 germ line mutations in Chinese early-onset breast cancer patients], *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi.* **24**, 499-504.
- Liang, J., Chen, P., Hu, Z., Zhou, X., Chen, L., Li, M., Wang, Y., Tang, J., Wang, H., Shen, H.,** 2008. Genetic variants in fibroblast growth factor receptor 2 (*FGFR2*) contribute to susceptibility of breast cancer in Chinese women, *Carcinogenesis.*, **29**, 2341-6.
- Lim, E., Vaillant, F., Wu, D., Forrest, N. C., Pal, B., Hart, A. H., Asselin-Labat, M. L., Gyorki, D. E., Ward, T., Partanen, A., et al.** 2009. Aberrant luminal progenitors as the candidate target population for basal tumor development in BRCA1 mutation carriers, *Nat Med.*, **15**, 907-913.

- Lin, C. C., Melo, F. A., Ghosh, R., Suen, K. M., Stagg, L. J., Kirkpatrick, J., Arold, S. T., Ahmed, Z., Ladbury, J. E.,** 2012. Inhibition of basal FGF receptor signaling by dimeric Grb2, *Cell*, 149, 1514-24.
- Liu, C. L., Hu, X. P., Guo, W. D., Yang, L., Dang, J., Jiao, H. Y.,** 2013. Case-control study on the fibroblast growth factor receptor 2 gene polymorphisms associated with breast cancer in chinese han women, *J Breast Cancer.*, **16**, 366-71.
- Lohrum, M. A., Woods, D. B., Ludwig, R. L., Balint, E., Vousden, K. H. ,** 2001. C-terminal ubiquitination of p53 contributes to nuclear export, *Mol Cell Biol.*, **21**, 8521-32.
- Lu, P., Ewald, A. J., Martin, G. R., Werb, Z.,** 2008. Genetic mosaic analysis reveals FGF receptor 2 function in terminal end buds during mammary gland branching morphogenesis. *Dev Biol.*, 321, 77-87.
- Ma, Z.L., Cao, M.Z., Li, W.F.,** 2008. Analysis of BRCA2 gene mutations among familial and/or early-onset breast cancer patients in eastern Shandong of China, *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi.*, **25**, 195-198.
- Mailleux, A. A., Spencer-Dene, B., Dillon, C., Ndiaye, D., Savona-Baron, C., Itoh, N., Kato, S., Dickson, C., Thiery, J. P., Bellusci, S.,** 2002. Role of FGF10/FGFR2b signaling during mammary gland development in the mouse embryo, *Development.*, 129, 53-60.
- Malkin, D.,** 2011. Li-fraumeni syndrome, *Genes Cancer.*, **2**, 475–484.
- Malone, K.E., Daling, J.R., Neal, C., Suter, N.M., O'Brien, C., Cushing-Haugen, K., Jonasdottir, T.J., Thompson, J.D., Ostrander, E.A.,** 2000. Frequency of BRCA1/BRCA2 mutations in a population-based sample of young breast carcinoma cases, *Cancer.*, **88**, 1393-1402.
- Marin, M. C., Jost, C. A., Brooks, L. A., Irwin, M. S., O'Nions, J., Tidy, J. A., James, N., McGregor, J. M., Harwood, C. A., Yulug, I. G., et al.** 2000. A common polymorphism acts as an intragenic modifier of mutant p53 behaviour, *Nat Genet.*, **25**, 47-54.
- Matlashewski, G. J., Tuck, S., Pim, D., Lamb, P., Schneider, J. , Crawford, L. V. ,** 1987. Primary structure polymorphism at amino acid residue 72 of human p53, *Mol Cell Biol.*, **7**, 961-3.

- Meyer, K. B., Maia, A. T., O'Reilly, M., Teschendorff, A. E., Chin, S. F., Caldas, C., Ponder, B. A.,** 2008. Allele-specific up-regulation of *FGFR2* increases susceptibility to breast cancer, *PLoS Biol.*, **6**, e108.
