Dicle Tıp Dergisi / Dicle Med J (2019) 46 (4) : 623 - 631

www.diclemedj.org

Özgün Araştırma / Original Article

Meme Kanserinde Brca-1 ve Brca-2'de Sık Görülen Polimorfizm Mutasyonların Bölgemizde Varlığı

Mustafa Zanyar Akkuzu[1], Mehmet Küçüköner[2], Sevgi Irtegun[3], Nadiye Akdeniz[4], Zuhat Urakçı[5], Muhammet Ali Kaplan[6], Hüseyin Büyükbayram[7], Abdurrahman Işıkdoğan[8]

1 Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji B.D Mersin, Türkiye ORCID: 0000-0002-9908-6881
2 Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji BD Diyarbakır, Türkiye ORCID: 0000-0001-7336-871X
3 Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji BD Diyarbakır, Türkiye ORCID: 0000-0001-6160-5626
4 Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji BD Diyarbakır, Türkiye ORCID: 0000-0002-4597-9721
5 Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji BD Diyarbakır, Türkiye ORCID: 0000-0003-3878-988X
6 Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji BD Diyarbakır, Türkiye ORCID: 0000-0003-0882-0524
7 Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji ABD Diyarbakır, Türkiye ORCID: 0000-0002-7168-1507
8 Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji BD Diyarbakır, Türkiye ORCID: 0000-0002-7451-7286

Geliş: 04.07.2019; Revizyon: 24.09.2019; Kabul Tarihi: 11.10.2019

Öz

Amaç: Meme kanseri kadınlar arasında en sık görülen ve en fazla ölüme neden olan kanser tipidir. Meme kanseri oluşumunda birçok tümör supresör gen, onkogen ve DNA tamir genleri rol oynamaktadır. Tümör supresör genlerden BRCA-1-2 meme kanserine yol açtığı bilinen genlerdir. Bu çalışmada ülkemizde başka bölgelerde yapılmış olan BRCA-1-2 genlerinde ki sık görülen polimorfizm mutasyonların kendi bölgemizdeki sıklığı araştırıldı. Araştırmamızda Dicle Üniversitesi Onkoloji Bilim Dalında meme kanseri tanısı almış genç yaş (44 yaş altı) grubu 96 hastanın tümör dokusundan çalışıldı. BRCA-1 (rs16942, rs1799966) ve BRCA-2 (rs144848, rs1799944) genlerine ait polimorfik mutasyonları PCR özgül belirleme grubundan Hibridizasyon Prob Yöntemiyle "LightCycler" PCR cihazı kullanılarak belirlemeyi amaçladık.

Bulgular: Çalışma hastalarının BRCA-1 genine ait rs16942'de 14 (%14,5) adet homozigot (GG), 55 (%57,3) adet heterozigot (AG) ; rs1799966' da 18 (%18,7) adet homozigot (GG), 46 (%47,9) adet heterozigot (AG); BRCA-2 genine ait rs144848' de 9 (%9,37) adet homozigot (TT), 25 (%26,04) adet heterozigot (GT); rs1799944' de de 2 (%2,08) adet homozigot (GG), 3 (%3,12) adet heterozigot (AG) hastada polimorfik gen mutasyonları saptadık. Bu mutasyonların hastalık yaş grubu, evre, grade, ER pozitifliği ve HER-2 pozitifliği ile ilişkili olmadığını saptadık. Yaş ile mutasyon sıklığı bakıldığında 35 yaş altında, evre 2 ve evre 3' de, grade 2 ve grade 3'de mutasyon oranları numerik olarak artmakla beraber p değerinin klinik bir anlamlılık yoktu.

DOI: 10.5798/dicletip.661170
Yazışma Adresi / Correspondence: *Mehmet Küçüköner, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji BD Sur, Diyarbakır, Türkiye*
e-mail: drmehmetonko@hotmail.com

Sonuç: Bölgemiz açısından BRCA-1-2 polimorfizm mutasyonları önemli oranda olup hasta bireylerin ve ailelerin taranması önemlidir. BRCA-1/BRCA-2 deki bu polimorfizm mutasyonlarının yaş, evre, grade, ER durumu, HER durumu ile ilişkisinin olmadığını saptadık.

Anahtar kelimeler: BRCA-1; BRCA-2; meme kanseri;

The Value of Common Polymorphism Mutations In Brca-1 And Brca-2 For Breast Cancer

Abstract

Objective: Breast cancer is the most common cancer in women and the most common cause of death. Many tumor suppressor genes, oncogenes and DNA repair genes play a role in breast cancer formation. Tumor suppressor genes are genes known to cause breast cancer of p53, ATM, PTEN, BRCA-1 and BRCA-2 genes. In our country, there is a need for studies on mutation detection in BRCA-1-2 genes. In this study, the frequency of polymorphism mutations in BRCA-1-2 genes in other regions of our country was investigated in our region. In our study, young age group (under the age of 44) in the Department of Oncology at Dicle University was studied from the tumor tissues of 96 patients who were diagnosed with breast cancer in women. We aimed to determine the polymorphic mutations of BRCA-1 (rs16942, rs1799966) and BRCA-2 (rs144848, rs1799944) genes using the "LightCycler" PCR instrument from PCR specific detection group by Hybridization Probe Method.

