



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

ERKEN YAŞ MEME KANSERLİ HASTALARDA
CHEK2 GENİNDEKİ GENETİK VARYASYONLARIN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Fuat AKSOY

UZMANLIK TEZİ

BURSA – 2019



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

ERKEN YAŞ MEME KANSERLİ HASTALARDA
CHEK2 GENİNDEKİ GENETİK VARYASYONLARIN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Fuat AKSOY

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Mustafa Şehsuvar GÖKGÖZ

BURSA - 2019

İÇİNDEKİLER

Özet.....	iii
Summary.....	iv
GİRİŞ.....	1
Genel Bilgiler.....	3
Meme Kanseri Tedavisinin Geçmişi, Bugünü ve Geleceği.....	3
Meme Kanserinin Sınıflandırılması.....	5
WHO 2012'ye Göre Meme Kanserinin Histolojik Sınıflandırılması.....	9
Meme Kanserinin Oluşumunda Rol Oynayan Genetik Faktörler.....	11
Ailesel ve/veya Erken Yaş Meme Kanserinin Moleküler Mekanizması.....	11
Hücre Döngüsü'nün Kontrolü, DNA Tamir Mekanizmaları.....	11
<i>CHEK2</i>	13
Heterodupleks Analizi (HDA).....	14
DNA Dizi Analizi.....	14
GEREÇ VE YÖNTEM.....	18
Gereç.....	18
Kullanılan Aletler.....	18
Kullanılan Kimyasal Malzemeler.....	19
Yöntem.....	20
Hasta Seçimi.....	20
Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	20
Heterodupleks Analizi.....	21
DNA Dizi Analizi.....	23
İstatistiksel Analiz.....	25
BULGULAR.....	26

Hasta Grubu ve Klinik Özellikler.....	26
TARTIŞMA VE SONUÇ.....	30
KAYNAKLAR.....	36
TEŞEKKÜR.....	38
ÖZGEÇMİŞ.....	39

ÖZET

BRCA1/2 gen mutasyonlarının meme kanseri riskini arttırdığı uzun süredir bilinmekte olup, meme kanseri hastalarının rutin BRCA taramalarında bu genlerin protein kodlayan bölgeleri ve intron-ekzon sınırlarındaki genetik değişimler araştırılmaktadır. Son dönemde gerçekleştirilen çalışmalar, genlerin 3' transle olmayan bölgelerindeki (3'UTR) polimorfizmlerin mikroRNA (miRNA) bağlanma fonksiyonunu etkilediklerini ve hastalarda kanser gelişimi riskinin belirlenmesinde değerlendirilebilecek genetik belirteçler olabileceklerini ortaya koymuştur. Bu nedenle çalışmamızda, ailesel / erken yaş meme kanseri hastalarında, *BRCA1/2* genlerinin 3'UTR 'sindeki risk faktörü olabilecek genetik değişimleri belirlemeyi amaçladık.

46 *BRCA1/2* mutasyonu taşıyan ve 54 *BRCA1/2* mutasyonu taşımayan toplam 100 ailesel / erken yaş meme kanseri hastası ve 47 kontrolde *BRCA1* ve *BRCA2* genlerinin 3'UTR' leri heterodupleks ve DNA dizi analizleri ile tarandı. Hastaların % 27' sinin *BRCA1* geninde c.*1287C>T (rs12516), ve hastaların % 24' ünün *BRCA2* geninde c.*105A>C (rs15869) polimorfizleri belirlendi. Ayrıca, gerçekleştirilen Fisher's Exact Test' i ile hastalarda *BRCA1* mutasyonu ile 3'UTR bölgesindeki c.*1287C>T (rs12516) polimorfizminin anlamlı bir sıklıkla birlikte görüldüğü saptandı ($p=0.035$).

Bulgularımız *BRCA1* geni 3'UTR 'sindeki c.*1287C>T (rs12516) polimorfizminin meme kanseri gelişme riskinin belirlenmesinde genetik bir belirteç olma potansiyelini ve *BRCA1* geninin kodlanmayan bölgelerindeki genetik varyasyonların bu genin fonksiyonunu etkileyerek ailesel / erken yaş meme kanseri gelişme riskini arttırabileceğini destekler niteliktedir.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri- *BRCA1* - *BRCA2* - 3'UTR - SNP – erken yaş – Türkiye

SUMMARY

The evaluation of CHEK2 mutation gene in early onset breast cancer patients

Mutations in the *BRCA1/BRCA2* gene confer a substantial increase in breast cancer risk, yet routine clinical genetic screening is limited to the coding regions and intron-exon boundaries, precluding the identification of mutations in noncoding and untranslated regions. Because 3' untranslated region (3'UTR) polymorphisms disrupting microRNA (miRNA) binding can be functional and can act as genetic markers of cancer risk, we aimed to determine genetic variation in the 3'UTR of *BRCA1/BRCA2* in familial and early-onset breast cancer patients with and without mutations in the coding regions of *BRCA1/BRCA2* and to identify specific 3'UTR variants that may be risk factors for cancer development.

The 3'UTRs of the *BRCA1* and *BRCA2* genes were screened by heteroduplex analysis and DNA sequencing in 100 patients from 46 *BRCA1/2* families, 54 non-*BRCA1/2* families, and 47 geographically matched controls. SNPs c.*1287C>T (rs12516) (*BRCA1*) and c.*105A>C (rs15869) (*BRCA2*) were identified in 27% and 24% of patients, respectively. These 2 variants were also identified in controls with no family history of cancer (23.4% and 23.4%, respectively). In addition, there was a statistically significant relationship between the *BRCA1* gene polymorphism c.*1287C>T (rs12516) and *BRCA1* mutations ($p=0.035$) by Fisher's Exact Test.

We suggest that, SNP c.*1287C>T (rs12516) of the *BRCA1* gene may have potential use as a genetic marker of an increased risk of developing breast cancer and likely represents a non-coding sequence variation in *BRCA1* that impacts *BRCA1* function and leads to increased familial and/or early-onset breast cancer risk in the Turkish population.

Key Words: Breast cancer - *BRCA1* - *BRCA2* - 3'UTR - SNP - early onset - Turkey

GİRİŞ

Meme kanserleri kadınlarda en sık rastlanılan tümör tipi olup dünya genelinde kansere bağlı ölümlerde ön sıralarda yer almaktadır (1). Gelişmiş ülkelerde 8 kadından 1'inde (% 12) bu kansere rastlanılmaktadır (2). Meme kanserinin % 5 – 10' unundan genetik değişimler sorumlu olduğu bilinmektedir.

17q12-21'da yer alan *BRCA1* ve kromozom 13q12-13'te yer alan *BRCA2* genlerindeki kalıtsal mutasyonlar meme kanserleri ile ilişkilendirilen temel genetik değişimlerdir (4, 5). Bu genlerdeki mutasyonlar tüm meme kanserlerinin % 2 – 3' ünün ve ailesel meme kanserlerinin % 30 – 40' ının oluşumundan sorumludurlar (6, 7). *BRCA1* ve *BRCA2* mutasyonlarının belirlenmesi ailede meme ve yumurtalık kanserlerine yatkınlığı ortaya koymakta ve henüz tanı almamış bireylerde erken teşhise olanak sağlamaktadır (8). Ayrıca bu genlerdeki belirli mutasyonlar hastalığın seyri konusunda da öngörü oluşturmaktadır. Bu nedenle meme tümörlerinde *BRCA1* ve *BRCA2* mutasyonları tedavi stratejilerinin planlanmasında da yararlı olmaktadır (9).

Bugüne kadar Türk toplumunda yapılan *BRCA1/2* genlerinin kodlanan bölgelerindeki mutasyon analizlerinin farklı hasta seçim kriterleri ve farklı mutasyon tarama yöntemlerinin kullanılarak gerçekleştirildiği çalışmalarda, yaklaşık 650 hasta değerlendirilmiştir. Bu çalışmaların bazılarında *BRCA1/2* genlerinin bazı ekzonları; bazılarında ise bu genlerin kodlayan bölgelerinin tamamı taranmış olup; 30'un üzerinde farklı çerçeve kayması mutasyonu, 28 farklı yeni varyant ile çok sayıda sessiz polimorfizm saptanmıştır (13-20). Bu grup içerisinde yer alan; mevcut proje ekibinin gerçekleştirdiği çalışmada ise, meme/over kanser hikayesi olan 38 aileden toplam 87 vakanın *BRCA1/2* genlerinin kodlanan tüm ekzonları taranmıştır. İlgili çalışmamızda 4'ü yeni, 2'si önceden raporlanmış toplam 6 mutasyon saptanmıştır (21). Diğer çalışmamızda ise, 117 vakada *BRCA1/2* genlerinde 4 frame-shift mutasyon, 4 patojenik missense mutasyon ve 25 farklı varyasyon tespit edilmiştir (22). Ancak 95 hastada herhangi bir mutasyon belirlenememiştir.

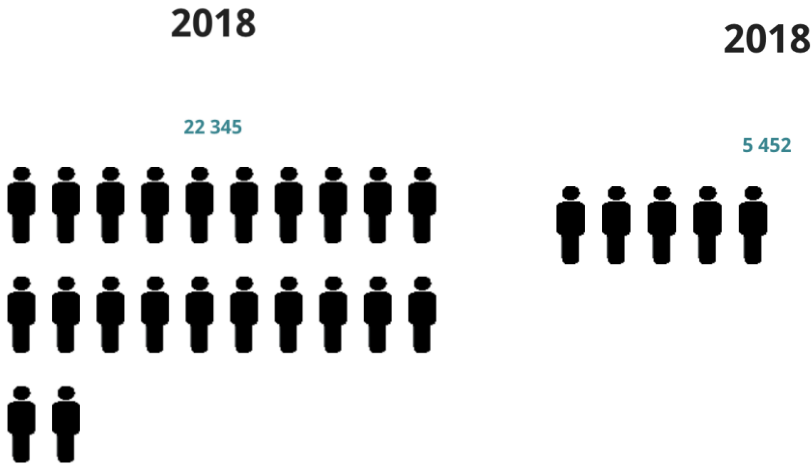
Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda *ATM*, *PALB2*, *BRIP1* ve *CHEK2* genlerin de bulunan germline mutasyonların ailesel meme kanserine yatkınlıkta etkili olabileceği öngörülmektedir (23-26).

Bu kapsamda, planlanan çalışmada erken yaş ve/veya ailesinde meme/over kanseri öyküsü olan ve *BRCA1/2* genlerinde mutasyon belirlenmeyen toplam 95 meme kanseri hastasında *CHEK2* geninin tüm ekzonları taranarak Türk popülasyonunda *CHEK2* genindeki varyasyonların belirlenmesi hedeflenmektedir. Bugüne kadar Türk popülasyonunda *BRCA1/2* genlerinde çeşitli mutasyonlar saptanmış olmasına rağmen, *CHEK2* geninde tüm ekzonzlarda varyasyonların araştırıldığı herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu bağlamda, planlanan alışma Türk popülasyonu için özgün sonuçların ilk kez derlenmesine olanak sağlayacaktır.