- Mitri, Z., Constantine, T., O'Regan, R.,** 2012. The HER2 Receptor in Breast Cancer: Pathophysiology, Clinical Use, and New Advances in Therapy, *Chemother Res Pract.*, **2012**, 1-7.
- Mohammadi, M., Dikic, I., Sorokin, A., Burgess, W. H., Jaye, M., Schlessinger, J.,** 1996. Identification of six novel autophosphorylation sites on fibroblast growth factor receptor 1 and elucidation of their importance in receptor activation and signal transduction, *Mol Cell Biol.*, **16**, 977-89.
- Moon, E.K., Park, H.J., Oh, C.M., Jung, K.W., Shin, H.Y., Park, B.K., Won, Y.J.,** 2014. Cancer incidence and survival among adolescents and young adults in Korea, *PloS One.*, **9**, e96088.
- Moore, M. R., Spence, J. B., Kiningham, K. K. & Dillon, J. L.,** 2006. Progesterin inhibition of cell death in human breast cancer cell lines, *J Steroid Biochem.*, **98**, 218-227.
- Morrison, D. H., Rahardja, D., King, E., Peng, Y., Sarode, V. R.,** 2012. Tumour biomarker expression relative to age and molecular subtypes of invasive breast cancer, *Brit J Cancer.*, **107**, 382-387.
- Mourali, N., Muenz, L.R., Tabbane, F., Belhassen, S., Bahi, J., Levine, P.H.,** 1980. Epidemiologic features of rapidly progressing breast cancer in Tunisia, *Cancer.*, **15**, 2741-2746.
- N, Buyru., H, Tigli., N, Dalay.,** 2003. p53 codon 72 polymorphism in breast cancer, *Oncol Rep.*, **10**, 711–714.
- Negron-Gonzalez, V., Oh, J.L., Cristofanilli, M., Babiera, G.V.,** 2010. Inflammatory Breast Cancer. In: *Kuerer's Breast Surgical Oncology*, 1st Edition. Ed(s) Kuerer HM. McGraw-Hill: USA, 927-35.
- Nichols, K. E., Malkin, D., Garber, J. E., Fraumeni, J. F., Li, F. P.,** 2001. Germ-line p53 mutations predispose to a wide spectrum of early-onset cancers, *Cancer Epidem Biomar.*, **10**, 83-87.
- Nik-Zainal, S., Alexandrov, L. B., Wedge, D. C., Van Loo, P., Greenman, C. D., Raine, K., Jones, D., Hinton, J., Marshall, J., Stebbings, L. A., et al.** 2012.

- Mutational Processes Molding the Genomes of 21 Breast Cancers, *Cell.*, **149**, 979-993.
- Nik-Zainal, S., Alexandrov, L. B., Wedge, D. C., Van Loo, P., Greenman, C. D., Raine, K., Jones, D., Hinton, J., Marshall, J., Stebbings, L. A., et al.** 2012. Mutational processes molding the genomes of 21 breast cancers, *Cell.*, **149**, 979-93.
- Olivier, M., Hollstein, M., Hainaut, P.**, 2010. *TP53* mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use, *Cold Spring Harb Perspect Biol.*, **2**, a001008.
- Ong, S. H., Hadari, Y. R., Gotoh, N., Guy, G. R., Schlessinger, J., Lax, I.**, 2001. Stimulation of phosphatidylinositol 3-kinase by fibroblast growth factor receptors is mediated by coordinated recruitment of multiple docking proteins, *Proc Natl Acad Sci U S A.*, **98**, 6074-9.
- Onitilo, A.A., Engel, J.M., Greenlee, R.T., Mukesh, B.N.**, 2009. Breast cancer subtypes based on ER/PR and Her2 expression: comparison of clinicopathologic features and survival, *Clin Med Res.*, **7**, 4-13.