Results: 14 (14.5%) homozygotes (GG) and 55 (57.3%) heterozygotes (AG) were found in rs16942 of the BRCA-1 gene of the study patients; 18 (18.7%) homozygotes (GG) and 46 (47.9%) heterozygotes (AG) in rs1799966; 9 (9.37%) homozygotes (TT) and 25 (26.04%) heterozygotes (GT) in the BRCA-2 gene rs144848; We found polymorphic gene mutations in 2 (2.08%) homozygous (GG) and 3 (3.12%) heterozygous (AG) patients in rs1799944. We found that these mutations were not associated with stage, ER positivity, Grade, age and HER-2 positivity. Age and mutation frequency increased at age 35 but p value was not significant. When the stage and mutation frequency were examined, the rate of stage 2 and stage 3 mutations increased and p value was not clinically significant. Similarly, when we look at the relationship between grade and mutation rate, we found that the frequency of grade 2 and grade 3 mutation was higher but not clinically significant.

Conclusion: These polymorphism mutations were found to be important in terms of our region. For this reason, it is necessary to carry out genetic screening of breast cancer cases and family members at early ages. We also found that these polymorphism mutations in BRCA-1 / BRCA-2 were not associated with age, stage, grade, ER status, HER status.

Keywords: BRCA-1, BRCA-2, breast cancer.

GİRİŞ

Meme kanseri dünyada kadınlarda en sık görülen malign tümördür Kadınlarda görülen tüm kanserlerin yaklaşık %25-30'unu meme kanserleri oluşturmaktadır. Meme kanserinin dünyada ortalama insidansı yüz binde 38-40 iken, Avrupa'da bu oran yüz binde 66-67, ülkemizde ise ortalama yüzbinde 40 civarındadır[1]. Uluslararası Kanser Ajansı özellikle meme kanserindeki artışa dikkat çekmiştir. Bölgemizde de ileri evre ve 40 yaş altı meme kanseri sıklığı önemli oranda görülmektedir[2]. Meme kanseri kadın kanserleri içinde en fazla görülen ve en fazla ölüme neden olan kanserdir. Dünyada kanser olan her 4 kadından biri meme kanseridir. Meme kanseri için major risk faktörleri yaş, cinsiyet, geçirilmiş meme hastalığı, ailede meme kanseri öyküsü ve genetik yatkınlık olarak belirlenmiştir[3]. Meme kanseri oluşumunda bir çok tümör supresör genler, onkogenler ve DNA tamir genleri rol oynar. EGFR, HER-2/neu, Ras, c-Myc, Siklinler, siklin bağımlı kinazlar ve inhibitörleri kanserde etkili onkogenlerdendir.

Tümör supresör genlerden p53, ATM, PTEN, BRCA-1 ve BRCA-2 genlerinin meme kanserine yol açtığı belirlenmiştir. Meme kanserlerinin büyük çoğunluğu sporadik vakalar olarak görülürken, tüm olguların %5–10'unu kalıtsal nedenli ailesel meme kanseri oluşturur. BRCA geninin keşfedilmesinden sonra yapılan çalışmalar sonucu BRCA-1 ve BRCA-2 genlerinin mutasyonunun tüm ailesel kanserlerin %40-50'sinden sorumlu olduğu ortaya konmuştur(Tablo1)[4,5].

Tablo I: Genetik Mutasyon ile Meme CA Gelişim Riski

Gen	Yaşam boyu meme ca gelişme ihtimali
BRCA-1	% 50-80
BRCA-2	% 40-70
P53	% 90
PTEN	% 25-50
ATM	% 15-52
CDH1	% 39-52
STK11	% 30-50
CHEK2	% 20-44
PALB2	% 40

Bölgemiz de Meme kanserinde genetik yatkınlığı gösteren BRCA-1 ve BRCA-2'deki mutasyonları göstermeye yönelik çalışma yoktu. Bu çalışmada sınırlı bütçe ile sık görülen polimorfizm mutasyonların çalışılması amaçlandı. Bunun içinde çalışmamızda 2010-2016 yılları arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Onkoloji Bilim Dalında tanı almış, 45 yaş altı meme kanserinin çeşitli histolojik alt tipleriyle tanılı 96 vakaya BRCA-1 ve BRCA-2'de bazı popülasyonlarda arttığı gözlenen toplam 4 adet polimorfik nokta mutasyonun sıklığını araştırmayı ve bunun Evre, ER, Grade, HER-2 ve yaş gibi parametrelerle ilişkisini tespit etmeyi amaçladık.