Genel Bilgiler

Meme kanseri tüm Dünya’da kadınlar arasında en sık görülen malignansi olup her yıl 2,1 milyon kadını etkilemektedir. Bu kanser kadınlar arasında kansere bağlı ölümlerin başında gelmektedir. Dünya sağlık örgütü 2018 verilerine göre her yıl ortalama 627.000 kadının meme kanserinden öldüğü tahmin edilmektedir. Bu rakam kadınlar arasındaki tüm kanser ölümlerinin yaklaşık % 15’idir. Meme kanseri oranları daha gelişmiş bölgelerdeki kadınlar arasında daha yüksek olmakla birlikte, küresel olarak hemen hemen her bölgede oranlar artmaktadır (8),(Şekil-1).

2018 yılı itibari ile Türkiye’de meme kanser vakası 22345’ye ulaşmış, bu kanserden ölenler ise 5452 olarak raporlanmıştır (9).



Şekil-1: Dünya sağlık örgütüne göre 2018 yılı Türkiye’de meme kanser vaka sayısı (9).

Meme Kanseri Tedavisinin Geçmişi, Bugünü ve Geleceği

Meme kanseri MÖ 16. yüzyıldan beri bilinmekte olup, bu hastalık ilk kez Edwin Smith’in cerrahi papirüsünde, erkek bir meme kanseri hastadan bahsedilerek

tüm klinik özellikleri ile tarif edilmekte ancak bu hastalık için bir tedavi yönteminin bulunmadığı ifade edilmektedir. Daha ileriki yıllarda en önemli cerrahlardan biri olan Leoniden (MS100) tarafından ilk meme kanseri mastektomisi gerçekleştirilmiştir. Gladyatörlerin başhekimisi ve Roma İmparatorlu saray hekimisi olarak tanınan Galen (MS 129) ise, memede yengece benzer bir tümörü tanımlamış ve bu hastalık için sonraki yüzyıllar boyunca kaynak olarak kullanılan tedavi yaklaşımlarından bahsetmiştir. Ayrıca, ilk kez 1757 yılında Fransız hekim Henri François Le Dran tarafından, meme kanserinin lokal bir hastalık olarak başladığı, ilerledikçe koltuk altı lenf bezlerine ve buradan da yayılarak genel dolaşıma geçerek uzak organlara yayıldığı ifade edilmiş ve 1894' te, Amerikalı cerrah William Stewart Halsted tarafından ilk mastektomi yapılarak, 50 vakalık radikal mastektomi serisi ile meme cerrahisinin temeli atılmıştır. 1970' li yıllara gelindiğinde ise Fisher ve arkadaşlarının meme kanseri ile ilgili olarak ortaya attığı sistemik hastalık hipotezi kabul görmeye başlamıştır (22).

Günümüze kadar geçen zaman zarfında birçok kanser türü ile ilgili bilgilerimiz artmış, cerrahi tedavi, radyoterapi ve kemoterapide sağlanan başarıda önemli artış sağlanmıştır (21). Bununla birlikte, bugüne kadar meme kanserinin etiyojisi, gelişimi, tanı ve tedavi yaklaşımları açısından sahip olunan bilgi birikimi diğer birçok kanser türü ile ilgili bilgilerimizden daha fazladır (21). Bu bilgi birikiminin klinik uygulamalara yansması 2 ana başlıkta açıklanabilmektedir.

İlk olarak son dönemde meme kanserleri de dahil olmak üzere birçok kanser türü ile ilgili olarak gerçekleştirilen araştırmalar sonucunda geliştirilen kişiye özel tedavi yaklaşımları, kullanılan konvansiyonel kemoterapi ajanlarına ciddi bir alternatif oluşturmaktadır (23, 24). Güncel meme kanseri tedavisinde kullanımının yaygınlaşması ile klinik uygulama önemli yer edinen bu yaklaşım sayesinde, hastaların tedavi komplikasyonlarında azalma gözlenirken, sağkalım oranlarında artış olduğu ve uygulanan tedavi maliyetlerinin azaldığı görülmektedir (25). Bu nedenle, meme kanserinin oluşumunda ve gelişiminde rol oynayan genlerin ve bu genlerin rol oynadığı moleküller sinyal yollarının aydınlatılmasına yönelik olarak gerçekleştirilen araştırmaların, bu hastalığın kişiye özgü tedavi yaklaşımları ile tedavisinde sağlanan başarıyı arttıracığına inanılmaktadır (25).

İkinci olarak, meme kanseri hastalarında gerçekleştirilen genetik analizler sonucunda, bu hastaların %10' luk bir kısmının kalıtsal özellik taşıdığı, %25' inin ise

genç yaşta ortaya çıktığı belirlenmiştir (3). Özellikle hastalığın ailesel olarak kalıtıldığı saptanan hastalarda genetik araştırmaların yapılması hasta için uygun tedavi yaklaşımının belirlenmesi ve sonraki nesildeki bireylerin hastalık riskinin ortaya konması açısından önem taşımaktadır (26).

Her ne kadar mevcut gelişmelerle meme kanserinin tedavisinde sağlanan başarıda ilerleme kaydedilmiş olsa da, günümüzde bu hastalık halen kadınlarda en sık rastlanan ve ölüm oranı yüksek olan bir kanser türüdür. Bu nedenle, bu hastalığın daha iyi anlaşılmasına ve tanı ve tedavisindeki başarıyı arttıracak yöntemlerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Meme Kanserinin Sınıflandırılması

Meme kanserinin sınıflandırılmasında histopatolojik yöntemlere dayanan Tümör-Nod(lenf)-metastaz (TNM) evreleme sistemi kullanılmaktadır.

Patolojik ve klinik sınıflamalarda primer tümör aynı şekilde tanımlanmaktadır. Tümör boyutu ölçümü fizik muayene ile yapıldıysa, sınıflamada T1, T2 veya T3 ana grupları, mamografik veya patolojik olarak yapıldıysa T1' in alt grupları kullanılmaktadır. Primer tümöre yapılan sınıflandırma aşağıdaki gibidir.

- TX : Primer tümör saptanamamaktadır
- T0 : Primer tümör yok
- Tis : Karsinoma in situ
- Tis(DCIS) : Duktal karsinoma in situ
- Tis(LCIS) : Lobuler karsinoma in situ
- Tis (Paget): Meme başının kitlesiz Paget hastalığı (Tümör olan Paget hastalığında sınıflama, tümörün boyutuna göre dir.)
- T1 : Tümörün en büyük boyutu 2 cm veya daha az
- T1mic : En büyük boyutu 0.1 cm veya daha az olan mikroinvazyon,
- T1a : En büyük boyutu 0.1 cm.den büyük olan ancak 0.5 cm.yi geçmeyen tümör
- T1b : En büyük boyutu 0.5 cm.den büyük olan ancak 1 cm.yi geçmeyen tümör

- T1c : En büyük boyutu 1 cm.den büyük olan ancak 2 cm.yi geçmeyen tümör
- T2 : En büyük boyutu 2 cm.den büyük olan ancak 5 cm.yi geçmeyen tümör
- T3 : En büyük boyutu 5 cm.den büyük olan tümör
- T4 : Herhangi bir boyutta ancak (a) göğüs duvarına veya (b) cilde direkt yayılım mevcut
- T4a : Pektoral kasa ulaşmamış göğüs duvarı yayılımı
- T4b : Meme cildinde ödem (peau d'orange da dahil) veya ülserasyon, veya aynı memede satellit deri nodülleri T4c T4a ve T4b birlikte
- T4d : Enflamatuvar karsinom

Bölgesel Lenf Nodülleri (N)

Klinik Sınıflama:

- NX : Bölgesel lenf nodları saptanamamaktadır (örn. daha önce çıkartılmış)
- N0 : Bölgesel lenf nodu metastazı yok
- N1 : İpsilateral lenf nod(lar)ında metastaz (fikse değil)
- N2 : Fikse veya gruplaşmış ipsilateral aksiller lenf nodlarında metastaz veya klinik olarak belirgin (aksiller lenf nodu metastazı olmadığı durumlarda klinik olarak belirgin ipsilateral internal mammaryal nodlarında metastaz)
- N2a : Birbirlerine veya çevre dokulara fikse ipsilateral aksiller lenf nodlarında metastaz
- N2b : Sadece klinik olarak aksiller lenf nodu metastazı olmadığı klinik olarak belirgin (ipsilateral internal mammaryal nodlarda metastaz olduğunda)
- N3 : Aksiller lenf nodu tutulumu olsun ya da olmasın ipsilateral infraklavikular lenf nod(ları) metastazı veya klinik olarak belirgin (ipsilateral internal mammaryal lenf nod(ları) metastazı ile birlikte klinik olarak belirgin aksiller lenf nodu metastazı; veya aksiller ya da internal mammaryal lenf nodu metastazı olsun ya da olmasın ipsilateral supraklavikular lenf nod(ları) metastazı
- N3a : İpsilateral infraklavikular lenf nod(lar)ında metastaz
- N3b : İpsilateral internal mammaryal lenf nod(lar)ında veya aksiller lenf nod(lar)ında metastaz

- N3c : İpsilateral supraklaviküler lenf nod(ları)nda metastaz

Patolojik Sınıflama (pN)a:

Patolojik Sınıflama sentinel lenf nodu diseksiyonu uygulanan veya uygulanmayan aksiller lenf nodu diseksiyonuna göre yapılmaktadır. Aksiller lenf nodu diseksiyonu uygulanmayan, sentinel lenf nodu (sn) diseksiyonuna dayalı olarak yapılan sınıflamada, sn belirtilmektedir. Örn ; pN0(i+)(sn). Bu doğrultuda gerçekleştirilen sınıflandırmaya göre;

- pNX : Bölgesel lenf nodları saptanamamakta (örn. patolojik inceleme için daha önce çıkartılmış veya çıkartılmamış)
- pN0 : Histolojik olarak bölgesel lenf nodu metastazı olmayan, izole tümör hücreleri(ITH) için ek inceleme yok
- pN0(i-) : Histolojik bölgesel lenf nodu metastazı yok, negatif IHK
- pN0(i+) : Histolojik bölgesel lenf nodu metastazı yok, pozitif IHK, 0.2 mm.den geniş IHK kümesi yok
- pN0(mol -): Histolojik bölgesel lenf nodu metastazı yok, negatif moleküler bulgular (RT-PCR)b
- pN0(mol+): Histolojik bölgesel lenf nodu metastazı yok, pozitif moleküler bulgular (RT-PCR)b
- pN1 : 1-3 arası aksiller lenf nodlarında, ve/veya internal mammaryal nodlarda sentinel lenf nodu diseksiyonu ile saptanan mikroskopik hastalıkla birlikte metastaz, fakat klinik olarak belirgin değil
- pN1mi : Mikrometastaz (0.2 mm.den geniş, 2.0 mm.den geniş değil)
- pN1a : 1-3 adet aksiller lenf nodunda metastaz
- pN1b : Sentinel lenf nodu diseksiyonu ile internal mammaryal nodlarda mikroskopik hastalık olarak saptanan metastaz, fakat klinik olarak belirgin değil
- pN1c : 1-3 adet aksiller lenf nodunda ve internal mammaryal nodlarda sentinel lenf nodu diseksiyonu ile mikroskopik olarak saptanan metastaz, fakat klinik olarak belirgin değil .
- pN2 : 4-9 aksiller lenf nodunda metastaz, veya aksiller lenf nodu metastazı olmadığında internal mammaryal lenf nodlarında klinik olarak belirgin metastaz