- Ornitz, D. M., and Itoh, N.**, 2001. Fibroblast growth factors, *Genome Biol.*, **2**, REVIEWS3005.
- Orr-Urtreger, A., Bedford, M. T., Burakova, T., Arman, E., Zimmer, Y., Yayon, A., Givol, D., Lonai, P.** 1993. Developmental localization of the splicing alternatives of fibroblast growth factor receptor-2 (*FGFR2*), *Dev Biol.*, **158**, 475-86.
- Pagani, O., Regan, M. M., Walley, B. A., Fleming, G. F., Colleoni, M., Lang, I., Gomez, H. L., Tondini, C., Burstein, H. J., Perez, E. A., et al.** 2014. Adjuvant Exemestane with Ovarian Suppression in Premenopausal Breast Cancer, *New Engl J Med.*, **371**, 107-118.
- Paik, S., Shak, S., Tang, G., Kim, C., Baker, J., Cronin, M., Baehner, F. L., Walker, M. G., Watson, D., Park, T., et al.** 2004. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer, *New Engl J Med.*, **351**, 2817-2826.
- Panel NIOHCD.**, 2001. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: Adjuvant Therapy for breast cancer, November 1–3, 2000, *J. Natl. Cancer Inst.*, **30**, 5–15.
- Parise, C.A., Bauer, K.R., Brown, M.M., Caggiano, V.**, 2009. Breast cancer subtypes as defined by the estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), and the human

- epidermal growth factor receptor 2 (HER2) among women with invasive breast cancer in California, 1999-2004, *Breast J.*, **15**, 593-602.
- Parsa, S., Ramasamy, S. K., De Langhe, S., Gupte, V. V., Haigh, J. J., Medina, D., Bellusci, S.**, 2008. Terminal end bud maintenance in mammary gland is dependent upon FGFR2b signaling, *Dev Biol.*, **317**, 121-31.
- Partridge, A. H., Gelber, S., Piccart-Gebhart, M. J., Focant, F., Scullion, M., Holmes, E., Winer, E. P., Gelber, R. D.**, 2013. Effect of Age on Breast Cancer Outcomes in Women With Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Positive Breast Cancer: Results From a Herceptin Adjuvant Trial, *J Clin Oncol.*, **31**, 2692-2698.
- Perou, C. M., Sorlie, T., Eisen, M. B., van de Rijn, M., Jeffrey, S. S., Rees, C. A., Pollack, J. R., Ross, D. T., Johnsen, H., Akslen, L. A., et al.** 2000. Molecular portraits of human breast tumours, *Nature.*, **406**, 747-752.
- Petitjean, A., Mathe, E., Kato, S., Ishioka, C., Tavtigian, S. V., Hainaut, P., 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, *Hum Mutat.*, **28**, 622-9.
- Peto, J., Collins, N., Barfoot, R., Seal, S., Warren, W., Rahman, N., Easton, D. F., Evans, C., Deacon, J., Stratton, M. R.**, 1999. Prevalence of BRCA1 and BRCA2 gene mutations in patients with early-onset breast cancer, *J Natl Cancer I.*, **91**, 943-949.
- Plotnikov, A. N., Hubbard, S. R., Schlessinger, J., Mohammadi, M.**, 2000. Crystalstructures of two FGF-FGFR complexes reveal the determinants of ligand-receptor specificity, *Cell.*, **101**, 413-24.
- Pollock, P. M., Gartside, M. G., Dejeza, L. C., Powell, M. A., Mallon, M. A., Davies, H., Mohammadi, M., Futreal, P. A., Stratton, M. R., Trent, J. M., Goodfellow, P. J.**, 2007. Frequent activating *FGFR2* mutations in endometrial carcinomas parallel germline mutations associated with craniosynostosis and skeletal dysplasia syndromes, *Oncogene.*, **26**, 7158-62.