YÖNTEMLER

Çalışmamız Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Onkoloji Bilim Dalında, 2010- 2015 mayıs tarihleri arasında meme kanseri tanısı almış 44 yaş altı 200 adet hasta tarandı. Bu vakalara ait tüm preperatlar ışık mikroskobu (nikon-eclipse 80i) ile tekrar değerlendirildi ve canlı tümör oranı en az %50 olan 96 blok seçildi. Olgularımızın ER, PR, Cerb-B2 sonuçları daha önceden labaratuvarımızda Ventana Benchmark XT (Ventana, Tucson, AZ) cihazı ile çalışılmış ve raporlarında mevcuttu. Bu sonuçlar çalışmada kullanıldı. DNA izolasyonu için olguların parafine gömülü doku bloklarından her olgu için ayrı ayrı olmak üzere, 1.5 ml'lik ependorf tüplere 5µm' luk kesitler alındı, sonra bu tüplerden ve akabinde Real time-PCR yöntemi ile nokta mutasyonlarına bakıldı. Çalışma bütçesinden dolayı 4 mutasyon noktası belirlendi, bunun içinde literatürde yapılmış çalışmalardan en sık saptanmış olan mutasyon noktaları çalışma da değerlendirildi[6-7].

BULGULAR

Diyarbakır Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Onkoloji Bilim Dalı'na 2010- 2015 yılları arasında başvurmuş, meme kanseri tanısı almış 59'u rezeksiyon, 37 biyopsi olmak üzere toplamda 96 adet materyal çalışmaya alındı. Çalışmamıza dahil ettiğimiz vakalarımızın tamamını kadın hastalar oluşturmakta olup hasta özellikleri ve mutasyon durumları tablo 2 ve 3'de özetlenmiştir. Olgularımıza ait materyallerin tümör lokalizasyonları 46 tanesi sağ meme, 39 tanesi sol meme, 1 tanesi de bilateral yani sağ ve sol meme şeklindeydi. Meme biyopsi ve rezeksiyon olgularımızdan histomorfolojik olarak en sık görülen alt tipini invaziv duktal karsinom 71 (%74) olgu oluşturmaktadır. Hastaların yaş dağılımına bakıldığında en küçüğü 17 yaşında ve en büyüğü 44 yaşında olup ortanca yaş 34'idi. 59 adet rezeksiyon materyalinin modifiye bloom richardson (73) sınıflamasına göre 27 (%45,7)

adeti grade III, 22 adeti grade II (%37,3), 10 adeti grade I (%16,9) idi. 43 olgunun tümör boyutu 2 cm ve altı, 16 olgunun tümör boyutu 2 cm'den büyüktü. Rezeksiyon materyallerine ait olguların tümör boyut ortalaması 3,9 cm' idi. Hastaların evre dağılımı bakıldığında; 7(%8,88) 'si evre 1, 21 (%26,5)' i evre 2, 33 (%41,7)'ü evre 3, 18 (%22,7)'i evre 4 şeklindeydi. Bu hastaların 46 (%55,4) tanesi ER pozitif, 37 (%44,5) tanesi ER negatif; 39 (%46,9) tanesi PR pozitif, 44 (%53,01) tanesi PR negatif; 30 (%36,1) tanesi HER-2 pozitif, 53 (%63,8) tanesi de HER-2 negatif şeklindeydi.

Tablo II: Hasta Özellikleri

HASTA ÖZELLİKLERİ	N(%)
YAŞ	Ortanca 17-44(33)
EVRE 1	7(%8,88)
EVRE 2	21(%26,5)
EVRE 3	33(%41,7)
EVRE 4	18(%22,7)
HİSTOLOJİ	
DUKTAL	71(%74)
LOBULER	1(%1)
DİĞER	24(%26)
GRADE 1	10(%16,95)
GRADE 2	22(%37,3)
GRADE 3	27(%45,7)
ER +	46(%55,4)
ER –	37(%44,5)
HER2 +	48(%50,0)
HER2 –	44(%45,83)
HER-2 BİLİNMEYEN	4(%4,16)

Çalışma hastalarının BRCA-1 genine ait rs16942'de 14 (%14,5) adet homozigot (GG), 55(% 57.3) adet heterozigot (AG); rs1799966' da 18 (%18,7) adet homozigo t(GG), 46 (%47,9) adet heterozigot (AG); BRCA-2 genine ait rs144848' de 9 (%9,37) adet homozigot (TT), 25 (%26,04) adet heterozigot (GT); rs1799944' de de 2 (%2,08) adet homozigot (GG), 3 (%3,12) adet heterozigot(AG) hastada polimorfik gen mutasyonları saptadık. BRCA-1 ve BRCA-2 homozigot-heterozigot mutasyonlar ve grade arasındaki ilişkiye bakıldığında chi-kare testine göre klinik anlamlılık saptanmadı. BRCA-1 rs16942'deki homozigot mutasyon grade 1'de %11,1 (1), grade 2'de %33,3 (3), grade 3' te % 55.6 (5), heterozigot mutasyon da grade 1 de %13,9 (5), grade 2 de %55,6 (20), grade 3'te %30,6 (11) olarak tespit edildi (p=0.315). BRCA-1 rs1799966'daki homozigot mutasyon grade 1'de %9,1 (1) , grade 2' de %45,5 (5), grade 3'te %45,5 (5); heterozigot mutasyon da grade 1' de %16,7 (5), grade 2'de %56,7 (17), grade 3'te %26,7 (8) olarak görüldü(p=0.150).