- pN2a : 4-9 aksiller lenf nodunda metastaz (2.0 mm.den büyük en az bir tümör odağı)
- pN2b : Aksiller lenf nodu metastazı yokken, internal mammaryal lenf nodlarında klinik olarak belirgin metastaz
- pN3 : 10 veya daha fazla aksiller lenf nodunda, veya infraklaviküler lenf nodlarında, veya 1 ya da daha fazla aksiller lenf nodu pozitif olduğunda klinik olarak belirgin ipsilateral internal mammaryal lenf nodlarında metastaz; veya internal mammaryal lenf nodlarında klinik olarak negatif mikroskopik metastazla birlikte 3' ten daha fazla aksiller lenf nodunda metastaz; veya ipsilateral supraklaviküler lenf nodlarında metastaz
- pN3a : 10 veya daha fazla aksiller lenf nodunda metastaz (2.0 mm.den büyük en az bir tümör odağı), veya infraklaviküler lenf nodlarına metastaz
- pN3b : 1 veya daha fazla pozitif aksiller lenf nodu varlığında klinik olarak belirgin ipsilateral internal mammaryal lenf nodu metastazı; veya sentinel lenf nodu diseksiyonuyla saptanan fakat klinik olarak belirgin olmayan mikroskopik hastalıkla birlikte 3 veya daha fazla aksiller lenf nodunda veya internal mammaryal lenf nodlarında metastaz.
- pN3c : İpsilateral supraklaviküler lenf nodlarında metastaz

Uzak Metastaz (M):

- MX : Uzak metastaz bulunamıyor
- M0 : Uzak metastaz yok
- M1 : Uzak metastaz var (Tümörün olduğu tarafta supraklaviküler lenf nodları ve karşı memenin bölgesel lenf nodlarına metastazlar dahil)

Histopatolojik Grade(G):

Meduller karsinom dışında, invaziv lobuler ve müsinöz karsinomlar da dahil olmak üzere tüm invaziv meme kanserleri derecelendirilmektedir.

- Gx : Değerlendirilemiyor
- G1 : İyi diferansiye
- G2 : Orta derecede diferansiye

- G3 : Kötü Diferansiye
- G4 : İndiferansiye

Rezidüel Tümör (R):

Hastada küratif amaçlı tedaviden sonra kalan tümör (örn. Kür için cerrahi rezeksiyon) R sınıflaması adı altında bir sistemle sınıflanmaktadır.

- RX : Rezidü tümör varlığı gösterilememektedir
- R0 : Rezidü tümör yok
- R1 : Mikroskopik rezidü tümör
- R2 : Makroskopik rezidü tümör

WHO 2012' ye Göre Meme Kanserinin Histolojik Sınıflandırılması

WHO' nun 2012' de yayınladığı meme kanseri sınıflandırması aşağıda belirtildiği gibidir (18).

- Epitelyal Tümörler
 - o Mikroinvazif Karsinoma
- İnvazif Meme Kanseri
 - o Non-spesifik tip invazif karsinoma
 - Pleomorfik karsinom
 - Osteoklast benzeri stromal dev hücreli karsinoma
 - Koryokarsinomatöz özellikli karsinoma
 - Melanotik özellikli karsinoma
- İnvazif Lobüler Karsinoma
 - o Klasik lobüler karsinoma
 - o Solid lobüler karsinoma
 - o Alveolar lobüler karsinoma
 - o Pleomorfik lobüler karsinoma
 - o Tubulolobüler karsinoma
 - o Mix lobuler karsinoma

- Tübüler karsinoma
- Kribriform Karsinoma
- Müsinöz karsinoma
- Medüller özellikli karsinoma
 - o Medüller karsinoma
 - o Atipik medüller karsinoma
 - o Medüller özellikli Non-spesifik tip invazif karsinoma
- Apokrin diferansiyasyonlu karsinoma
- Taşlı yüzük diferansiyasyonlu karsinoma
- İnvazif mikropapiller karsinoma
- Non-spesifik tip metaplastik karsinoma
- Nadir tipler
- Epitelyal-myoepitelyal tümörler
 - o Pleomorfik adenom
 - o Adenomyoepitelyoma
 - o Adenoid kistik karsinom
- Prekürsör lezyonlar
 - o Duktal karsinoma in situ
 - o Lobüler neoplazi
 - Lobüler karsinoma in situ
 - Atipik lobüler hiperplazi
- İntraduktal proliferatif lezyonlar
- Papiller lezyonlar
- Benign epitelyal proliferasyonlar
- Mezenkimal Tümörler
- Fibroepitelyal tümörler
- Nipple tümörleri
- Malign lenfoma
- Metastatik tümörler

Meme Kanserinin Oluşumunda Rol Oynayan Genetik Faktörler

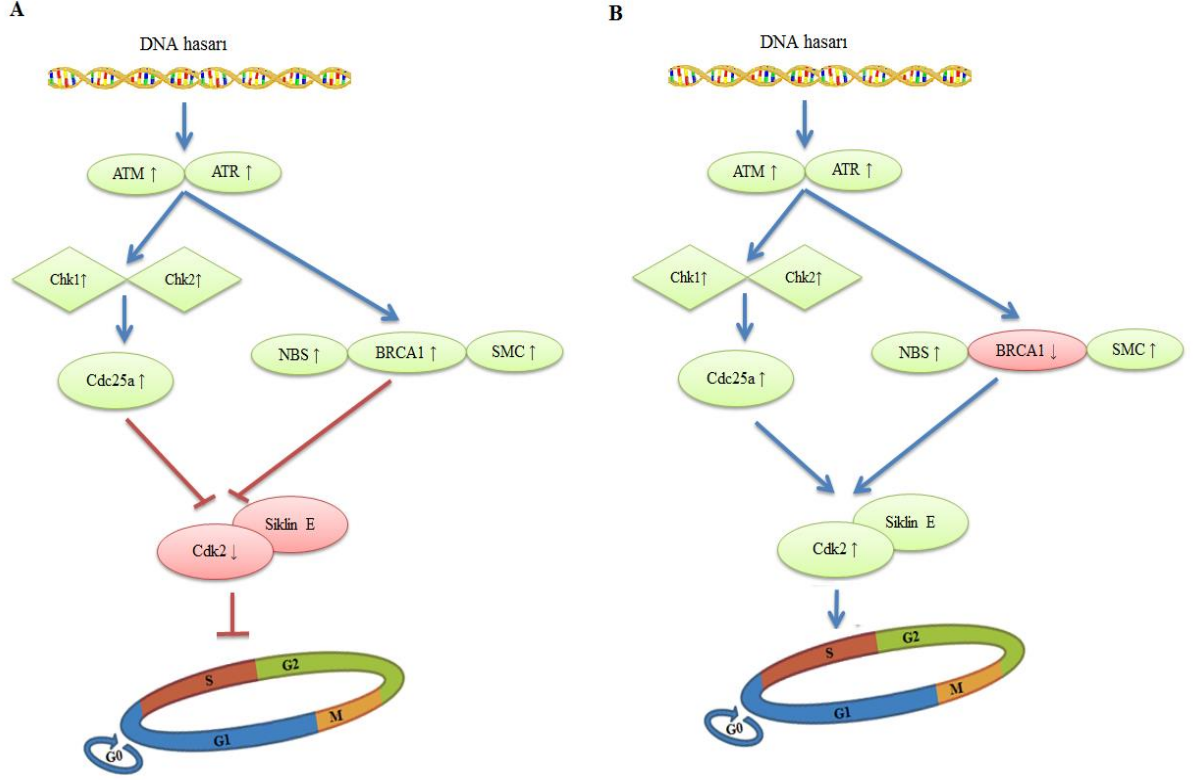
Meme kanseri, hücre çoğalması ve gelişiminde rol oynayan sinyal yollarında çok adımlı olarak gerçekleşen genetik değişimler sonucunda ortaya çıkmaktadır. Meme kanseri oluşumunda rol oynadığı belirlenen en önemli genetik değişimler, Ras-Raf-MAP Kinaz, PI3K-Akt ve JAK-STAT sinyal yollarında iş gören proto-onkogenlerin onkogenlere dönüşmesi, steroid hormon reseptörlerinin aşırı ekspresyonu ve *TP53*, *PTEN*, *FHIT* ve *RBI* gibi tümör baskılayıcı genlerin sessizleşmesidir (48). Bu genetik değişimler sporadik olarak tümör dokusundaki kanser hücrelerinde gözlemlenebildiği gibi, yaklaşık % 5– 10 oranında gözlenen ailesel meme kanserlerinde, germ hücrelerinde de gözlenebilmektedir (48). Bununla birlikte ailesel meme kanserlerinin büyük bir çoğunluğu DNA tamir mekanizmasında rol oynayan genlerin ifadesinde meydana gelen değişikliklerden kaynaklanmakta olup sporadik meme kanserinden morfolojik, immünofenotipik ve moleküler özellikleri açısından farklılıklar göstermektedirler (49, 50).

Ailesel ve/veya Erken Yaş Meme Kanserinin Moleküler Mekanizması

Hücre Döngüsü'nün Kontrolü, DNA Tamir Mekanizmaları

Hücre bölünmesi sırasında DNA' nın yavru hücrelere hasarsız olarak aktarılabilmesi için, hücreler, DNA' da oluşan hasarları tanıyıp onarımını sağlayan enzim sistemlerine sahiptirler. Hücre döngüsünün sağlıklı bir şekilde ilerlemesi, bir basamağın başlamasından önce, bir önceki basamağın tamamlandığını kontrol eden denetim noktaları tarafından denetlenerek sağlanmaktadır. Hücre döngüsü kontrol noktalarının herhangi birinde DNA' da bir hasar saptanırsa hücre döngüsü durdurulmakta, böylece DNA tamiri için gerekli süre sağlanmakta ve DNA onarım enzimlerinin sentezi arttırılmaktadır. Hücre döngüsü kontrol noktalarında, DNA hasarını tanımaktan sorumlu olan enzimler, Ataxia Telangiectasia Mutated (ATM) ve Atm and Rad-3 Related (ATR) proteinleridir. ATM özellikle iyonize radyasyona maruziyet sonucu oluşan çift

zincir kırıklarının tanınırken, ATR, çift zincir kırıklarının tanınmasında destekleyici rol üstlenmenin yanı sıra UV hasarları sonucunda DNA tıpkıyapımının durmasına yol açan hasarları tanımaktadır. Hücrelerin büyük bir kısmı birisi geç G1' de ve diğeri geç G2' de olmak üzere en az 2 denetim noktasına sahiptir. Geç G1' de bulunan denetim noktası hücrenin S evresine girişini durdururken, geç G2' de bulunan denetim noktası hücrenin mitoz girişini önlemektedir (27). Ayrıca, daha az araştırılmış olmakla birlikte hücreler, kızılötesi ışınlar (IR) tarafından indüklenen DNA hasarları tarafından S evresi kontrol noktasında da durdurulabilmektedir. S evresi kontrol noktası ATM proteini tarafından aktiflenen 2 farklı sinyal yoluğarı tarafından susturulabilmektedir. İlk yolakta ATM Chk2'nin aktiflenmesini sağlamakta ve Cdc25a aracılığı ile Cdk2/Cyclin E kompleksinin susturulmasını ve hücre döngüsünün S evresinde durdurulmasını sağlamaktadır (52). İkinci yolakta ise, ATM, Cdc25A' dan bağımsız olarak Nibrin (NBS1), Breast Cancer 1 (BRCA1) ve Structural Maintenance of Chromosomes 1A (SMC1) proteinlerini aktifleyerek hücre döngüsünü S evresinde durdurmaktadır. Bu proteinleri kodlayan genlerin herhangi birinde meydana gelen mutasyonlar, S evresi kontrol noktasının etkisi hale gelmesine yol açarak kanserleşmeye sebep olmaktadır (23, Şekil-2).