- Porter, P.**, 2008. "Westernizing" women's risks? Breast cancer in lower-income countries, *N Engl J Med.*, **358**, 213-6.
- Poyurovsky, M. V., Katz, C., Laptenko, O., Beckerman, R., Lokshin, M., Ahn, J., Byeon, I. J., Gabizon, R., Mattia, M., Zupnick, A., et al.** 2010. The C terminus of p53 binds the N-terminal domain of MDM2, *Nat Struct Mol Biol.*, **17**, 982-9.

- Prat, A., Cheang, M. C. U., Martin, M., Parker, J. S., Carrasco, E., Caballero, R., Tyldesley, S., Gelmon, K., Bernard, P. S., Nielsen, T. O. , Perou, C. M.,** 2013. Prognostic Significance of Progesterone Receptor-Positive Tumor Cells Within Immunohistochemically Defined Luminal A Breast Cancer, *J Clin Oncol.*, **31**, 203-209.
- Puente, X. S., Velasco, G., Gutierrez-Fernandez, A., Bertranpetit, J., King, M. C., Lopez-Otin, C. ,** 2006. Comparative analysis of cancer genes in the human and chimpanzee genomes, *BMC Genomics.*, **7**, 15.
- Pusztai, L., Mazouni, C., Anderson, K., Wu, Y., Symmans, W.F.,** 2006. Molecular Classification of Breast Cancer: Limitations and Potential, *The Oncologist.*, **11**, 868–77.
- Raskin, L., Pinchev, M., Arad, C., Lejbkowitz, F., Tamir, A., Rennert, H. S., Rennert, G., Gruber, S. B.,** 2008. *FGFR2* is a breast cancer susceptibility gene in Jewish and Arab Israeli populations, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, **17**, 1060-5.
- Rebbeck, T. R., DeMichele, A., Tran, T. V., Panossian, S., Bunin, G. R., Troxel, A. B., Strom, B. L. ,** 2009. Hormone-dependent effects of *FGFR2* and *MAP3K1* in breast cancer susceptibility in a population-based sample of post-menopausal African-American and European-American women, *Carcinogenesis.*, **30**, 269-74.
- Roth, J., Koch, P., Contente, A., Dobbelsstein, M.,** 2000. Tumor-derived mutations within the DNA-binding domain of p53 that phenotypically resemble the deletion of the proline-rich domain, *Oncogene.* , **19**, 1834-42.
- Saadatian, Z., Gharesouran, J., Ghojzadeh, M., Ghohari-Lasaki, S., Tarkesh-Esfahani, N., Ardebili, S. M. M. ,** 2014. Association of rs1219648 in *FGFR2* and rs1042522 in *TP53* with Premenopausal Breast Cancer in an Iranian Azeri Population, *Asian Pac J Cancer P.*, **15**, 7955-7958.
- Sakamuro, D., Sabbatini, P., White, E., Prendergast, G. C. ,**1997. The polyproline region of p53 is required to activate apoptosis but not growth arrest, *Oncogene.*, **15**, 887-98.
- Salhia, B., Tapia, C., Ishak, E. A., Gaber, S., Berghuis, B., Hussain, K. H., DuQuette, R. A., Resau, J., Carpten, J. ,** 2011. Molecular subtype analysis determines the association of advanced breast cancer in Egypt with favorable biology, *BMC Womens Health.*, **11**, 44.

- Sartorius, C. A., Harvell, D. M. E., Shen, T., Horwitz, K. B.,** 2005. Progestins Initiate a Luminal to Myoepithelial Switch in Estrogen-Dependent Human Breast Tumors without Altering Growth, *Cancer Res.*, **65**, 9779-9788.
- Schenke, J.G., Levisky, R., Ohel, G.,** 1984. Multiple Primary Malignant Neoplasms in Breast Cancer Patients in Israel, *Cancer.*, **54**, 145-50.