Tablo III: BRCA Mutasyon Durumu

MUTASYON DURUMU	HETEROZİGOT	HOMOZİGOT
BRCA-1 rs16942		
var	55(%57,3)	14(%14,5)
Yok	41(%42,7)	82(%88,17)
BRCA-1 rs1799966		
var	46(%47,9)	18(%18,75)
Yok	50(%52,08)	78(%81,25)
BRCA-2 rs144848		
var	25(%26,04)	9(%9,37)
Yok	71(%73,95)	87(%90,6)
BRCA-2 rs1799944		
var	3(%3,12)	2(%2,08)
Yok	93(%96,87)	94(%97,9)

BRCA-2 rs144848'deki homozigot mutasyon grade 1'de %0 (0), grade 2'de %50 (3), grade 3' te %50 (3); heterozigot mutasyon da grade 1'

de %17,6 (3), grade 2'de %41,2, grade3'te %41,2 (7) şeklindeydi(p=0.812). BRCA-2 rs1799944' deki homozigot mutasyon grade 1' de %0 (0), grade 2 de %0 (0), grade 3'te %100 (1); heterozigot mutasyon da grade 1'de %0 (0), grade 2'de %0 (0), grade 3'te %100 (1) olarak bulundu (p=0.581). Dolayısıyla BRCA mutasyonları ve grade arasında grade 2 ve grade 3'te mutasyon sıklığı artmakla birlikte anlamlı bir ilişki saptanmadı. BRCA-1 ve BRCA-2 homozigot-heterozigot mutasyonlar ve evreleme arasındaki ilişkiye bakıldığında da klinik anlamlılık yoktu.

BRCA-1 rs16942 homozigot mutasyonu evre 1'de %7,7 (1), evre 2' de %15,4 (2), evre3'te %53,8 (7), evre 4'de %23,1 (3) ; heterozigot mutasyonu evre 1'de %13,6 (6), evre 2' de %34,1 (15), evre 3'te %38,6 (17) evre 4' de %13,6 (6) olarak tespit edildi(p=0.131). BRCA-1 rs1799966 homozigot mutasyonu evre 1' de %6,7 (1), evre 2' de %26,7 (4), evre 3' te %46,7 (7), evre 4' de %20,0 (3); heterozigot mutasyonu evre 1' de %16,2 (6), evre 2'de %29,7 (11), evre 3'te %43,2 (16), evre 4' de %10,8 (4) olarak saptandı.(p=0.084). BRCA-2 rs144848 homozigot mutasyonu evre 1' de %16,7 (1), evre 2'de %33,3 (2), evre 3'te %50,0 (3), evre 4'de %0 (0); heterozigot mutasyonu evre 1'de %15,0 (3), evre 2' de %30,0 (6), evre 3' te %35,0 (7), evre 4' de %20,0 (4) olarak bulundu (p=0.659).

BRCA-2 rs1799944 homozigot mutasyonu evre 1'de %50,0 (1), evre 2' de %0 (0), evre 3' te %50,0 (1) evre 4'de %0 (0); heterozigot mutasyonu evre 1'de %0,0 (0), evre 2'de %100 (1), evre 3'te %0 (0), evre 4'de %0 (0) olarak bulundu (p=0.263). Dolayısıyla evre ve BRCA-1 ve BRCA-2 homozigotheterozigot mutasyonları arasında evre 2 ve evre 3 te artmış olmasına rağmen p değerlerine göre klinik bir anlamlılık yoktur. BRCA-1 ve BRCA-2 homozigot-heterozigot mutasyonları ve ER pozitifliği arasındaki ilişki bakıldığında; BRCA-1 rs1799966 homozigot mutasyonunda ER pozitif %58,8 (10), ER negatif %41,2 (7); heterozigot mutasyonunda ER pozitif %56,8 (25), ER negatif %43,2(19) saptandı (p=0.962). BRCA-1 rs16942 homozigot mutasyonunda ER pozitif %46,2 (6), ER negatif %53,8 (7), heterozigot mutasyonunda ER pozitif %60,4 (32), ER negatif %39,6 (21) olarak görüldü (p=0,634). BRCA-2 rs144848 homozigot mutasyonunda ER pozitif %55,6 (5), ER negatif %44,4 (4), heterozigot mutasyonunda ER pozitif %70,8 (17) , ER negatif %29,2 (7) olarak tespit edildi (p=0,343). BRCA-2 rs1799944 homozigot mutasyonunda ER pozitif %50,0 (1), ER negatif %50,0 (1), heterozigot mutasyonunda ER pozitif %33,3 (1), ER negatif %66,7 (2) olarak bulundu (p=0.650). Dolayısıyla ER pozitifliği ve BRCA mutasyonları arasında da bir ilişki yoktur.

BRCA-1 ve BRCA-2 homozigot-heterozigot mutasyonları ve HER-2 pozitifliği arasındaki ilişki bakıldığında; BRCA-1 rs16942'de homozigot mutasyon olanlarda HER-2 pozitiflik %57,1 (8), HER-2 negatiflik %35,7 (5); heterozigot mutasyon olanlarda HER-2 pozitifliği %45,5 (25), HER-2 negatiği %50,9 (28) olarak saptandı (p=0,833).