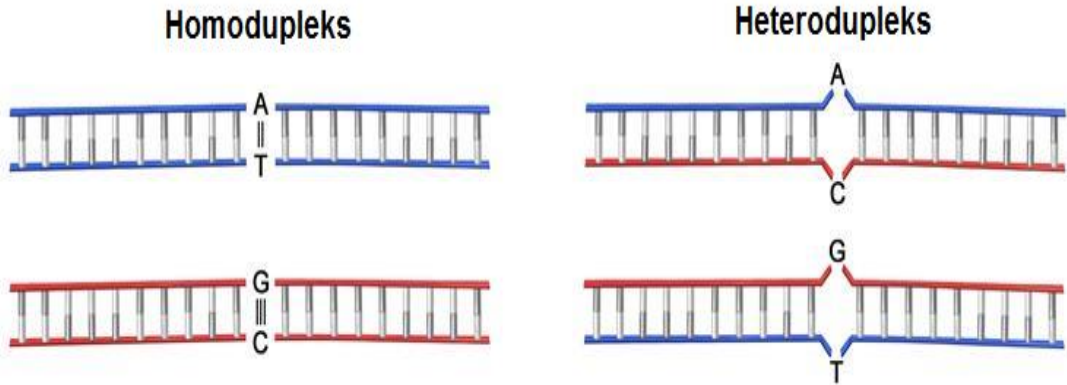
Şekil-2: *BRCA1*' in hücre döngüsü kontrolündeki rolü. **A:** *BRCA1*' in hücre döngüsünü S evresinde durdurması **B:** *BRCA1* mutasyonu sonucu hücre döngüsü kontrolünün önlenmesi.

CHEK2 Geni

Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda *ATM*, *PALB2*, *BRIP1* ve *CHEK2* genlerin de bulunan germline mutasyonların ailesel meme kanserine yatkınlıkta etkili olabileceği öngörülmektedir (23-26). Bu genlerden biri olan *CHEK2* geni, DNA tamirinde önemli rol oynayan ve DNA'da meydana gelen çift zincir kırıklarında ATM proteini tarafından aktive olan bir serin-treonin kinazdır. *CHEK2* hem DNA tamirinde *BRCA* genlerinin fonksiyonunu düzenler hem de G2 kontrol noktasında hücre döngüsünün ve apoptozun kontrolünde görev alan tümör süpresör bir genidir (34-36).

Heterodupleks Analizi (HDA)

DNA’ da bir mutasyon olduğunda, hatalı eşleşmiş olan DNA iplikleri, normal bir DNA’ nın sahip olduğu homodupleks yapısından farklı olarak, heterodupleks bir yapı oluşturmaktadır (Şekil-3). Heterodupleks analizi, jel matrisinde heterodupleks DNA moleküllerinin homodupleks yapıdaki DNA moleküllerinden daha farklı göç etmesi esasına dayanmaktadır. Yöntem, DNA örneklerinin yüksek sıcaklıkta denatüre edildikten hemen sonra renatüre edilmesi ile gerçekleştirilmektedir. Renatürasyon sırasında mutant DNA ipliği ile yabancı DNA ipliklerinin hibridize olması sonucunda, mutasyon noktasında yanlış eşleşme yapmış bir baz çifti bulunmakta ve bu da heterodupleks yapının oluşmasına sebep olmaktadır. Bu teknik ile, delesyon, insersiyon tipi mutasyonların tespitinde %100’ e yakın başarı sağlanabilirken, nokta mutasyonların tespitinin % 80 – 85 hassasiyetle gerçekleştiği bildirilmiştir (37).

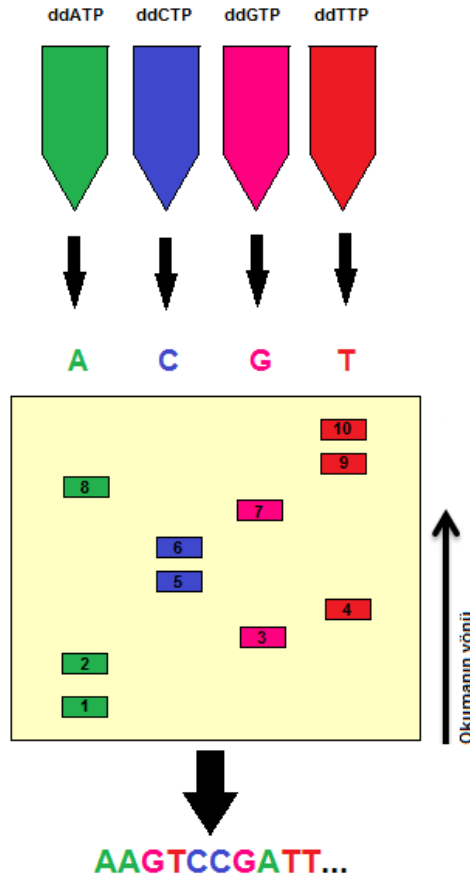


Şekil-3: DNA’ nın poliakrilamid jel elektroforezindeki homodupleks yapısı ve mutasyon varlığında oluşan heterodupleks yapısı.

DNA Dizi Analizi

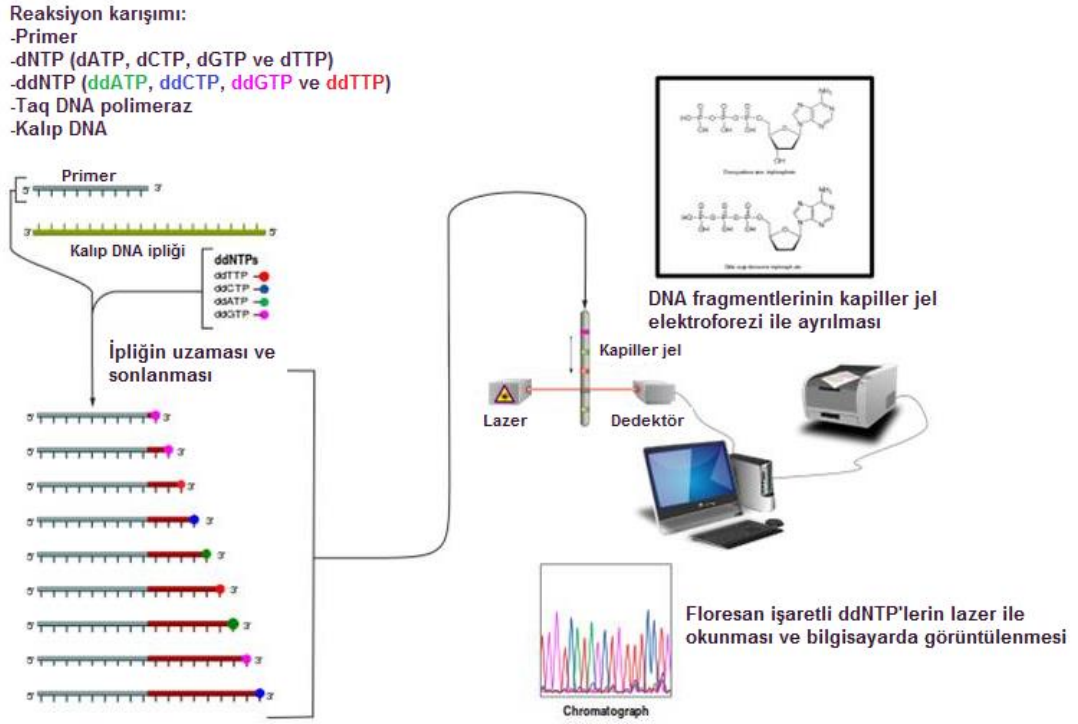
DNA dizi analizi yöntemi ilk kez 1970’ li yıllarda Maxam ve Gilbert tarafından, DNA’ nın kimyasal modifikasyonu ve ardından spesifik bazlardan kesilmesi esasına dayalı olarak geliştirilmiştir. 1977 yılında ise Sanger ve arkadaşları, günümüzde halen kullanılmakta olan enzimatik DNA dizi analiz yöntemini geliştirmişlerdir (86).

Bu yöntemde dizisi saptanacak olan DNA ipliği yeni sentezlenecek iplik için kalıp olarak kullanılmakta ve Taq DNA polimeraz vb bir enzim ile DNA sentezi gerçekleştirilmektedir. Ancak polimeraz zincir reaksiyonunda gerçekleştirilen DNA sentezinden farklı olarak, bu reaksiyonda Taq DNA polimeraz, yeni ipliğin uzamasını gerçekleştirirken, reaksiyon ortamında serbest halde bulunan deoksiribonükleozit trifosfat (dNTP)'lerin yanısıra, deoksiribozun 3' pozisyonunda OH grubu taşımayan dedideoksiribonükleozit trifosfat (ddNTP)'leri de eşlenik ipliğe eklemektedir. ddNTP'lerin 3' pozisyonunda OH grubu bulunmadığından, Taq DNA polimeraz, sentez sırasında ipliğe bağlanan bir ddNTP'nin arkasına başka bir dNTP'yi bağlayamamakta ve bu nedenle eşlenik ipliğin sentezi bu noktada durmaktadır. Sanger'ın yöntemi ile DNA dizi analizi gerçekleştirilirken, dedioksiadenin, dedioksiguanin, dedioksisitozin ve dedioksitimin'in her biri farklı bir tüpte olacak şekilde, dört ayrı tüpte reaksiyon gerçekleştirilmektedir. Bu dört tüpün her biri ortak olarak sekanslanacak gen bölgesine ait bir primeri, dört dNTP'nin her birini ve analizin gerçekleştirileceği kalıp DNA'yı da içermektedir. Reaksiyon tüplerinin her birinde, DNA sentezinin her bir tekrarında, reaksiyon rastgele bir ddNTP'de sonlanmakta ve farklı uzunluklarda, tek iplikli DNA fragmentleri oluşmaktadır (38). Reaksiyon tamamlandığında dört tüpün her birinde oluşan DNA fragmentleri poliakrilamid jele yan yana yüklenerek elektroforez gerçekleştirilmekte ve uygulanan elektriksiz alanın etkisi ile DNA fragmentleri kısıdan uzuna doğru jel üzerinde sıralanmaktadır. Fragmentler, sonlandıkları ddNTP'nin çeşidine göre aşağıdan yukarıya doğru takip edilerek DNA dizisi elde edilmektedir (39, Şekil-4).