- Schlessinger, J., Plotnikov, A. N., Ibrahimi, O. A., Eliseenkova, A. V., Yeh, B. K., Yayon, A., Linhardt, R. J., Mohammadi, M.,** 2000. Crystal structure of a ternary FGF-FGFR-heparin complex reveals a dual role for heparin in FGFR binding and dimerization, *Mol Cell.*, **6**, 743-50.
- Shaffrey, M. E., Mut, M., Asher, A. L., Burri, S. H., Chahlavi, A., Chang, S. M., Farace, E., Fiveash, J. B., Hentschel, S. J., Lang, F. F., et al.** 2004. Brain metastases - Epidemiologic features of brain metastases, *Curr Prob Surg.*, **41**, 665-741.
- Shah, S. P., Roth, A., Goya, R., Oloumi, A., Ha, G., Zhao, Y. J., Turashvili, G., Ding, J. R., Tse, K., Haffari, G., Bashashati, A., et al.** 2012. The clonal and mutational evolution spectrum of primary triple-negative breast cancers, *Nature.*, **486**, 395-399.
- Sharma, G. N., Dave, R., Sanadya, J., Sharma, P. & Sharma, K. K. ,** 2010. Various types and management of breast cancer: an overview, *J Adv Pharm Technol Res.*, **1**, 109-26.
- Shen, Y.C., Chang, C.J., Hsu, C., Cheng, C.C., Chiu, C.F., Cheng, A.L.,** 2005. Significant difference in the trends of female breast cancer incidence between Taiwanese and Caucasian Americans: implications from age-period-cohort analysis, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, **14**, 1986-90.
- Shuen, A. Y. and Foulkes, W. D.,** 2011. Inherited Mutations in Breast Cancer Genes-Risk and Response, *J Mammary Gland Biol.*, **16**, 3-15.
- Singh, V., Rastogi, N., Mathur, N., Singh, K. & Singh, M. P.,** 2008. Association of polymorphism in MDM-2 and p53 genes with breast cancer risk in Indian women, *Ann Epidemiol.*, **18**, 48-57.
- Sjalander, A., Birgander, R., Kivela, A., Beckman, G.,** 1995. p53 polymorphisms and haplotypes in different ethnic groups, *Hum Hered.*, **45**, 144-9.
- Slee, E. A., O'Connor, D. J., and X, Lu.,** 2004. "To die or not to die: how does p53 decide?" *Oncogene.*, **23**, 2809–2818, 2004.

- Somunoğlu, S.**, 2007. Meme Kanserinde Risk Faktörleri, *Fırat Sağlık Hizmetleri Dergisi.*, **5**, 2-12.
- Sotiriou, C. and Puztai, L.**, 2009. Molecular Origins Of Cancer: Gene-Expression Signatures in Breast Cancer, *New Engl J Med.*, **360**, 790-800.
- Soussi, T.**, 2000. The p53 tumor suppressor gene: from molecular biology to clinical investigation, *Ann N Y Acad Sci.*, **910**, 121-37; discussion 137-9.
- Soussi, T., Caron de Fromental, C., May, P.**, 1990. Structural aspects of the p53 protein in relation to gene evolution, *Oncogene.*, **5**, 945-52.
- Spratt, J.S., Tabin, G.R.**, 1995. Gross anatomy of the breast. In: Donegan WL, Spratt JS, eds. Cancer of the breast, 4th edition. Philadelphia. London: W.B.Saunders. 22-42.
- Stacey, S. N., Manolescu, A., Sulem, P., Rafnar, T., Gudmundsson, J., Gudjonsson, S. A., Masson, G., Jakobsdottir, M., Thorlacius, S., Helgason, A., et al.** 2007. Common variants on chromosomes 2q35 and 16q12 confer susceptibility to estrogen receptor-positive breast cancer, *Nat Genet.*, **39**, 865-869.