BRCA-1 rs1799966' da homozigot mutasyon olanlarda HER-2 pozitiflik %50,0 (9), HER-2 negatiflik %44,4 (8); heterozigot mutasyon olanlarda HER-2 pozitifliği %45,7 (21) , HER-2 negatiği %50,0 (23) olarak görüldü(p=0,946). BRCA-2 rs144848 de homozigot mutasyon olanlarda HER-2 pozitiflik %55,6 (5), HER-2 negatiflik %44,4 (4) ; heterozigot mutasyon olanlarda HER-2 pozitifliği %44,0 (11), HER-2 negatiği %50,0 (13) olarak tespit edildi (p=920). BRCA-2 rs1799944' de de homozigot mutasyon olanlarda HER-2 pozitiflik %100(2), HER-2 negatiflik %0(0); heterozigot mutasyon olanlarda HER-2 pozitifliği %66,7 (2), HER-2 negatiği %33,3 (1) olarak saptandı (p=633). Dolayısıyla HER-2 pozitifliği ve BRCA mutasyonları arasında da bir ilişki yoktur. Hastalarımızdan 35 yaş üstü hasta sayısı 39 (%40,6), 35 yaş altı hasta sayısı 57 (%59,37) idi. BRCA-1 ve BRCA-2 homozigot-heterozigot

mutasyonları ve yaş ilişkisi değerlendirildiğinde 35 yaş üstü BRCA-1 rs16942 homozigot mutasyonu %18,4(7), heterozigot mutasyonu %47,4 (18) olarak bulundu(p=0.237). BRCA-1 rs1799966 homozigot mutasyonu %23,7(9), heterozigot mutasyonu %36,8 (14) olarak saptandı (p=0.182). BRCA-2 rs144848 homozigot mutasyonu %7,9 (3), heterozigot mutasyonu %28,9 (11) olarak tespit edildi (p=0.842). BRCA-2 rs1799944 homozigot mutasyonu %0(0), heterozigot mutasyonu da %0 (0) olarak görüldü (p=0.172). Dolayısıyla yaş ve mutasyon sıklığı arasındaki ilişki bakıldığında 35 yaş üstünde mutasyon oranı artmakla birlikte klinik bir anlamlılık yoktu.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bölgemiz de Meme kanserinde genetik yatkınlığı gösteren BRCA-1 ve BRCA-2'deki mutasyonları göstermeye yönelik çalışma yapılmamıştı. Bu çalışmamızda 45 yaş altı meme kanserli hastalarımız da BRCA-1 ve BRCA-2'deki sıklıkla gözlenen toplam 4 adet polimorfik nokta mutasyonun sıklığını araştırılmış ve bunun yaş, evre, ER, grade, HER-2 gibi parametrelerle ilişkisini tespit edilmiştir. Hastaların evre dağılımı bakıldığında; 7 (%8,88) 'si Evre 1, 21 (%26,5)' i Evre 2, 33 (%41,7)'ü Evre 3, 18 (%22,7)' i Evre 4 şeklindeydi. Bu bulgu literatürle uyumludur, Ward ve arkadaşlarının yaptıkları ve 2004 yılında yayınlanan bir çalışmada Amerika'da meme kanserli beyaz kadınların %66'sının tanı anında lokalize, %29'nun bölgesel ve %5'nin de metastatik hastalığa sahip olduğu gösterilmiştir[2]. Akdeniz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada BRCA-1/2 mutasyonu Evre 2(%30,3) de artmış olup p değerne (p<0.430) göre Evre ile mutasyon sıklığı arasında klinik bir ilişki saptanmamıştı[1]. Bizim çalışmamızda da mutasyon oranlarını evreye göre kıyasladığımızda Evre 2 (%38,5) ve Evre 3 (%39,6) de mutasyon sıklığı artmış olmakla beraber p değerlerine (p<0.234) göre Evre ile mutasyon sıklığı arasında klinik bir anlamlılık saptamadık.

Tümörün histolojik grade'i, yaşam süresi üzerine olan etkisi en iyi araştırılmış olan parametredir. Eltson tarafından modifiye edilmiş Bloom-Richardson sistemi günümüzde en çok kabul gören sistemdir. Çalışmamızda 59 olguya ait rezeksiyon materyalinin modifiye bloom richardson sınıflamasına göre; 27 (%45,7) tanesi Grade III, 22 (%37,3) tanesi Grade II, 10 (%16,95) tanesi Grade I olarak raporlanmıştır.

Veneroso ve arkadaşlarının 215 hasta ile Amerika'da yaptıkları çalışmada hastaların %46'sının grade 1-2 ve %54'nün grade 3 tümöre sahip olduğu tespit edilmiştir[3]. Bizim çalışmamız ile söz konusu araştırma karşılaştırıldığında bizim bölgemizdeki hastaların görece daha düşük grade'li tümörlere sahip olduklarını tespit ettik. Bu durum, ülkeler arasındaki farklılıklardan kaynaklanmış olabilir. Akdeniz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada BRCA-1/2 mutasyon sıklığı ile grade karşılaştırıldığında Grade II (%30,3) ve Grade III (%52,5) te mutasyon sıklığı artmış olmakla beraber p değerine göre(p<0.275) BRCA-1/2 mutasyonu ile grade arasında bir ilişki yoktu[1].