Şekil-4: Sanger' in DNA Dizi Analizi Yöntemi

Otomatik DNA dizi analizde de Sanger' in enzimatik DNA sentezine dayanan zincir sonlanma yöntemi kullanılmaktadır. Bu cihazlar, sabit bilgisayarda yüklü programlar ile bu programların yönettiği bir elektroforez sistemini içermektedirler. Bu sistemde, DNA dizi analizi reaksiyonu tek bir deney tüpünde gerçekleştirilmekte ve ddNTP' lerin her biri, farklı renklerde floresan boyalarla işaretlenmiş olarak aynı deney tüpüne konmaktadır. Reaksiyon sonunda, her bir nükleotidi farklı renklerde floresan boyalarla işaretlenmiş olan DNA fragmentlerinin yüklendiği jel, elektroforez süresince, lazer ışık kaynağı ile oluşturulan monokromatik ışık ile taranmakta ve floresan boya ışık ile taranan bölgeye geldiğinde uyarılmaktadır. Uyarılan boya kendi için karakteristik olan dalga boyunda ışığı geri yansıtmakta ve yansıyan ışık demeti bir detektör tarafından kaydedilmektedir. Kaydedilen veriler bilgisayar programları ile değerlendirilerek sonuçlar grafiksel ya da matematiksel olarak bilgisayar ekranına aktarılmaktadır (40, Şekil-5).



Şekil-5: Otomatik DNA Dizi Analizi akış şeması (89).

Mevcut tez çalışmasında, erken yaş ve/veya ailesinde meme/over kanseri öyküsü olan ve *BRCA1/2* genlerinde mutasyon belirlenmeyen toplam 95 meme kanseri hastasında *CHEK2* geninin tüm ekzonları taranarak Türk popülasyonunda *CHEK2* genindeki varyasyonların belirlenmesi hedeflenmektedir. Bugüne kadar Türk popülasyonunda *BRCA1/2* genlerinde çeşitli mutasyonlar saptanmış olmasına rağmen, *CHEK2* geninde tüm ekzonlarda varyasyonların araştırıldığı herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu bağlamda, planlanan çalışma Türk popülasyonu için özgün sonuçların ilk kez derlenmesine olanak sağlayacaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Gereç

Kullanılan Aletler

- CEQ-8000 Otomatik DNA Dizi Analizi Sistemi (BECKMAN COULTER)
- Gene Amp PCR 9700 Thermocycler (APPLIED BIOSYSTEMS)
- Dikey Elektroforez Sistemi (THERMO)
- Yatay Elektroforez Sistemi (BIO-RAD)
- Isıtıcı blok (DB-2A) (TECHNE)
- Su banyosu (BM 302) (NÜVE)
- Santrifüj (22R) (BECKMAN COULTER)
- Manyetik Karıştırıcı (VELP SCIENTIFICA).
- + 4°C buzdolabı (ALASKA)
- - 20°C derin dondurucu (BOSCH)
- UV kabini (BIOSAN)
- Nanodrop (THERMO)
- Otomatik Pipet, (0.5-10 µl) (EPPENDORF)
- Otomatik Pipet, (10-100 µl) (EPPENDORF)
- Otomatik Pipet, (20-200 µl) (EPPENDORF)
- Otomatik Pipet, (100-1000 µl) (THERMO)

Kullanılan Kimyasal Malzemeler

- Wizard Genomic DNA Purification Kit Promega-A1125, USA
- Fenol (SIGMA)
- Kloroform (SIGMA)
- dNTP (PROMEGA)
- MgCl₂ (PROMEGA)
- Primerler (PROMEGA)
- Taq Polimeraz (PROMEGA)

- DTCS, Quick Start Mix (PROMEGA)
- Agaroz (VIVANTIS)
- Bromofenol blue (BIOLOGICAL INDUSTRIES)
- Etidium bromür (SIGMA)
- 10XTBE (VIVANTIS)
- Formamide (MERCK)
- 1× MDE gels (BMA)
- Gümüş Nitrat (SIGMA)
- Asetik Asit (SIGMA)
- EDTA (SIGMA)
- Xylene cyanol (SIGMA)
- RBC (ROCHE)

3.2. Yöntem

3.2.1. Hasta Seçimi

Mevcut tez çalışmasında, 2010-2018 yılları arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda opera edilen 100 meme kanseri hastası değerlendirildi.

Hasta seçim kriterleri;

- Ailesinde meme veya over kanseri hikayesi bulunması veya 45 yaş altı meme kanseri tanısı almış olmak,
- Patojenik BRCA1 ve BRCA2 gen mutasyonları taşımıyor olmak.

Hasta red kriterleri,

- Kanser tanısı olmaması,
- Aile hikayesi bulunmayan geç yaş meme kanseri olması,
- BRCA1 ve BRCA2 mutasyon analizi yapılmamış olması,
- Patojenik BRCA1 ve BRCA2 mutasyonlarından herhangi birine sahip olması.

Seçim kriterleri doğrultusunda belirlenen 100 hastaya ait DNA örnekleri Uludağ Üniversitesi Tıbbi Biyoloji AD 20°C'lik derin dondurucudaki DNA arşivinden elde edildi. Araştırma Uludağ Üniversitesi Araştırma ve Yayın Etik Kuruluna sunulularak çalışmanın etik kurul onayı alındı (Etik Kurul No: 2015-4/5).

3.2.2. PCR Reaksiyonu

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR); 1,75 mM MgCl₂, her bir dNTP'den 100 mM ve her bir primerden 0,5 µM içeren tampon çözeltiye 5 ünite Taq Polimeraz ve 50-100 ng

genomik DNA eklenerek gerçekleştirildi. Elde edilecek amplifikasyon ürünleri agaroz jel elektrofezi ile kontrol edilecektir.

PCR ürünleri, %6'lık olarak hazırlanan agaroz jelde görüntülendi. Doğal bir kolloid olan agaroz, galaktoz ve 3,6- anhidrogalaktoz ünitelerinin ardışık olarak yer aldığı agarobioz ünitelerinin tekrarlanmasından oluşan bir polisakkarittir. Agaroz jel, 200 ml 1XTBE (54 gr Tris, 27,5 gr EDTA ve 7,44 gr Na₂EDTA) karışımının içerisinde 6 gr agaroz jel çözündürülerek hazırlandı. Nükleik asitlerin UV ışık altında görüntülenebilmesi için hazırlanan jelle 6 µl Etidiyum Bromür ilave edildi. Jel kullanıma hazır hale geldikten sonra tarak yardımıyla oluşturulan kuyulara örnekler ve 50 bp'lik belirteç yüklenerek yatay elektroforezde 300 mA' de 45 dk yürütme yapıldı. Elektroforezde yürütme bittikten sonra UV spektrofotometrede (Vilbar, Fransa) görüntüleme yapıldı.

Heterodubleks Analizi (HDA)

Heterodubleks analizi mutasyon saptama yöntemlerinden biridir. Yöntemin temeli; jel matriksinde heterodubleks DNA moleküllerinin homodubleks yapıdaki DNA moleküllerinden daha farklı göç etmesine dayanmaktadır. Yöntem DNA örneklerinin yüksek sıcaklıkta denatüre edildikten hemen sonra renatüre edilmesi ile gerçekleştirilmektedir. Renatürasyon esnasında mutant DNA ipliği ile yabancı DNA ipliklerinin hibridize olması ile mutasyon noktasında yanlış eşleşme yapmış bir baz çifti bulunmaktadır bu da heterodubleks DNA'ların oluşması anlamına gelmektedir. HDA'nın, 300 baz çiftlik veya daha küçük bir DNA fragmanında %90-95 oranında güvenilirliği mevcuttur. HDA analizi için hazırlanan ürünler 1xMDE™ jelle yüklenerek, 1xTBE içeren tamponda, 600V potansiyel farkında 16 saat yürütüldü. Gümüş boyama yöntemi ile boyanan jelde farklı bant özelliği gösteren örnekler işaretlenerek değerlendirme olan DNA dizi analizi, otomatik DNA dizi analiz sistemi kullanılarak yapıldı (Beckman Coulter Genome Lab™ GeXP).

Solüsyonlar

Stop solüsyonu

- 9.5 ml % 95 formamide
- 0.004 gr NaOH
- 0.005 gr % 0.05 bromophenol blue
- 0.005 gr % 0.05 xylene cyanol hassas terazide ölçüldü ve birbiri ile karıştırıldı.

Poliakrilamid Jel

- 17.3 ml dH₂O
- 14 ml MDE
- 2.8 ml Gliserol
- 2.25 ml 10x TBE
- 200 µl % 10 APS
- 20 µl TEMED

Gümüş Nitrat Çözeltisi

- 3 gr Gümüş Nitrat
- 4 ml Formaldehit
- 2 lt dH₂O

Sodyum Karbonat Çözeltisi

- 68 gr NaCO₃
- NaSCN
- 4 ml Formaldehit
- 2 lt dH₂O içerisinde çözüldü.

Her PCR ürününün 11µl' si 96°C de 6 dakika ısı ile denatüre edildikten sonra, sırasıyla 50°C' de 10 dk, 37°C' de 15 dk ve 20°C' de 30 dk' dan oluşan HDA rekasiyonuna tabii tutuldu ve ardından 2µl stop solüsyon eklenerek analiz edilene kadar buz üzerinde saklandı. Daha sonra HDA ürünleri poliakrilamid jele yüklenerek 0.5 X TBE içeren yürütme tamponunda 600V' da 9-16 saat boyunca elektroforez gerçekleştirildi. Elektroforez sonunda poliakrilamid jelde oluşan bantlar gümüş boyama ile görüntülendi.

Gümüş boyama

- Jel % 10' luk asetik asit içine alındı ve 35 dk. çalkalandı.
- 6 defa H₂O ile yıkama gerçekleştirildi.
- Jel 40 dk karanlıkta Gümüş Nitrat çözeltisinde bekletildi.
- 1 defa H₂O ile yıkama gerçekleştirildi.
- Jel Sodyum Karbonat çözeltisi ile 3 defa yıkandı.
- 1 dk süreyle % 10' luk asetik asit çözeltisi içerisinde çalkalama yapıldı.
- 1 dk süreyle H₂O ile duruluma işlemi gerçekleştirildi.

Poliakrilamid jelde normal bant görüntüsünden farklı olarak, heterodupleks bant özelliği gösteren örnekler mutasyon/ polimorfizm varlığı açısından pozitif olarak değerlendirildi ve bu örnekler için DNA dizi analizi gerçekleştirildi.

DNA Dizi Analizi

DNA dizi analizine alınan örnekler sırasıyla PCR saflaştırma, sekans reaksiyonu ve alkolle çötürme işlemlerine tabii tutuldu.