- Steinberg, F., Zhuang, L., Beyeler, M., Kalin, R. E., Mullis, P. E., Brandli, A. W., Trueb, B.**, 2009. The FGFR1 receptor is shed from cell membranes, binds fibroblast growth factors (FGFs), and antagonizes FGF signaling in *Xenopus* embryos, *J Biol Chem.*, **285**, 2193-202.
- Stephens, P. J., Tarpey, P. S., Davies, H., Van Loo, P., Greenman, C., Wedge, D. C., Nik-Zainal, S., Martin, S., Varela, I., Bignell, G. R., et al.** 2012. The landscape of cancer genes and mutational processes in breast cancer, *Nature.*, **486**, 400-404.
- Storey, A., Thomas, M., Kalita, A., Harwood, C., Gardiol, D., Mantovani, F., Breuer, J., Leigh, I. M., Matlashewski, G., Banks, L.**, 1998. Role of a p53 polymorphism in the development of human papillomavirus-associated cancer, *Nature.*, **393**, 229-34.
- Tapper, W., Hammond, V., Gerty, S., Ennis, S., Simmonds, P., Collins, A.**, Prospective study of Outcomes in Sporadic versus Hereditary breast cancer Steering, G., Eccles, D., 2008. The influence of genetic variation in 30 selected genes on the clinical characteristics of early onset breast cancer, *Breast Cancer Res.*, **10**, R108.
- Tavasoli, F. and Deville, P.**, 2003. WHO classification of tumours, *Tumours of the Breast and Female Genital Tract*, ed.Tavasoli F, Deville P, IARC Pres.
- Teitelbaum, S. L., Britton, J. A., Gammon, M. D., Schoenberg, J. B., Brogan, D. J., Coates, R. J., Daling, J. R., Malone, K. E., Swanson, C. A., Brinton, L. A.,**

2003. Occupation and breast cancer in women 20-44 years of age (United States), *Cancer Cause Control.*, **14**, 627-637.
- Terry, M. B., Zhang, F. F., Kabat, G., Britton, J. A., Teitelbaum, S. L., Neugut, A. I., Gammon, M. D.**, 2006. Lifetime alcohol intake and breast cancer risk, *Ann Epidemiol.*, **16**, 230-240.
- Thomas, M., Kalita, A., Labrecque, S., Pim, D., Banks, L., Matlashewski, G. ,** 1999. Two polymorphic variants of wild-type p53 differ biochemically and biologically, *Mol Cell Biol.*, **19**, 1092-100.
- Tichy, J.R., Lim, E., Anders, C.K.**, 2013. Breast cancer in adolescents and young adults: a review with a focus on biology, *J Natl Compr Canc Netw .*, **11**, 1060-1069.
- Toledo, F., Lee, C. J., Krummel, K. A., Rodewald, L. W., Liu, C. W., Wahl, G. M.**, 2007. Mouse mutants reveal that putative protein interaction sites in the p53 proline-rich domain are dispensable for tumor suppression, *Mol Cell Biol.*, **27**, 1425-32.
- Turner, N., and Grose, R.**, 2010a. Fibroblast growth factor signalling: from development to cancer, *Nat Rev Cancer.*, **10**, 116-29.
- Turner, N., Lambros, M. B., Horlings, H. M., Pearson, A., Sharpe, R., Natrajan, R., Geyer, F. C., van Kouwenhove, M., Kreike, B., Mackay, A., et al.** 2010b. Integrative molecular profiling of triple negative breast cancers identifies amplicon drivers and potential therapeutic targets, *Oncogene.*, **29**, 2013-23.
- Twyman, R.**, 2003. Mutation or polymorphism? [http://genome.wellcome.ac.uk/doc\\_WTD020780.html](http://genome.wellcome.ac.uk/doc_WTD020780.html). 12 Ocak 2017.
- Uhrhammer, N., Abdelouahab, A., Lafarge, L., Feillel, V., Ben-Dib, A., Bignon, Y.J.**, 2008. BRCA1 mutations in Algerian breast cancer patients: high frequency in young, sporadic cases, *Int J Med Sci.*, **5**, 197-202.