Bizim çalışmamızda da Grade II (%35,2) ve Grade III (%60) te mutasyon oranı artmış olmakla beraber p değerine (p<0.464) göre BRCA-1/2 mutasyonu ile grade arasında klinik bir anlamlılık saptamadık. Vrbanec ve arkadaşlarının 2007 yılında yayınlanan ve 13 yıllık takip süresinde 11,273 hastanın incelendiği araştırmasında hastaların %54,3'ünde ER pozitif ve %55,9'unda PR pozitif olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada ER ve PR pozitifliğinin ileri yaşlı hasta grubunda daha yüksek oranda olduğu belirtilmiştir[8]. ER pozitif hücrelerin oranı, tümörün diferansiasyon derecesi ve hormonal tedaviye vereceği yanıt ile ilişkilidir. Akdeniz ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ER pozitifliği

ile BRCA-1/2 mutasyon sıklığını karşılaştırdıklarında p değerlerine göre BRCA-1 de p<0.001 ve BRCA-2 de p<0.05 saptayıp klinik olarak bir ilişki tespit etmişlerdir[1]. Bizim hastalarımızın hormon reseptör durumunu değerlendirdiğimizde %55,4' ünde östrojen reseptörü (ER) pozitif ve %41,9'unda progesteron reseptörü (PR) pozitifti. Bu bulgumuz literatürle karşılaştırıldığında normal oranlar olarak değerlendirilebilir. Ayrıca çalışmamızda ER pozitifliği ile mutasyon sıklığı arasında klinik anlamlılık olarak p değerlerine (p<0.647) göre bir ilişki yoktu. Hastalarımızın %36,1'inde cErbB-2 ekspresyonu pozitif olarak tespit edildi. Hana ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada meme kanserlerinde Cerb-B2'nin belirtecinin hem prognostik hem de prediktif önemi mevcuttur. Meme kanserli hastalarda %25-30 oranında cerb-B2 amplifikasyon ve over ekspresyonu bildirilmiştir.

Cerb-B2 pozitifliği tümörün agresiv davranışı ve kötü prognoz ile yakından ilişkili bulunmuştur[9]. Rosen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada BRCA-1 gen mutasyonu olan meme kanserli olgular sporadik olgulara göre daha genç hastalardır ve sıklıkla triple negatiftir(%10-15)[10]. Aksoy ve arkadaşlarının Türkiye'de 160 hasta ile yaptıkları çalışmada triple negatif olan hastaların oranı %10,6 olarak bulunmuştur[11]. Bizim hastalarımızın %10,4'unun triple negatif hastalığa sahip olduğu ve triple negatif olan hastalarında histolojik grade açısından daha yüksek grade'li oldukları saptandı. Biz hasta grubumuzda triple negatif hastaların oranının, literatüre yakın olduğunu tespit ettik. Bu sonuçlar, genetik ve etnik farklılıklara bağlı olabilir. Akdeniz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada BRCA-1 mutasyon varlığı ile tümör karakteristikleri arasında yapılan incelemede HER2 pozitifliği (p< 0,007) ve Triple negatiflik (p<0,005) arasında anlamlılık saptanmıştır. Ancak BRCA-2 mutasyon varlığı ile HER2 pozitifliği (p<0.43) ve Triple negatif (p<0.59) arasında anlamlılık saptanmamıştır[1]. Ama bizim çalışmamızda BRCA-1/2 mutasyon varlığı ile HER2 pozitifliği (p<0,833) ve Triple negatif (p< 42) arasında klinik olarak bir ilişki yoktu. Schroeder ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda meme kanseri hastaların genetik olarak test edilmesinde konvansiyonel dizi analizi yöntemi kanser genomunun tanımlanmasında halen altın standart genetik tanı yöntemi olarak kabul edilmektedir. Fakat teknik zorlukları, maliyetinin fazla olması ve oldukça zaman alıcı bir yöntem olması bu yöntemin dezavantajlarındandır[12]. Bizim çalışmamızda son zamanlarda kullanılmaya başlanan genetik biliminde yeni teknolojiler olan Mikroarray ile yeniden dizileme ve NGS (next-generation sequencing) yöntemleri, kanser genomunu tanımlamada ve kanserin moleküler sebeplerini belirlemede önemli metodlar olarak dikkati çekmekteydi.

Bu yöntemlerin Sanger yöntemine göre hasta başına maliyeti daha azdır. Ancak, bu yöntemlerin doğruluğu ve güvenirliği hakkında yeteri kadar bilgi bulunmamaktadır[12]. Realtime PCR DNA'nın çoğaltımını ve ürünlerini tek bir tüpte belirlemeyi mümkün kılan çok yakın bir zamanda uygulamaya konulan popüler metod olarak karşımıza çıkmıştır[12]. Bu metot, gen anlatımının analizini değiştirmiş böylece geleneksel PCR yöntemi ve gen analizi birleştirilmiştir. Yöntemin çalışma prensibi PCR çoğaltımını görünür hale getiren ve monitorize edebilen floresan işaretli prob ve boyaların kullanıldığı, floresanın oluşan DNA ile doğru orantılı olarak arttığı çoğaltma esasına dayanır. Sonuç olarak literatürde farklı yöntemlerle, farklı ülkelerde bir çok çalışma yapılmış olup araştırmalardaki hasta gruplarının özellikleri ve kullanılan yöntemlerin duyarlılıkları birbirinden farklıdır.