PCR Saflaştırma Analizi

PCR ürünlerin saflaştırılması amacıyla “Wizard Genomic DNA Purification Kit, PROMEGA” kiti kullanıldı. Bu doğrultuda;

- PCR ürünlerinin üzerine 11 µl *membran binding solution* eklendi. Oluşturulan karışım SV minicolumn tüplerin yerleştirildiği koleksiyon tüplerine konarak 1 dk oda sıcaklığında bekletildi.
- 16.000 xg' de 1 dk santrifüj gerçekleştirilerek alt kısım atıldı.
- Minicolumn tüplere 700 µl etanol eklenmiş *membran wash solution* eklendi.
- 16.000 xg' de 1 dk santrifüj gerçekleştirilerek alt kısım atıldı.
- 500 µl *membran wash solution* eklendi ve 16.000 xg' de 5 dk santrifüj edildi.
- Alt kısım atılarak, kapaklar açık olarak 16.000 xg' de 1 dk santrifüj edilerek kalan alkol uzaklaştırıldı.
- Minicolumnlar 1.5 ml' lik ependorfa aktarıldı ve üzerine 50 µl dH₂O eklendi.

- 16.000 xg' de 1 dk santrifüj gerçekleştirildi.
- Alt kısımda kalan saflaştırılmış PCR ürünü -20°C' de saklandı.

Sekans Reaksiyonu

Saflaştırma işleminden geçirilen PCR ürünleri ile DTCS, Quick Start Mix, PROMEGA kiti kullanılarak sekans reaksiyonu gerçekleştirildi. Bu amaçla, toplam reaksiyon hacmi 20 µl olacak şekilde 8 µl DTCS, 0.5 µl primer, 1 – 5 µl saflaştırılan PCR ürünü ve dH₂O' dan oluşan reaksiyon karışımı hazırlandı. Sekans reaksiyonu için uygulanan reaksiyon koşulları aşağıda belirtildiği gibidir;

- 94°C de 3 dk öndenatürasyon
- 30 döngü:
 - o 96°C' de 30 sn denatürasyon,
 - o 50°C' de 20 sn bağlanma
 - o 60°C' de 4 dk uzama

Alkole Çöktürme

Sekans reaksiyonu sonunda PCR ürünleri aşağıda belirtildiği şekilde alkole çöktürme işlemine tabii tutuldu.

- Her bir PCR ürünü için 1.5 ml'lik bir ependorf tüpüne 60 ml % 96' lık etanol kondu.
- PCR ürünlerinin üzerine 2 ml Na asetat, 2ml Na EDTA ve 1 ml Glikojen ko-narak oluşturulan karışım ependorf tüplerin üzerine ilave edildi.
- 18.000 xg' de 15 dk + 4°C' de santrifüj gerçekleştirildi.
- Üst kısımdaki alkol, oluşan pellete dokunulmadan ortamdan uzaklaştırıldı.
- Pelletin üzerine 200 ml % 70' lik etanol eklendi.
- 18.000 xg' de 3 dk + 4°C' de santrifüj gerçekleştirildi.
- Üst kısım atılarak, pellet 2 – 3 saat 37°C deki kuru etüvde bekletilerek dipte kalan alkolün uçması sağlandı.

Sekans Analizi

Alkolle çöktürme işleminden sonra, kuruyan pelletlerin her biri 40 µl SLS içerisinde çözdürüldü ve 96 kuyulu sekans tabağının üzerindeki kuyucuklara yüklendi. Örnek yüklenen kuyulara birer damla mineral oil eklenerek, otomatik DNA dizi analizi cihazında (CEQ-8000, Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, USA) değerlendirildi.

Sekans analizi sonucunda hastalara ait örneklerden elde edilen veriler, sağlıklı kontrol örnekler ile karşılaştırıldı ve saptanan varyasyonlar ile meme kanseri riski arasındaki ilişki; Ensemble Genome Browser (Ensembl; <http://www.ensembl.org/>), the human gene mutation database (HGMD; <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/all.php>), Leiden Open Variation Database (LOVD; (<http://www.lovd.nl/3.0/home>) ve Human Genome Variation Society (HGVS; <http://www.hgvs.org/dblist/dblist.html>) veritabanlarından yararlanılarak belirlendi.

İstatistiksel Analiz

Hastaların *CHEK2* genine ait belirlenen değişimlerin, klinik özellikler üzerindeki potansiyel etkisini incelemek için, çalışmadan elde edilen bulgular, SPSS 16.00 (SPSS, Chicago, IL, USA) programı kullanılarak istatistiksel olarak [% 95'lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde] değerlendirildi. Klinik-histopatolojik tümör özellikleri ile mutasyon durumu ve de belirlenen SNP'lerin ilişkisi Fisher's Exact Test ve Independent Sample T Test kullanılarak belirlendi.

BULGULAR

Hasta Grubu ve Klinik Özellikler

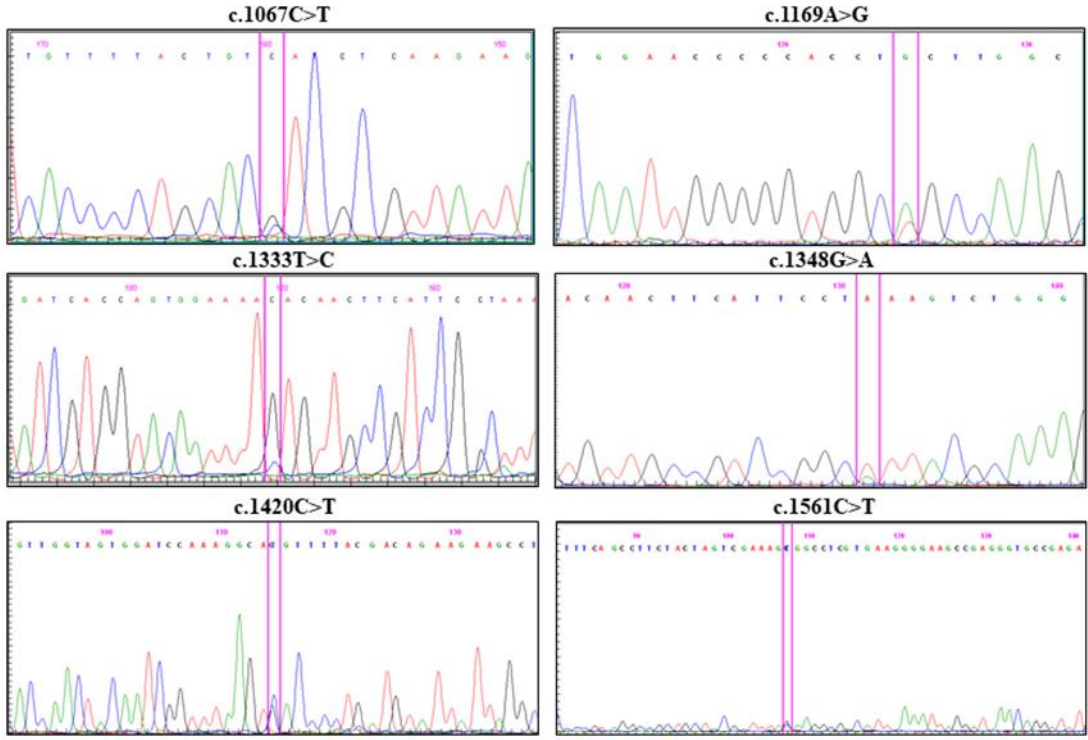
Çalışmaya dahil edilen hastaların yaş ortalaması 41.67 ± 1.17 (21 – 65) olarak belirlendi. Hastalara ait histopatolojik (tümör lokalizasyonu, tümör evresi, tümör tipi, östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR), insan epidermal büyüme faktörü reseptörü (HER-2), proliferasyon indeksi (Kİ67), sentinel lenf nodu biyopsisi (SLNB), benign reaktif hiperplazi (BRH), metastaz durumu, in situ komponent, ekstrakapsüler yayılım, lenfatik invazyon ve perinoral invazyon) ve onkolojik özellikler (first-line neoadjuvan tedavi, first-line adjuvant tedavi, herceptin tedavisi, hormon tedavisi ve radyoterapi) Genel Cerrahi ve Patoloji Anabilim Dalı arşivlerinden elde edildi. Değerlendirilen hastalara ait klinik ve histolojik özellikler sırası ile Tablo 1’de belirtildi.

Tablo 1: Değerlendirilen Hastalara Ait Klinik Özellikler

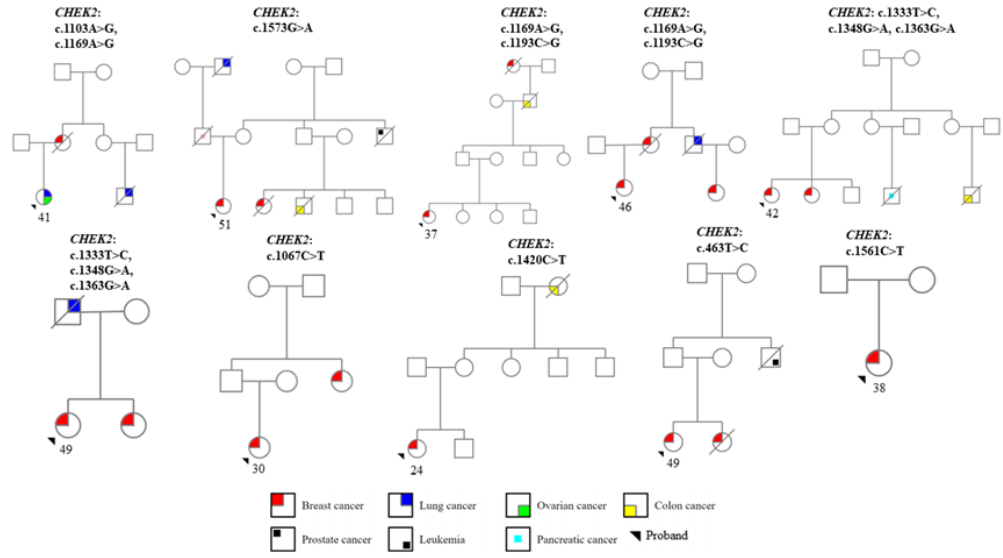
Değerlendirilen Parametreler		Hasta Sayısı
Yaş ortalaması	42.13± 1.169 (21-65)	
İlk mensturasyon yaşı	12.99± 0.170 (11-17)	
İlk doğum yaşı	23.56± 0.677 (16-39)	
1.derece aile hikayesi		
	+	41
	-	54
Neoadjuvan tedavi		
	+	34
	-	61
Adjuvan tedavi		
	+	40
	-	56
Hormon tedavisi		
	+	60
	-	35
Radyoterapi		
	+	89
	-	6

CHEK2 Genetik Varyasyonların Değerlendirilmesi

CHEK2 geni tüm ekzonları incelendiğinde c.463T>C, c.1067C>T, c.1169A>G, c.1193C>G, c.1333T>C, c.1348G>A, c.1363G>A, c.1420C>T, c.1561C>T, c.1573G>A, and c.1103A>G mutasyonları saptandı. CHEK2 mutasyonları Şekil-6’da, bu mutasyonlara sahip aileler ise Şekil-7’de gösterilmektedir.



Şekil-6: CHEK2 mutasyonları.



Şekil-7: CHEK2 mutasyonu taşıyan aileler.