- Uren, N., Korak, T., Altınok, D., Ergül, E., Güllüoğlu, B., Şimşek, T., Cantürk, N.Z., Utkan, N.Z., A, Sazci.**, 2016. Tp53 (rs1042522) Polymorphism In Breast Cancer, *J Health Sci KOU.*, **2**, 28-31.
- URL-1**, <http://memesaglik.net/normal-meme-yapisi.asp>. Meme Sağlık. 10 Kasım 2016.
- URL-2**, Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012. International Agency for Research on Cancer [http://globocan.iarc.fr/Pages/burden\\_sel.aspx](http://globocan.iarc.fr/Pages/burden_sel.aspx). 22 Mart 2017.

- URL-3,** <http://www.enginoruc.com/memede-lcis-lobuler-karsinoma-in-situ-nedir-2/> 20 Aralık 2016.
- URL-4,** <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms?cdrid=45674>. 25 Aralık 2016.
- URL-5,** <http://www.caperay.com/blog/index.php/2013/to-treat-or-not-to-treat/> 30 Ocak 2017.
- URL-6,** <http://www.newhealthguide.org/Breast-Cancer-Pictures.html>. 27 Aralık 2016.
- URL-7,** <http://www.curetoday.com/tumor/breast/treatment/cdr0000062787>. 13 Mart 2017.
- URL-8,** <http://www-p53.iarc.fr/> 1 Mart 2017.
- URL-9,** <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/FGFR2#location>. 30 Kasım 2016.
- URL-10,** <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/TP53#location>. 5 Ocak 2017.
- URL-11,** <http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic>. 7 Mart 2017.
- URL-12,** [http://globocan.iarc.fr/Pages/burden\\_sel.aspx](http://globocan.iarc.fr/Pages/burden_sel.aspx). 5 Mart 2017.
- Van de Vijver, M. J., He, Y. D., van 't Veer, L. J., Dai, H., Hart, A. A. M., Voskuil, D. W., Schreiber, G. J., Peterse, J. L., Roberts, C., Marton, M. J., et al.** 2002. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer., *New Engl J Med.*, **347**, 1999-2009.
- Varna, M., Bousquet, G., Plassa, L. F., Bertheau, P., Janin, A.,** 2011. TP53 status and response to treatment in breast cancers, *J Biomed Biotechnol.*, **2011**, 284584.
- Veltmaat, J. M., Relaix, F., Le, L. T., Kratochwil, K., Sala, F. G., van Veelen, W., Rice, R., Spencer-Dene, B., Mailleux, A. A., Rice, D. P., et al.** 2006. Gli3-mediated somitic Fgf10 expression gradients are required for the induction and patterning of mammary epithelium along the embryonic axes, *Development.*, **133**, 2325-35.
- Vogelstein, B.,** 1990. Cancer. A deadly inheritance, *Nature.*, **348**, 681-2.
- Voogd, A. C., Nielsen, M., Peterse, J. L., Blichert-Toft, M., Bartelink, H., Overgaard, M., van Tienhoven, G., Andersen, K. W., Sylvester, R. J., van Dongen, J. A., et al.** 2001. Differences in risk factors for local and distant recurrence after breast-conserving therapy or mastectomy for stage I and II breast cancer: pooled results of two large European randomized trials, *J Clin Oncol.*, **19**, 1688-97.
- Wagner, A.J., Kokontis, J.M., Hay, N.,** 1994. Myc-mediated apoptosis requires wild-type p53 in a manner independent of cell cycle arrest and the ability of p53 to induce p21waf1/cip1. *Genes Dev.*, **8**, 2817–2830.

- Walerych, D., Napoli, M., Collavin, L., Del Sal, G.,** 2012. The rebel angel: mutant p53 as the driving oncogene in breast cancer, *Carcinogenesis.*, **33**, 2007-17.