Bu nedenle BRCA-1 ve BRCA-2 gen mutasyonu pozitiflik oranları kullanılan yönteme, hasta gruplarının özelliklerine ve araştırılan toplumun etnik ve genetik özelliklerine göre farklılık gösterebilmektedir. Bizim

çalışmamızın sonucuna göre meme kanserinde erken tanı ile tam kür oranı yüksek olduğu için ailevi yatkınlığı olan hastalarda tarama amaçlı Real-Time PCR gibi daha az zaman alıcı, daha az maliyetli, teknik zorlukları daha az olan ve duyarlılığı bu yönteme en yakın olan yeni yöntem kullanılabilir.

BRCA-1 ve BRCA-2 genlerinde oluşan mutasyonlara bağlı herediter meme kanserinin en sık görüldüğü toplum olan Askenazi Yahudileri'nde yapılan mutasyon sıklık çalışmasında BRCA-1 geninde en sık olarak 185delAG (%1,09) ve 5382insC (%0,13); BRCA-2 geninde ise 6174delT (%1,52) mutasyonları tespit edilmiştir[13]. İzlandalı kadınlarda yapılan bir çalışmada ailesel meme kanseri olan hastaların %0,6 'sında BRCA-2 geninde 999del5 mutasyonu tespit edilmiştir[14]. Yazıcı ve arkadaşlarının 2000 yılında yaptıkları, Türkiye' de ailesel meme kanserli hikayesi pozitif hastalarda mutasyon analiz çalışmasında 53 hasta değerlendirilmiştir(15). 2003 yılında Manguoğlu ve arkadaşlarının meme ve over kanseri riski taşıyan 106 hastada yaptıkları çalışmada BRCA-1 ve BRCA-2 genlerinde Türkiye popülasyonuna ait insidans artışı gösteren belirgin bir mutasyon tanımlanmamıştır[16].

Purcu ve arkadaşlarının 2013 yılında aile hikayesi pozitif olan, 25 kadın hastada yaptıkları bir çalışmada 5 hastadan 4'ü aynı aileye mensup olmak üzere BRCA-1 geninde 5382insC mutasyonu saptanmıştır, diğer hastalarda ise farklı bölgelerde mutasyonlar saptanmıştır. Bu sonuçlar 5382insC mutasyonunun Türk hasta popülasyonu için daha dominant bir penetrans gösterdiğini ortaya koymuştur[17]. B.Saglam Ada ve arkadaşlarının 271 hastada periferik kan ile yaptıkları çalışmada BRCA-1'de homozigot nokta mutasyon oranı %6,64, heterozigot nokta mutasyon oranı %27,12; BRCA-2 de homozigot mutasyon oranı %0,73 heterozigot mutasyon oranı %6,27 olarak tespit etmişlerdir[6]. Akdeniz ve arkadaşları da 1080 hastalık çalışmasında Türk populasyonunda BRCA-1/2 gen mutasyon sıklığını %11 olarak bulmuştur[1]. Ülkemizden yapılan başka çalışmalarda BRCA mutasyon oranları biraz daha yüksek oranlarda(%19) sunulmuştur(18).

Bizim çalışmamızda bölgemize ait olgularımızda BRCA-1 genine ait rs16942 ve rs1799966 2 adet, BRCA-2 genine de ait 2 adet rs144848 ve rs1799944 polimorfik gen mutasyonu çalıştık. Çalışmamız sonucunda 96 adet olgumuzun BRCA-1 genine ait rs16942'de 14 (%14,5) adet homozigot mutasyon, 55 (% 57,3) adet heterozigot mutasyon; rs1799966 da 18 (%18,75) adet homozigot, 46 (%47,9) adet heterozigot; BRCA-2 genine ait rs144848' de 9 (%9,37) adet homozigot 25(%26,04) adet heterozigot; rs1799944'de de 2 (%2,08) adet homozigot 3 (%3,12) adet heterozigot hastada polimorfik gen mutasyonu tespit ettik. Ortalama BRCA-1 de homozigot mutasyon oranı %16,6; heterozigot mutasyon oranı %52,6 olarak tespit ettik.

BRCA-2 de de homozigot mutasyon oranı %5,72; heterozigot mutasyon oranı da %6,24 olarak saptadık. Bizim çalışmamızda polimorfik nokta mutasyon oranları biraz yüksek bulunmuştur. Bunun nedeninin genetik ve ırksal olabileceği veya genç hastalar seçilmesi dolayısıyla olduğu kanısındayız. Akdeniz D ve arkadaşlarının 1080 adet hastada yaptığı çalışmada BRCA-1/2 gen mutasyon frekansı %11 olarak bulunmakla beraber 30 yaş altında hiçbir vakada BRCA-1/2 gen mutasyon varlığına rastlanmamıştır[1]. Bizim çalışmamızda yaş ortalaması 34 'tü ve yaş ile mutasyon sıklığı bakıldığında 35 yaş üstünde artmakla beraber p değerine göre ($p<0.358$) hiçbir mutasyonumuz klinik olarak anlamlı değildi. Her ne kadar istatiksel olarak anlamlı olmasa da dikkat çekicidir. Bu nedenle genetiksel taramalar bölgemiz için önem arz etmektedir.