Değişimlerin Hastaların Klinik Özellikleri Üzerindeki Etkisi

Gerçekleştirilen Fisher's Exact Test' e göre, hastalar ve kontrol grubu arasında mutasyonların görülme sıklığı açısından anlamlı bir farklılık belirlenmedi ($p>0.05$). Bununla birlikte, Fisher's Exact Test' e göre, *CHEK2* geninin protein kodlayan bölgesinde mutasyon taşıyıcılığı ile, bu genin 3'UTR bölgesinde c.*105A>C (rs15869) polimorfizmi taşıyıcılığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamış ($p = 0.443$) olmasına rağmen, c.*1287C>T (rs12516) varyantının istatistiksel olarak anlamlı belirlendi ($p = 0.035$). Ancak, Independent sample T testi sonucunda bu polimorfizmler ile hastaların klinik özellikleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki belirlenemedi ($p>0.05$)

TARTIŞMA VE SONUÇ

BRCA1 ve BRCA2'deki mutasyonlar meme ve yumurtalık kanseri riskini arttırmakta ve ailenin ve/veya erken başlangıçlı vakaların sadece belirli bir yüzdesinde ortaya çıkartmaktadır. Bu nedenle, meme kanseri gelişiminde rol oynadığı bilinen CHEK2, PALB2, ATM ve BARD gibi mutasyon hedefleri, meme kanseri risk taraması açısından önemlidir (15, 17). CHEK2 genindeki germline mutasyonlarının oranları, çeşitli etnik kökenli popülasyonlardaki yüksek riskli meme ve yumurtalık kanseri aileleri arasında değişiklik gösterir, bu nedenle genin alaka düzeyini belirlemek için tanımlanması gerekmektedir (17). Bu araştırma ile sağladığımız fayda, CHEK2 mutasyonlarının prevalansını değerlendirerek, Türk popülasyonunda BRCA1/2 ve PALB2 negatif yüksek riskli meme ve/veya yumurtalık kanserinin uygunluğunun belirlenmesidir. Bildiğimiz kadarıyla, bu bir Türk popülasyonunda CHEK2 mutasyonlarının ve onun meme kanseri fenotipinin prevalansı için araştırılan ilk çalışma kohortudur. Bu çalışmada, erken başlangıçlı meme ve/veya yumurtalık kanseri olan 95 BRCA1/2 ve PALB2 negatif Türk kadınlarında CHEK2 geninin kodlama ekzonlarındaki mutasyonları taramak için HDA ve sekans analizini kullandık ve toplam 11 farklı tespit ettik 95 hastada missense CHEK2 sekansı varyantı tanımladık. Ayrıca CHEK2 geninde dört eş anlamlı değişken ve bir 3'UTR değişkeni tespit ettik. On altı varyant, iyi huylu, büyük olasılıkla iyi huylu, büyük olasılıkla patojenik ve bilinmeyen klinik öneme sahip varyantlar olarak sınıflandırılmıştır. Meme kanseri riskinin kadın CHEK2 * 1100delC mutasyon taşıyıcıları için ikiye katlandığı ve ek genetik risk faktörlerinin birlikte kalıtımından kaynaklanan ailevi meme kanseri vakalarında taşıyıcı kadınların riskinin çok daha yüksek olduğu bilinmektedir (18). CHEK2 * 1100delC taşıyıcı durumu, Kuzey ve Doğu Avrupa kökenli kadınlarda neredeyse iki kat meme kanseri riski oluştururken, sıklığın Kuzey Amerika kökenli kadınlarda daha düşük olduğu bildirilmiştir (18, 19, 20). 16 ailevi, 29 erken başlangıçlı, 3 erkek meme kanseri ve 2 iki taraflı meme/yumurtalık kanseri vakası dahil olmak üzere yüksek riskli Türk vakaları üzerinde yapılan tek çalışmada, Manguoğlu ve ark. [21] CHEK2'de c.1100delC değişkeni tespit etmedi. Bununla birlikte, ailesel meme kanseri öyküsü olan 50 yaşın altındaki 2.408 Rum hastasına odaklanan bir çalışmada, vakaların küçük bir bölümünde (% 0.16) bir CHEK2 * 1100delC mutasyonu bulundu [11]. Bu çalışmada, Türk hastaları analiz ettik ve diğer

popülasyonlarda sıkça tanımlanan CHEK2 * 1100delC mutasyonunun aksine, patojenik karakterli ilk defa c.1103A> G (p.Asp368Gly) mutasyonu tanımlandı. Ailede meme ve akciğer kanseri öyküsü olan 41 yaşında yumurtalık kanseri hastası. Bu varyant, silico tahminine dayanarak protein üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğuna dair kanıtlara sahipti. P.Asp368Gly kalıntısı, CHEK2'nin katalitik domeninin (tortular 220-486) T halkasının yanı sıra kinaz bölgesinde bulunur. CHEK2 kinaz bölgesinde bulunan yüksek oranda korunmuş bir kalıntı olan c.110A> G'deki kodon değişiminin, CHEK2 aktivitesini önemli ölçüde bozduğu bulundu. Bu çalışma, CHEK2'de bir başka önemli yanlış varyant varyasyonunun c.1169A> G (p.Tyr390Cys) olduğunu gösterdi. Bu değişken üç hastada (% 3.15) ve bir hastada (% 1.6) sağlıklı kontrol grubunda bulundu. Ayrıca, c.1169A> G taşıyıcılarının üçünde aile öyküsü meme ve / veya yumurtalık kanseri bulunur ve bir hasta ER- / PR- / HER2-tümör tipinde gözlemlendi. Her ne kadar ClinVar'da “çelişkili patojenite yorumları” olarak sınıflandırılrsa da, c.1169A> G (p.Tyr390Cys), posterior olasılık hesaplamalarına dayanarak olası patojenik olarak sınıflandırılmıştır. Gerçekten de, c.1169A> G varyantı Çin'de yapılan farklı bir çalışmada bildirilmiştir (17). Çalışmanın fonksiyonel analizi, CHT2 c.1169A> G mutasyonunun, mutant proteinin CDC25A'yı inaktive etmede veya DNA hasarından sonra p53'ü aktif hale getirmedeki yetersizliği ile değerlendirildiğinde zararlı olduğunu göstermiştir [22]. Bu çalışmada ayrıca, yüksek riskli Çin meme kanseri hastalarında artmış kanser riskine bağlı yeni bir CHEK2 c.1169A> G varyantı tanımlanmıştır [22]. Bununla birlikte, Align-GVGD'de C65 olarak tahmin ettiğimiz c.1169A> G varyantı, Desrichard ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada çelişkili olarak C0 olarak sınıflandırıldı. Kalıtsal meme kanserli Fransız kadınlarda CHEK2 mutasyonlarını tanımlamak [2]. Daha fazla hasta ve aile üyesi analiz edildiğinde, c.1169A> G varyantının kanser riskine bağlı olup olmadığı konusunda daha belirgin hale gelebilir.

Özet olarak, bulgularımız *CHEK2* mutasyonları meme kanseri gelişimi riskinin belirlenmesinde genetik bir belirteç olma potansiyeli ile ilgili verileri destekler niteliktedir. Ayrıca, bu polimorfizmin Türk popülasyonunda *CHEK2* eni fonksiyonunu etkileyerek ailesel ve/veya erken yaş meme kanseri riskini arttırıyor olabileceği mevcut çalışma ile ilk kez gösterilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 2011; 61: 69-90.
2. Downs-Holmes C, Silverman P. Breast cancer: overview and updates. *The Nurse Practitioner.* 2011; 36: 20-6.
3. Claus EB, Risch N, Thompson WD. Genetic analysis of breast cancer in the cancer and steroid hormone study. *Am J Hum Genet.* 1991; 48: 232-42.
4. Szabo CI, King MC. Population genetics of BRCA1 and BRCA2. *Am J Hum Genet.* 1997; 60:1013-20.
5. Ferla R, Calò V. Founder mutations in BRCA1 and BRCA2 genes. *Ann Oncol.* 2007; 18: 93-8.
6. Kenemans P, Verstraeten RA, Verheijen RH. Oncogenic pathways in hereditary and sporadic breast cancer. *Maturitas.* 2004; 49: 34-43.
7. Kooshyar MM, Nassiri M, Mahdavi M, et al. Identification of germline BRCA1 mutations among breast cancer families in Northeastern Iran. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2013; 14: 4339-45.
8. Hennessy BT, Timms KM, Carey MS, et al. Somatic mutations in BRCA1 and BRCA2 could expand the number of patients that benefit from poly (ADP ribose) polymerase inhibitors in ovarian cancer. *J Clin Oncol.* 2010; 28: 3570-6.
9. Ford D, Easton DF, Stratton M, et al. Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. The Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet.* 1998; 62: 676-89.
10. Sehl ME, Langer LR, Papp JC, et al. Associations between single nucleotide polymorphisms in double-stranded DNA repair pathway genes and familial breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2009; 15: 2192-203.
11. Pelletier C, Speed WC, Paranjape T, et al. Rare BRCA1 haplotypes including 3'UTR SNPs associated with breast cancer risk. *Cell Cycle.* 2011; 10: 90-9.
12. Nilsen TW. Mechanisms of microRNA-mediated gene regulation in animal cells. *Trends Genet.* 2007; 23: 243-9.

13. Barroso E, Pita G, Arias JI, et al. The Fanconi anemia family of genes and its correlation with breast cancer susceptibility and breast cancer features. *Breast Cancer Res Treat.* 2009; 118: 655-60.
14. Pongsavee M, Yamkamon V, Dakeng S, et al. The BRCA1 3'-UTR: 5711?421T/T_5711?1286T/T genotype is a possible breast and ovarian cancer risk factor. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2009; 13: 307-17.
15. Kontorovich T, Levy A, Korostishevsky M, Nir U, Friedman E. Single nucleotide polymorphisms in miRNA binding sites and miRNA genes as breast/ovarian cancer risk modifiers in Jewish high-risk women. *Int J Cancer.* 2010; 127: 589-97.
16. Nicoloso MS, Sun H, Spizzo R, et al. Single-nucleotide polymorphisms inside microRNA target sites influence tumor susceptibility. *Cancer Res.* 2010; 70: 2789-98.
17. Joseph S, Sellappa S, Prathyumnann S, Keyan KS. A novel polymorphism in BRCA2 exon 8 and breast cancer risk in South India. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2011; 12: 309-11.
18. World Health Organisation Statistics 2012 (http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2012/en/)
19. Sağlık Bakanlığı, Sağlık istatistikleri yılığı -2008 (<http://www.saglik.gov.tr/TR/belge/1-10064/saglik-istatistikleri-yilligi-2008.html>)
20. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer.* 2015; 1;136(5):E359-86.
21. Aydın S, Akça T. Tüm yönleri ile meme kanseri. Adana: Nobel Kitabevi Ltd.Şti; 2011.
22. Nwabo Kamdje AH, Etet PF, Vecchio L, et al. A focus on tumor microenvironmental signals and chemoresistant breast cancers. *World J Clin Cases.* 2014;16;2(12):769-86.
23. Fong PC, Boss DS, Yap TA, et al. Inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase in tumors from BRCA mutation carriers. *N Engl J Med.* 2009; 9;361(2):123-34.