- Walker, K.K., and Levine, A.J.,** 1996. Identification of a novel p53 functional domain that is necessary for efficient growth suppression, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **93**, 15335–15340.
- Warner, E., Foulkes, W., Goodwin, P., Meschino, W., Blondal, J., Paterson, C., Ozcelik, H., Goss, P., Allingham-Hawkins, D., Hamel, N., et al.** 1999. Prevalence and penetrance of BRCA1 and BRCA2 gene mutations in unselected Ashkenazi Jewish women with breast cancer, *J Natl Cancer Inst.*, **91**, 1241-7.
- Weischer, M., Nordestgaard, B. G., Pharoah, P., Bolla, M. K., Nevanlinna, H., van't Veer, L. J., Garcia-Closas, M., Hopper, J. L., Hall, P., Andrulis, I. L., Devilee, P., et al.** 2012. CHEK2\*1100delC Heterozygosity in Women With Breast Cancer Associated With Early Death, Breast Cancer-Specific Death, and Increased Risk of a Second Breast Cancer, *J Clin Oncol.*, **30**, 4308-4316.
- Whibley, C., Pharoah, P. D., Hollstein, M. ,** 2009. p53 polymorphisms: cancer implications, *Nat Rev Cancer.*, **9**, 95-107.
- Yenidunya, S., Bayrak, R., Haltas, H.,** 2011. Predictive value of pathological and immunohistochemical parameters for axillary lymph node metastasis in breast carcinoma. *Diagn Pathol.*, **6**, 18.
- Young, S. R., Pilarski, R. T., Donenberg, T., Shapiro, C., Hammond, L. S., Miller, J., Brooks, K. A., Cohen, S., Tenenholz, B., Desai, D., Zandvakili, I., Royer, R., Li, S., Narod, S. A.,** 2009. The prevalence of BRCA1 mutations among young women with triple-negative breast cancer, *Bmc Cancer.*, **9**, 86.
- Zhang, X., Ibrahimi, O. A., Olsen, S. K., Umemori, H., Mohammadi, M., Ornitz, D. M.,** 2006. Receptor specificity of the fibroblast growth factor family. The complete mammalian FGF family, *J Biol Chem.*, **281**, 15694-700.

## ÖZGEÇMİŞ

### Irmak İÇEN TAŞKIN

**Doğum Yeri** : Diyarbakır  
**Doğum Tarihi** : 15.12.1985  
**Görevi** : Araştırma Görevlisi  
**İş Adresi** : Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü  
**Tel** : 0 424 237 00 00/3827  
**Fax** : 0 424 233 00 62  
**e-posta** : [iicen@firat.edu.tr](mailto:iicen@firat.edu.tr)  
: [irmak.icen@hotmail.com](mailto:irmak.icen@hotmail.com)  
**2011 -** : Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji  
Anabilim Dalı'nda Doktora Eğitimi.  
**Tez Konusu** : Doğu Ve Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Görülen Erken Yaş Meme  
Kanseri ile *FGFR2* ve *TP53* Tek Nükleotid Polimorfizmleri  
Arasındaki İlişki  
**Danışman** : Prof. Dr. Ömer MUNZUROĞLU,  
Yrd. Doç Dr. Sevgi İRTEGÜN KANDEMİR  
**2010-2011** : Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji  
Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Eğitimi.  
**Tez Konusu** : *Theileria parva*'nın Laktat Dehidrogenaz Enzimini Kodlayan  
Genin İzolasyonu, Klonlanması ve Ekspresyonu  
**Danışman** : Prof. Dr. Ömer MUNZUROĞLU  
**2004-2008** : Dicle Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Eğitimi  
**1999-2003** : Lise Eğitimi  
**1996-1999** : Ortaokul Eğitimi  
**1991-1996** : İlkokul Eğitimi