Sonuç olarak bölgemiz açısından BRCA-1-2 polimorfizm mutasyonları önemli oranda olup hasta bireylerin ve ailelerin taranması

önemlidir. BRCA-1/BRCA-2 deki bu polimorfizm mutasyonlarının yaş, evre, grade, ER durumu, HER durumu ile ilişkisinin olmadığını saptadık.

Çıkar Çatışması Beyanı: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını bildirmişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma her hangi bir fon tarafından desteklenmemiştir.

Declaration of Conflicting Interests: Theau thorsdeclare that theyhavenoconflict ofinterest.

Financial Disclosure: No financial support was received.

KAYNAKLAR

1. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Global cancer statistics. Cancer J Clin 2012; 62: 10-29.

2. A. Işıkdoğan, S.B. Zincircioğlu, A. Dirier, M. Çelik, O. Ayyıldız. Meme Kanserli Olgularımız Diyarbakır yöresindeki hastaların demografik özellikleri. Dicle tıp dergisi.2003: 30; 8-10.

3. Levine PH. "Risk Factors for the development of aggressive inflammatory and non-inflammatory breast cancer" in "Abstracts of the 27th Annual San Antonio Breast Cancer Symposium" 2004 December 8-11; 88 Supplement 1: S91.

4. Akdeniz Ödemiş D. Tunçer Ş.B. Çelik B. Avşar M. Yazici H. "The Comparısıon Of Whole Genome Mirna Expressıon Levels In BRCA-1 Mutatıon Carrıers", 6.Internatıonal Congress Of Molecular Medıcınemolecular Medıcıne, İstanbul, Türkıye, 22-25 Mayıs 2017:283.

5. Baskan S. A.K. Arıbal E. Özaydın N, Balcı P. Yavuz E, Meme Kanserinde Tarama ve Tanı(İstanbul Meme Kanseri Konsensus Konferansı 2010), Meme Sağlığı Dergisi, 2012; 8: 100-25.

6. B. Saglam Ada, K. Bilecen, K. Yararbas, et al. Haplotype Analysis of Common Variants in The BRCA-1 And BRCA-2 Genes İn Turkey,The American Society of Human Genetics, ASGH Baltimore, MD, USA.2015 annual meeting , October 6-10.

7. Gulsah Cecener, Unal Egeli, Berrin Tunca, et al. (2014) BRCA-1/2 Germline Mutations and Their Clinical Importance in Turkish BreastCancer Patients, Cancer Investigation, 32: 375–387, 2014 ISSN: 0735-7907 print / 1532-4192 online.

8. Vrbanec D and Petricevic B: Estrogen and progesterone receptor status in primary breast cancer-a study of 11,273 patients from the year 1990 to 2002. Coll Antropol, 2007: 31: 535-40.

9. Brouillet, J.P. et al. Cathepsin D assay in primary breast cancer and lymph nodes: relationship with c-myc, c-erb-B-2 and int-2 oncogene amplification and node invasiveness. Eur J Cancer, 1990; 26: 437-41.

10. Hortobagyi GN. Treatment of breast cancer. N Eng J Med 1998; 339: 974-84.

11. Aksoy S, Dizdar Ö, Harputluoğlu H: Demographic, clinical and pathological characteristics of Turkish triple negative breast cancer patients: single center experience. Annals of oncology, 2007: 1904-6.

12. Cinieri S, Orlando L, Fedele P, et al. Adjuvant strategies in breast cancer: new prospectives,questions and reflections at the end of 2007 St Gailen International Expert Conference. Ann Oncol 2007; 18: 63-5.

13. Roa.B. B,et al., Ashkenazi Jewish population frequencies for common mutations in BRCA-1 and BRCA-2. Nat Genet,1996; 14: 185-7.

14. Johannesdottir, G.,et al.,High Prevalance of the 999del5 mutation in icelandic breast and ovarian cancer patients. Cancer Res,1996; 56: 3663-5.

15. Yazici,H., et al., BRCA-1 and BRCA-2 mutations in Turkish breast/ovarian families and young breast cancer patients. Br J Cancer, 2000; 83: 737-42.

16. Manguoğlu, A. E.,et al., Germline mutations in the BRCA-1 and BRCA-2 genes in Turkish breast/ovarian cancer patients.Hum Mutat, 2003; 21: 444-5.

17. Purcu DU, K.B., Kapkaç M, et al. High-Resolution Melting Analysis for Screening of Turkish Germline Mutations in BRCA-1 and BRCA-2 . Br J Cancer, 2000: 737-42.

18. Caglayan Geredeli, Nurgul Yasar, Abdullah Sakin. Germline Mutations in BRCA-1 and BRCA-2 in Breast Cancer Patients with High Genetic Risk in Turkish Population. International Journal of Breast Cancer, Volume 2019, Article ID 9645147, 7 pages.