24. Nwabo Kamdje AH, Etet PF, Vecchio L et al. New targeted therapies for breast cancer: A focus on tumor microenvironmental signals and chemoresistant breast cancers. *World J Clin Cases*. 2014; 16;2(12):769-86.
25. Larsen MJ, Thomassen M, Gerdes AM, et al. Hereditary breast cancer: clinical, pathological and molecular characteristics. *Breast Cancer (Auckl)*. 2014; 15;8:145-55.
26. American Joint Committee on Cancer (<https://cancerstaging.org/Pages/default.aspx>).
27. Honrado E, Benítez J, Palacios J. The molecular pathology of hereditary breast cancer: genetic testing and therapeutic implications. *Mod Pathol*. 2005;18(10):1305-20.
28. Agnarsson BA, Jonasson JG, Björnsdóttir IB, et al. Inherited BRCA2 mutation associated with high grade breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 1998;47(2):121-7.
29. Durocher D, Jackson SP. DNA-PK, ATM and ATR as sensors of DNA damage: variations on a theme? *Curr Opin Cell Biol*. 2001;13(2):225-31.
30. Hartwell LH, Kastan MB. Cell cycle control and cancer. *Science*. 1994 16;266(5192):1821-8.
31. Xu B, Kim St, Kastan MB. Involvement of Brca1 in S-phase and G(2)-phase checkpoints after ionizing irradiation. *Mol Cell Biol*. 2001; 21(10):3445-50
32. Pierce AJ, Stark JM, Araujo FD, et al. Double-strand breaks and tumorigenesis. *Trends Cell Biol*. 2001; 11(11):S52-9.
33. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, et al: A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science*. 1994; 266:66–71.
34. Vahteristo, J. Bartkova, H. Eerola, et al. A CHEK2 genetic variant contributing to a substantial fraction of familial breast cancer *Am J Hum Genet*, 71 (2002), pp. 432-438. Wooster R, Bignell G, Lancaster J, et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature*. 1995; 378:789–791.
35. A. Osorio, R. Rodriguez-López, O. Diez, et al. The breast cancer low-penetrance allele 1100delC in the CHEK2 gene is not present in Spanish familial breast cancer population *Int J Cancer*, 108 (2004), pp. 54-56.

36. Bignell G, Micklem G, Stratton MR, et al. The BRC repeats are conserved in mammalian BRCA2 proteins. *Hum Mol Genet.* 1997; 6:53–58.
37. Chen PL, Chen CF, Chen Y, et al. The BRC repeats in BRCA2 are critical for RAD51 binding and resistance to methyl methanesulfonate treatment. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998; 95:5287–5292.
38. Wong AKC, Pero R, Ormonde PA, et al. RAD51 interacts with the evolutionarily conserved BRC motifs in the human breast cancer susceptibility gene BRC. *J Biol Chem.* 1997; 272:31941–31944.
39. Bertwistle D1, Ashworth A. The pathology of familial breast cancer: How do the functions of BRCA1 and BRCA2 relate to breast tumour pathology? *Breast Cancer Res.* 1999;1(1):41-7.
40. Wang F, Fang Q, Ge Z, et al. Common BRCA1 and BRCA2 mutations in breast cancer families: a meta-analysis from systematic review. *Mol Biol Rep.* 2012; 39(3):2109-18.
41. Cecener G, Egeli U, Tunca B, et al. BRCA1/2 germline mutations and their clinical importance in Turkish breast cancer patients. *Cancer Invest.* 2014; 32(8):375-87.
42. Egeli U, Cecener G, Tunca B, et al. Novel germline BRCA1 and BRCA2 mutations in Turkish women with breast and/or ovarian cancer and their relatives. *Cancer Invest.* 2006;24: 484–491.

TEŞEKKÜR

Çok severek başladığım ve hala öğrenmeye devam ettiğim, mesleğime ilk adımı attığım Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yolumun kesiştiği, eğitimime katkıda bulunan tüm hocalarıma,

Tez konusunda tüm desteğiyle yanımda olan ve tezin son aşamasına gelene kadar bana yol gösteren, yoğun iş temposu arasında çok değerli vaktini ayırarak yardımlarını esirgemeyen, tecrübeleri, bilgi birikimi ile bana her zaman ışık tutan tez danışmanım saygıdeğer hocam Prof.Dr.M.Şehsuvar Gökgöz'e

Cerrahi açısından en değerli anlardan biri olan, tabiri caizse elime ilk bisturiyi veren, ilk dikişimi attıran, hem cerrahi tarzı ve disiplenini, hem yaşam tarzını, bilgisini becerisini her fırsatta aktaran, her zaman örnek aldığım ve hep güzel anlarla hatırladığım, kendisini rol model olarak gördüğüm Prof.Dr.Halil Bilgel'e

Sakin ve soğukkanlılığı kişiliği ile herkesin her fırsatta başvurabileceği, üslubu ile daima örnek aldığım, her konuda desteklerini esirgemeyen, sabırla ve güveniyle her konuda yanımda hissettiğim kıymetli hocam Prof.Dr.Yılmaz Özen'e

Uzmanlık eğitimim süresince engin beceri, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, hiçbir zaman destek ve imkanlarını esirgemeyen, iyi bir hekim olmanın ancak iyi ve erdemli bir insan olmakla mümkün olabileceğini kendisini tanıdıkça öğrendiğim, asistanlık dönemim boyunca eğitimime ve kişisel gelişimime yaptığı katkılardan ve bizlere kazandırdığı akademik ve insani bakış açısından dolayı çok değerli hocam ve ağabeyim Dr.Öğr.Üy Halit Ziya DüNDAR'a

Akademik hayatta birlikte çalışmaktan keyif aldığım zaman zaman disiplinli zaman zaman eğlenceli ve sevecen kişiliği ile bizlere örnek olan, cerrahi beceri ve yeteneği ile idol olarak gördüğüm, bilimselliğinden ve tecrübesinden daima faydalandığım, BUÜ Tıp Fakültesi Dekanı Prof.Dr.Ekrem Kaya'ya

Kolorektal cerrahi ile başlayıp kolorektal cerrahi ile biten asistanlık eğitimim boyunca, tüm tecrübelerini bizlere aktaran, hemen hemen her sıkıntımızda yanımızda bulabildiğimiz ve desteğini hiç esirgemeyen, akademik yönüyle ve verdiği güven ve tecrübe ile yol gösterici olan çok değerli hocam Prof.Dr.Tuncay Yılmazlar'a

Bilimsel ve sosyal yönüyle asistanlık hayatıma yön veren, kolorektal cerrahide öğrendiğim çoğu şeyde daima kendisini andığım, çalışma tarzı ve akademik yönüyle her fırsatta bana katkıda bulunan, saygıdeğer hocam Prof.Dr.Ersin Öztürk'e

Kendisiyle çalışmaktan keyif aldığım, disiplinli ve keyifli kişiliği ile desteğini hep yanımda hissettiğim, öğrendiğim tüm endoskopik işlemlerin ve kolorektal cerrahideki ince işçiliğin mimarı, hastalara yaklaşımı ve takibi ile örnek aldığım hocam ve ağabeyim Doç.Dr.Özgen Işık'a

Endokrin Cerrahideki çalışma sürem boyunca, titiz ve özenli çalışma tarzı, sakinliği ve soğukkanlılığı, yeri geldiğinde de espiritüel kişiliği ile kendisi ile çalışmış olmaktan gurur duyduğum ve endokrin cerrahi adına öğrenilmesi gereken her şeyi tane tane öğreten, üslubu ve kişiliği ile örnek aldığım çok değerli hocam Prof.Dr.M.Türkay Kırdak'a

Birlikte çalıştığımız kısıtlı süre boyunca tüm tecrübelerini bizlere aktaran Prof.Dr. Nusret Korun'a

Kendisiyle çalıştığımız kısıtlı süre boyunca keyifli ve eğlenceli kişiliği ile kendisini tanımaktan keyif aldığım ve akademik hayatta ve tezime de katkıda bulunan Uzm.Dr.Kazım Şenol'a

Bilgimizi, hedeflerimizi, soframızı, uykumuzu, hayallerimizi paylaştığımız, yanlarında ailemle birlikteymiş gibi hissettiğim, sohbetlerine doyamadığım, her koşulda yanımda olan, meslektaşım demekten gurur duyduğum ve bu mesleği severek yapan, aramızdan uzman olup ayrılan Op. Dr. Barış Candan, Op .Dr. Seyit Ali Volkan Polatkan, Op. Dr. Barış Gülcü, Op. Dr. N. Serhat Parlak, Op. Dr. Serkan Ceylan, Op. Dr. Özkan Balçın, Op. Dr. İsmail Tırnova ve Op. Dr. Halil Türkan 'a ve halen birlikte asistanlık yaptığımız ve bana bu süreçte desteklerini esirgemeyen asistan arkadaşlarım; Dr.Ahmet Karamustafaoğlu, Dr.Abdullah Boğa, Dr.Burak Bakar, Dr.Israa Al-Jorani, Dr.Murat Şen, Dr.Osman Jafarlı, Dr.İrem Zehra Acar, Dr.Ahmet Ali Aktaş, Dr.Aysun Şahin, Dr.Tural Bağirov, Dr.Ali Vuslat Özen, Dr.Farid Mohammad Hamad, Dr.Eyüp Anıl Balkan ve Dr.Ünal Gözcü'ye ve bu süreçte yoluna başka farklı branşlarda devam etmeyi seçen kendisini tanımaktan mutlu olduğum çok değerli kardeşim Dr.Efe Özoğlu'na;

Klinik işleyişinde disiplinli ve sevecen karakteriyle her konuda yardımlarını gördüğüm, çok değerli ablam; klinik başhemsiresi Sevim Topçu'ya;

Klinikte ve yoğun bakımda birlikte çalıştığımız hemşire ve personel arkadaşlarıma,

Birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım, disiplinli, özenli ve yardımsever çalışma tarzlarıyla da hep yanımda olan çok değerli ekip arkadaşlarımız B.U.U Ameliyathane Başhemşireleri Hülya Yanık, Çiler Özenli ve Ayten Çalışkan 'a

Doğduğum günden beri, sevgi ve sıcaklıklarını her zaman yanımda hissettiğim, günlere gelmemde en büyük katkılara sahip, haklarını hiç bir zaman ödeyemeyeceğim, değerli aileme,

Asistanlığımın ilk günlerinde cerrahi sayesinde tanıştığım, birlikte en iyi ve en kötü günlerimizi paylaştığımız, hem akademik hem sosyal hayatta her zaman yanımda hissettiğim, her konuda destek olan, hayat arkadaşım, can yoldaşım; Dr.Seçil Aksoy'a

Teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

06 Kasım 1988 yılında İzmir’de doğdum. İlköğretimimi Çamlık İlköğretim Okulunda okudum, Şirinyer Anadolu Lisesinden 2006 yılında dönem birincisi olarak mezun oldum. 2007 yılında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi’nde tıp eğitimime başladım ve 2014 yılında tıp doktoru oldum. Beş yıldır Genel Cerrahi Kliniği’nde araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.